

На правах рукописи

Чигринский Евгений Александрович

**ЭНДОКРИННО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ
МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К ДЕЙСТВИЮ
СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИРЕТРОИДОВ**

1.5.5. Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Новосибирск – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ Герунова Людмила Карповна

Официальные оппоненты:

Кадиков Ильнур Равилевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией техногенных экотоксикантов ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань)

Мошкин Михаил Павлович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отделения генетики животных ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (г. Новосибирск)

Цейликман Вадим Эдуардович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией перспективных исследований молекулярных механизмов стресса ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)» (г. Челябинск)

Ведущая организация – ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН» (г. Санкт-Петербург)

Защита состоится «___» _____ 20__ г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 35.2.025.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке университета и на сайте ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» <http://nsau.edu.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Князев Сергей Павлович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Изучению влияния синтетических пиретроидов (СП) на млекопитающих посвящены многочисленные исследования (Juliet et al., 2001; Issam et al., 2009; Дорожкин и др., 2018; Saito et al., 2019; Vester et al., 2020; Pitzer et al., 2021; Zhang et al., 2021; Yang et al., 2022; Lesseur et al., 2023). Несмотря на выявленную потенциальную опасность для человека и животных, применение данной группы препаратов в сельском и лесном хозяйстве, ветеринарии и медицине не сокращается, а, напротив, увеличивается (Katsuda, 2012; Глухарева и др., 2016; Hickmann et al., 2018; Pugliese et al., 2019; Gaire et al., 2020; Германт и др., 2022). В настоящее время рынок СП оценивается в 3,4 млрд. долларов США. По прогнозам, к 2027 году объемы производства СП продемонстрируют темпы роста на уровне 5,25% (Pyrethroids Market: Global..., 2021). Среди СП лидерами по производству являются лямбда-цигалотрин, циперметрин (ЦМ), дельтаметрин (ДМ) и альфа-циперметрин (The Case for Pyrethroids..., 2022), относящиеся к цианосодержащим пиретроидам (Ujihara, 2019).

Особый интерес к данной группе инсектоакарицидов обусловлен их высокой эффективностью и сравнительно быстрым разрушением в объектах окружающей среды. Однако при гидролизе СП в организме животных образуются изовалериановая кислота и спиртовой компонент, включающий нитрильную группу, которая весьма токсична для млекопитающих (Maund et al., 2012). Она выводится из организма медленнее, чем спиртовая или кислотные компоненты. Спиртовая часть молекулы СП превращается в организме животных в 3-феноксibenзойную кислоту, при расщеплении которой по простой эфирной связи происходит образование фенола и бензойной кислоты, также небезопасных для млекопитающих (Wang et al., 2017; Fujino et al., 2019). В связи с этим возрастает актуальность исследований, направленных на изучение механизмов адаптации животных к действию СП.

Степень разработанности темы. В последние годы в научной литературе стали появляться данные о влиянии СП на эндокринную систему человека и животных (Marettova et al., 2017; Saillenfait et al., 2018; Atef et al., 2020; Yang et al., 2022; Sheikh et al., 2023) и отдельные звенья обмена веществ (Aroonvilairat et al., 2018; Aouey et al., 2019; Pitzer et al., 2021; Andersen et al., 2022; Li S. et al., 2022; Lesseur et al., 2023). Имеются работы по изучению действия пиретроидов на мышевидных грызунов (Рустамов, 1994; Pesticide Residues..., 2001; Sharma et al., 2014; Saoudi et al., 2017; Lu et al., 2019; Saito et al., 2019; Герунов, 2020). Данные исследования проведены в лабораторных условиях с определением узкого спектра физиолого-биохимических показателей и касаются главным образом оценки токсичности СП. При этом до сих пор отсутствует единое мнение, как о триггерах

метаболических изменений, так и об адаптационно-компенсаторных механизмах, развивающихся в организме животных при воздействии данных пестицидов. Наименее изученным остается вопрос о механизмах адаптации к действию СП млекопитающих, обитающих в естественных биотопах.

Цель работы – установить закономерности эндокринно-метаболических изменений в организме мышевидных грызунов при адаптации к действию синтетических пиретроидов в условиях эксперимента и естественного биотопа.

Задачи исследования:

1. Оценить гормональный статус у мышевидных грызунов, содержащихся в условиях вивария и обитающих в естественных биотопах в норме и при воздействии синтетических пиретроидов.
2. Установить изменения биохимических показателей крови у мышевидных грызунов, подвергнутых действию синтетических пиретроидов.
3. Оценить состояние редокс-реакций в органах и тканях, обеспечивающих функционирование антиоксидантной системы, при действии дельтаметрина и циперметрина на организм животных.
4. Охарактеризовать влияние дельтаметрина и циперметрина на глутатион-зависимую и микросомальную систему биотрансформации ксенобиотиков у мышевидных грызунов.
5. Установить роль изменений в работе желез внутренней секреции, гипоксии и окислительного стресса в формировании единого адаптационно-компенсаторного механизма при действии на организм синтетических пиретроидов.
6. Обосновать возможность использования биохимических показателей и профилей крови и внутренних органов в качестве маркеров адаптивных изменений в организме мышевидных грызунов при воздействии синтетических пиретроидов.

Научная новизна результатов исследования. Впервые на основании комплексных исследований в условиях лаборатории, полевого вивария и естественного биотопа раскрыты физиолого-биохимические механизмы адаптации мышевидных грызунов к действию СП.

Установлено, что гиперактивность, неконтролируемые мышечные сокращения и судороги, возникающие у животных вследствие введения высоких доз СП, индуцируют каскад адаптационно-компенсаторных реакций, заключающихся в усилении распада гликогена с последующим превращением его в лактат, который активирует катаболизм пуринов, сопряженный с усиленной генерацией АКМ, что приводит к активации АОС. Это выражается в повышении активности антирадикальных и антиперекисных ферментов (КАТ, СОД, ГПО, ГР).

Установлено, что в более поздние сроки (7-30 сут) после воздействия высоких доз СП на организм животных ключевая роль в поддержании усиленного катаболизма пуринов и генерации АКМ также принадлежит лактоацидозу, но причиной активации анаэробного окисления глюкозы и, как следствие, накопления молочной кислоты является угнетение функции пентозного цикла в эритроцитах, гепатоцитах и других клетках организма.

Впервые показано, что снижение активности Г6ФДГ (ключевого фермента пентозного цикла) нарушает функцию АОС эритроцитов, что приводит к гемолизу и снижению количества красных кровяных телец, а снижение активности Г6ФДГ в печени и других органах ведет к пролонгированию катаболизма пуринов. Это способствует сохранению высокого уровня мочевой кислоты и генерации АКМ, а также снижает эффективность АОС гепатоцитов, что приводит к усиленному расходу неферментативных антиоксидантов и развитию дефицита GSH, токоферола, аскорбата, ретинола в организме.

Представлена динамика гормонов в крови животных, подвергнутых действию СП. Установлено, что на ранних этапах метаболические изменения обусловлены избытком гормонов стресса, а на более поздних (7-30 сут) – дефицитом тиреоидных гормонов и половых стероидов.

Получены новые данные о содержании неферментативных антиоксидантов (GSH, токоферола, аскорбата, ретинола) и МДА в печени полевой мыши (*Apodemus agrarius* Pall., 1771), красно-серой полевки (*Myodes rufocanus* Sundevall, 1846) и узкочерепной полевки (*Microtus gregalis* Pall., 1779), обитающих в естественных условиях и на территории лесного биотопа, подвергнутого акарицидной обработке с использованием СП.

Впервые установлены параметры токсичности ДМ и ЦМ для красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779). Описаны биохимические профили крови, гормональный статус, уровень неферментативных антиоксидантов (GSH, токоферола, аскорбата, ретинола), активность ферментов пентозного цикла, антиоксидантной системы, интенсивность глутатион-зависимой и микросомальной систем биотрансформации ксенобиотиков у различных физиологических функциональных группировок (ФФГ) красной полевки в условиях полевого вивария и естественного биотопа при воздействии СП. Установлено, что применение ДМ и ЦМ на территории леса влияет на интенсивность размножения и плодовитость самок красной полевки.

Доказано, что у лабораторных крыс, подвергнутых действию высоких и низких доз СП, и у красной полевки, обитающей на обработанной пиретроидами территории, происходят однотипные изменения морфофизиологических и биохимических параметров, характеризующих адаптационно-компенсаторные реакции.

Экспериментально обосновано, что морфофизиологические показатели, наиболее чувствительные к действию СП и длительно не изменяющие своих значений после воздействия стрессора, могут быть использованы в разработке систем биомониторинга состояния популяции мелких млекопитающих после применения пестицидов на территории природных биотопов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Воздействие СП на мышевидных грызунов приводит к модификации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, -тиреоидной и -гонадной осей на уровне периферических эндокринных желез. При этом отмечается увеличение надпочечников и продукции кортикостерона на фоне снижения массы половых желез и угнетения их инкреторной функции. Снижение уровня тиреоидных гормонов в крови способствует уменьшению продукции клетками энергии и усилению эффектов гипоксии.

2. СП вызывают развитие ацидоза с последующей активацией катаболизма пуринов, что сопровождается накоплением молочной и мочевой кислот. Гипоксия, развивающаяся вследствие снижения в крови количества эритроцитов и гемоглобина, усиливает данные процессы, что ведет к энергодефициту и замедлению анаболических реакций.

3. Активация синтетическими пиретроидами ксантиноксидазной прооксидазной системы сопровождается накоплением в организме МДА на фоне снижения уровня неферментативных антиоксидантов (GSH, токоферола, аскорбата и ретинола) и подавления активности антиоксидантных ферментов (КАТ, СОД, ГПО и ГР). Снижению эффективности антиоксидантной системы способствует активация систем биотрансформации ксенобиотиков и угнетение функции пентозного цикла.

4. Показатели антиоксидантной системы крови и печени, а также уровень половых и тиреоидных гормонов у мышевидных грызунов наряду с гормонами стресса являются наиболее чувствительными к действию СП и могут быть использованы в качестве маркеров адаптации к действию данных пестицидов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты исследования вносят существенный вклад в понимание физиолого-биохимических механизмов адаптации мышевидных грызунов к действию СП. Выявленные физиолого-биохимические механизмы могут быть использованы при биотестировании действия пестицидов и других химических стрессоров в лабораторных условиях для оценки адаптивных возможностей животных и пределов толерантности организма. Выявленные закономерности изменений в организме красной полевки (*M. rutilus*) и составленные на основании экспериментальных данных сводные таблицы по гематологическим и биохимическим показателям данного вида грызунов могут быть использованы в

сравнительной оценке действия других пестицидов и иных поллютантов на мелких млекопитающих в эколого-физиологических исследованиях.

Установленные морфофизиологические параметры мышевидных грызунов могут использоваться в прикладной экологии при разработке систем биомониторинга состояния популяций мелких млекопитающих после применения пестицидов на территории природных биотопов. В медицинской и ветеринарной практике предложенные биохимические маркеры могут применяться в оценке адаптационно-компенсаторных изменений в организме человека и животных при воздействии СП.

Теоретическая значимость результатов диссертационной работы отмечена дипломом победителя в номинации «Лучшая работа в области экологической токсикологии» (ФБУЗ РПОХБВ Роспотребнадзора, Москва, 2019) и присуждением Молодежной премии правительства Омской области для поощрения молодых деятелей науки за 2019 год.

Данные, полученные в ходе экспериментов, используются при чтении лекций и проведении практических занятий в Омском государственном аграрном университете имени П.А. Столыпина и Омском государственном медицинском университете. При изучении токсикологии эти данные позволяют сформировать новые представления о механизмах действия поллютантов, оценить их потенциальную опасность. Фрагменты научной работы включены в методические рекомендации для специалистов ветеринарной службы «Принципы фармакологической коррекции иммунной реактивности животных при использовании инсектоакарицидных препаратов», утвержденные в установленном порядке Отделением сельскохозяйственных наук РАН (Москва, 2020) и учебное пособие «Методы экспериментальной биохимии» (Омск, 2022).

Методология и методы исследования. Проведенный комплекс исследований включал анализ научной литературы по направлению диссертационной работы, экспериментальные исследования в условиях лаборатории, полевого вивария и полевой опыт по изучению адаптивных реакций при воздействии СП у нескольких видов мышевидных грызунов, главными из которых являлись крысы линии Вистар (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) и красная полевка (*M. rutilus*). Лабораторные и полевые эксперименты проведены с использованием современных зоологических, гематологических, биохимических, иммуноферментных и статистических методов исследования.

Научные изыскания проводились в парадигме представлений о стрессе (Селье, 1960, 1982; Панин, 1983; Роговин, Мошкин, 2007; Новиков, Мошкин, 2009), адаптации (Меерсон, 1982; Панин, Усенко, 2004; Агаджанян, Нотова, 2009), роли свободно-радикальных процессов в регуляции клеточных функций (Конвай, 1988; Зенков и др., 2001; Меньщикова и др., 2006, 2008; Sies, 2015), метода

морфофизиологических индикаторов (Шварц и др., 1968) и функционально-онтогенетического метода изучения популяций цикломорфных грызунов (Оленев, 2004).

Объектом исследования в лабораторном эксперименте служили самцы крыс линии Вистар (*R. norvegicus*), а в полевом опыте – самцы и самки красной полевки (*M. rutilus*), полевой мыши (*A. agrarius*), красно-серой полевки (*M. rufocanus*) и узкочерепной полевки (*M. gregalis*).

Предметом исследования в лабораторных и полевых экспериментах явились физиолого-биохимические адаптивные реакции организма изучаемых видов мышевидных грызунов при действии СП.

Личное участие автора. Диссертационная работа является обобщением результатов исследований, проведенных в течение 2012-2022 гг. лично соискателем. Соискатель провел анализ научной литературы по теме диссертации. Принимал личное участие в проведении лабораторных и полевых опытов, а также в исследовании биоматериала, полученного в ходе этих экспериментов. Провел статистическую обработку результатов исследования. Подготовил публикации по теме диссертационного исследования, апробировал результаты исследования. Автор написал диссертацию и подготовил ее к защите.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждена большим количеством изученного материала в ходе лабораторных и полевых опытов. В исследовании использовано несколько видов животных, у которых определено более 40 морфофизиологических параметров, характеризующих адаптивные изменения метаболизма. Данные обработаны при помощи современных методов математической статистики.

Основные результаты диссертации доложены и представлены на «Fundamental and applied research in medicine» (Франция, Париж, 14-21 октября 2014 г.), 3rd Eur. Conf. on Biology and Medical Sciences (Австрия, Вена, 28 октября 2014 г.), VII Всерос. научн. конф. «Иммунология репродукции: теоретические и клинические аспекты» (Ростов-на-Дону, 16-18 апреля 2015 г.), Рос. научно-практ. конф. с междунар. уч. «Актуальные проблемы медицинской биохимии и клинической лабораторной диагностики» (Казань, 12-14 ноября 2015 г.), XVI Междунар. научно-практ. конф. «Экология и безопасность жизнедеятельности» (Пенза, 15 декабря 2016 г.), 2nd Int. Conf. on Scientific Development in Europe (Австрия, Вена, 22 декабря 2016 г.), Int. Sci. Conf. «Fundamental research» (Чехия, Прага, 10-16 мая 2017 г.), Междунар. научно-практ. конф. «Экологические чтения – 2017, 2018» (Омск, 3-5 июня 2017 г., 4-6 июня 2018 г.), Всерос. научно-практ. конф. «Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве» (Екатеринбург, 8-9 июня 2017 г.), XVII Междунар. научно-

практ. конф. «Экология и безопасность жизнедеятельности» (Пенза, 21-22 декабря 2017 г.), Всерос. научно-практ. конф. «Биоразнообразие и антропогенная трансформация экосистем» (Балашов, 17-18 мая 2018 г.), V Всерос. научно-практ. конф. «Проблемы и мониторинг природных экосистем» (Пенза, 29 октября 2018 г.), X и XII Нац. научно-практ. конф. «Экологические чтения – 2019, 2021» (Омск, 5 июня 2019 г., 4-5 июня 2021 г.), VII Всерос. научно-практ. конф. «Биоразнообразие и антропогенная трансформация экосистем» (Балашов, 6-7 июня 2019 г.), XVIII Всерос. симп. с междунар. уч. «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Сочи, 26-28 июня 2019 г.), III Всерос. научно-практ. конф. с междунар. уч. «Агаджаньяновские чтения» (Москва, 16-18 апреля 2020 г.), Междунар. научно-практ. конф. «Современные достижения в решении актуальных проблем АПК» (Минск, 15-16 сентября 2022 г.), XII Междунар. научно-практ. конф. «Сибирская деревня: 200 лет развития Омской области – от реформ М.М. Сперанского до агропромышленного центра Сибири» (Омск, 21-23 сентября 2022 г.) и др.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 48 научных работ, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК – 13, изданы методические рекомендации – 1, учебное пособие – 1.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 396 страницах компьютерного текста, содержит 73 таблицы и 76 рисунков. Состоит из введения, 6 глав, заключения (выводов), практических предложений, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и 6 приложений. Список литературы включает 672 источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. Применение синтетических пиретроидов и их влияние на организм животных (обзор литературы)

В главе представлен обзор научной литературы по вопросам, касающимся структуры и свойств СП, сферы применения данных пестицидов и их влияния на организм животных.

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

2.1. Характеристика объектов и дизайн исследования

Диссертационное исследование выполнено в рамках государственной плановой научно-исследовательской темы «Оценка эффективности и потенциальной опасности новых лекарственных средств и пестицидов» (№ государственной регистрации АААА-А16-116042610027-8). Лабораторные эксперименты проводились на кафедре биохимии ФГБОУ ВО «Омский государственный

медицинский университет» Минздрава РФ, а полевой опыт – на территории Исилькульского лесничества ГУЛХ Омской области. Работа выполнена в период с 2012 по 2022 г.г. Исследования проведены в соответствии с действующими нормативными документами и руководствами. Общая схема диссертационного исследования представлена на рис. 1.

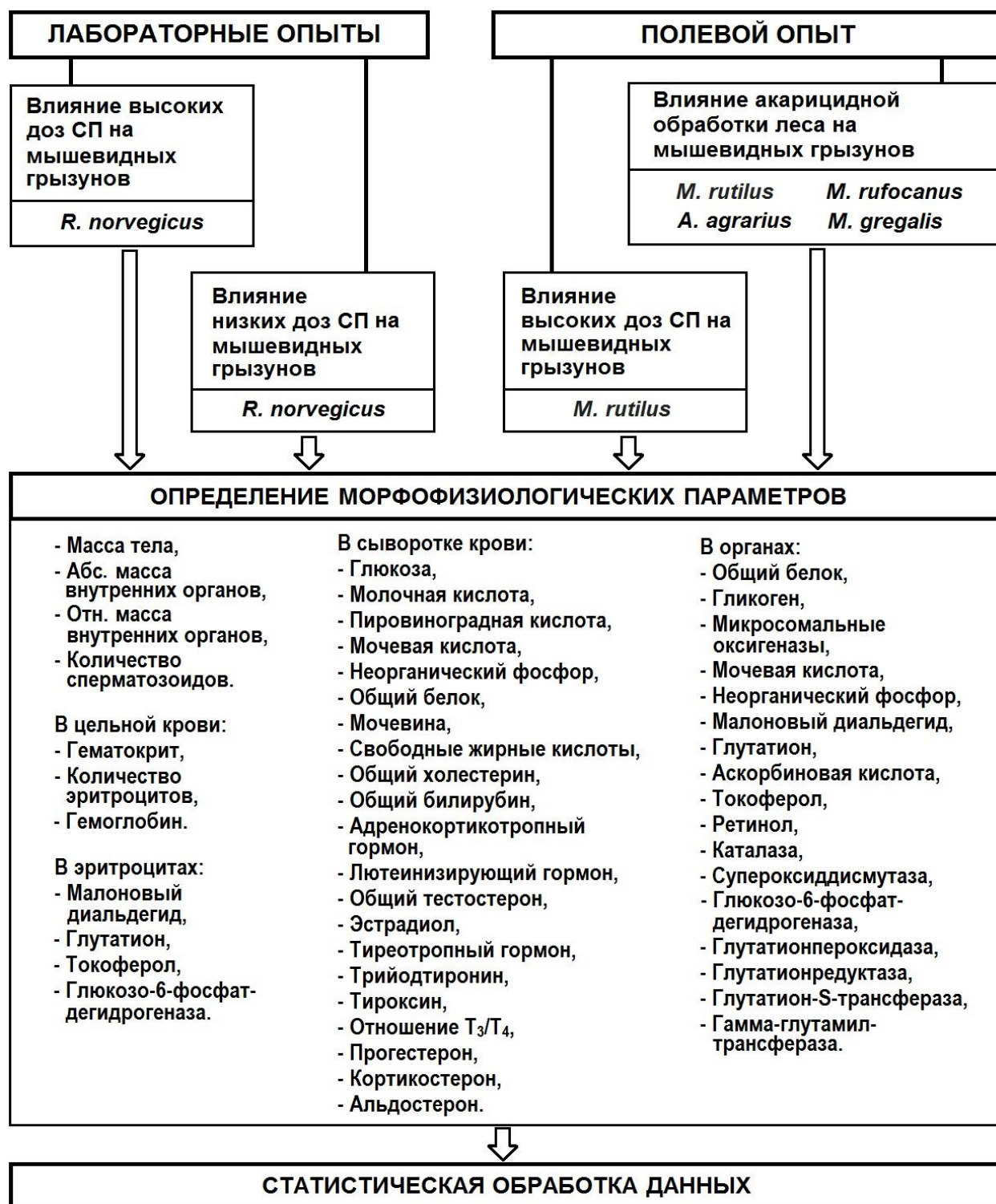


Рисунок 1 – Общая схема исследования

Во время опытов и в процессе выведения животных из эксперимента соблюдали требования Директивы 2010/63/EU от 22 сентября 2010 г. Исследование проведено на небольших по объему выборках животных ($n=10-15$). Необходимое число животных в группе определялось по формуле (Principles of Laboratory..., 2001):

$$E = N - T,$$

где E – ошибка степени свободы (от 10 до 20); N – общее количество животных; T – число групп.

Объектами исследования в лабораторных условиях служили крысы линии Вистар (*R. norvegicus*) ($n=525$), в полевом опыте – красные полевки (*M. rutilus*) ($n=710$), полевые мыши (*A. agrarius*) ($n=98$), красно-серые полевки (*M. rufocanus*) ($n=42$) и узкочерепные полевки (*M. gregalis*) ($n=72$).

При проведении исследований использовали препараты, содержащие СП: «Butox[®] 50» («Intervet Productions S.A.», Франция), «Шарпей[®]» (ЗАО Фирма «Август», Россия), «К-Отрин СК 50» («Байер С.А.С. Байер Инвайронментал Сайенс», Франция) и «Медилис-ЦИПЕР» (ООО «Лаборатория МедиЛИС», Россия).

2.2. Моделирование адаптивных изменений в организме крыс при воздействии синтетических пиретроидов в лабораторных условиях

Для проведения экспериментальных исследований использовали 300 крыс-самцов с массой тела 240 ± 10 г, которых делили методом случайной выборки на 20 групп. Крысы 1, 6, 11 и 16 групп были контрольными и внутрижелудочно получали физиологический раствор. Животные 2, 7, 12 и 17 групп были подвергнуты однократному внутрижелудочному введению ДМ в дозе 43,5 мг/кг массы тела ($1/2$ ЛД₅₀), крысы 3, 8, 13 и 18 групп – однократному введению ДМ в дозе 17,4 мг/кг ($1/5$ ЛД₅₀), животные 4, 9, 14 и 19 групп – однократному введению ЦМ в дозе 137,5 мг/кг массы тела ($1/2$ ЛД₅₀), крысы 5, 10, 15 и 20 групп получали ЦМ в дозе 55 мг/кг массы тела ($1/5$ ЛД₅₀).

Для определения динамики показателей метаболизма после однократного введения СП крыс выводили из эксперимента в разные сроки: крыс 1-5 групп – через 1 сут после начала эксперимента, 6-10 групп – через 3 сут, 11-15 групп – через 7 сут, а крыс 16-20 групп – спустя 30 суток после однократного введения пиретроида.

Моделируя влияние низких доз СП, крыс-самцов в количестве 225 голов делили методом случайной выборки на 15 групп. Крысы 21, 26 и 31 групп были контрольными и ежедневно внутрижелудочно получали физраствор. Крысы 22, 27 и 32 групп получали ДМ в дозе 0,87 мг/кг/сут ($1/100$ ЛД₅₀), животные 23, 28, 33

групп – ДМ в дозе 0,087 мг/кг/сут (1/1000 ЛД₅₀), крысы 24, 29, 34 групп – ЦМ в дозе 2,75 мг/кг/сут (1/100 ЛД₅₀), а животные 25, 30 и 35 групп – ЦМ в дозе 0,275 мг/кг/сут (1/1000 ЛД₅₀). Выведение животных из эксперимента осуществляли в три срока. Крыс 21-25 групп выводили спустя 30 суток, 26-30 групп – 60 суток, а животных 31-35 групп – через 120 суток после начала эксперимента. После завершения лабораторного эксперимента крыс подвергали ингаляционному наркозу и эвтаназии, проводили взятие крови, извлечение и взвешивание внутренних органов. В полученном биоматериале проводили определение биохимических показателей.

2.3. Проведение полевого опыта

Изучение влияния высоких доз СП началось с отлова *M. rutilus* на фоновой площадке леса «Ф2». Зверьки на этой площадке помещались в полевой виварий, где содержались в индивидуальных клетках 400х300х200 мм. Для оценки влияния ДМ и ЦМ на *M. rutilus* определяли ЛД₅₀ (Прозоровский, 2007).

M. rutilus обоих полов, отловленных на площадке «Ф2», подвергали внутрижелудочному введению СП в дозах 1/2 и 1/5 ЛД₅₀, а через 7 сут их выводили из опыта. В качестве контроля выступали полевки, получающие физраствор. *M. rutilus*, участвующих в эксперименте, взвешивали, брали кровь и внутренние органы для дальнейшего изучения в лабораторных условиях.

Полевой опыт проводили в мае – июле 2017 года. На первом этапе работы были выбраны четыре однотипные площадки леса, площадь каждой составляла 10000 м². Площадки имели следующие условные обозначения: «Ф» – фоновая площадка, «Ф2» – фоновая площадка для отлова *M. rutilus* для полевого вивария, «Д» – площадка леса, подвергнутая акарицидной обработке с использованием ДМ, «Ц» – площадка, подвергнутая обработке ЦМ.

25 мая проведена акарицидная обработка площадок «Д» и «Ц». Расстояние от фоновых участков до участков с обработкой представлено буферной зоной не менее 1,5 км.

Спустя 7 сут после акарицидной обработки, проведен первый отлов животных. Отлов проводился с изъятием зверьков. При этом осуществляли прямой относительный учет численности *M. rutilus* и других мелких млекопитающих, обитающих на изучаемой территории (Карасева и др., 2008). В качестве ловушек использовали живоловки которые устанавливали по одной в углы квадратов со сторонами 10 м, равномерно распределяя их внутри площадок «Ф», «Д» и «Ц» (Adamczyk et al., 1988; Жигарев, 1993, 1997, 2005; Карасева и др., 2008). Пойманных животных проверяли на соответствие изучаемому виду по

(Громов, Ербаева, 1995). Второй отлов мелких млекопитающих проводили спустя 30 сут с момента проведения акарицидной обработки. Третий отлов – 60 сут.

При отлове *M. rutilus* проводили определение пола и ФФГ (Оленев, 2002, 2004, 2009), к которой относилась отловленная особь, а также репродуктивный статус самок. У самок, участвующих в размножении, оценивали количество эмбрионов и плацентарных пятен. *M. rutilus*, отловленных на площадках «Ф», «Д» и «Ц», выводили из эксперимента на месте при помощи ингаляционного наркоза. При этом проводили их взвешивание, брали кровь и внутренние органы для дальнейшего изучения в лабораторных условиях. Для неинвазивной оценки стрессированности популяции *M. rutilus* проводили сбор образцов фекалий, в которых в лабораторных условиях определяли содержание кортикостерона. У отловленных особей *A. agrarius*, *M. rufocanus* и *M. gregalis* брали образцы печени.

2.4. Определение гематологических и биохимических показателей

В цельной крови у грызунов определяли количество эритроцитов, гематокрит и концентрацию гемоглобина (Walker et al., 1990). В сыворотке крови определяли концентрацию глюкозы, лактата, пирувата, урата, неорганического фосфора (Pi), общего белка, мочевины, свободных жирных кислот (СЖК), общего холестерина и общего билирубина унифицированными методами лабораторной диагностики. Кроме метаболитов в сыворотке крови животных определяли уровень адренокортикотропного гормона (АКТГ), общего тестостерона, тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина (Т₄), трийодтиронина (Т₃), отношение Т₃/Т₄, прогестерона, эстрадиола, кортикостерона и альдостерона. При этом концентрацию кортикостерона измеряли не только в сыворотке крови, но также в образцах фекалий, собранных от *M. rutilus*. Определение содержания гормонов проводили при помощи иммуноферментного анализа.

В лизатах эритроцитов определяли содержание МДА (Селютина и др., 2000), GSH (Костромитиков, Суменков, 2005), токоферола (Черняускене и др., 1984) и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49) (Minucci et al., 2009). Определение концентрации общего белка в гомогенатах внутренних органов и лизатах эритроцитов проводили при помощи биуретового реактива. В тканях и гомогенатах внутренних органов определяли содержание гликогена (Carr, Neff, 1984), гидроксилазную активность микросом печени (Gram et al., 1969), содержание аскорбата (Чупахина, 1981), GSH (Костромитиков, Суменков, 2005), МДА (Селютина и др., 2000), ретинола и токоферола (Черняускене и др., 1984), а также Pi и мочевой кислоты унифицированными методами лабораторного анализа. Кроме того, в органах животных определяли активность каталазы (КАТ, КФ 1.11.1.6), (Королук и др.,

1988), супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) (Сирота, 1999), глутатион-S-трансферазы (GST, КФ 2.5.1.18) (Habig, Jakoby, 1981), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ, КФ 2.3.2.2) (Persijn, van der Slik, 1976), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ, КФ 1.1.1.49) (Minucci et al., 2009) глутатионпероксидазы (ГПО, КФ 1.11.1.9) и глутатионредуктазы (ГР, КФ 1.6.4.2) (Власова и др., 1990).

2.5. Обработка полученных данных при помощи математической статистики

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США) и Excel 2013 (Microsoft Corp., США). Данные обрабатывали при помощи однофакторного дисперсионного анализа, критерия Шапиро-Уилка, Краскела-Уоллиса, Стьюдента, Манна-Уитни, Вальда-Вольфовица, а также корреляционного анализа по Спирмену (r_s). При сравнении двух групп нулевую гипотезу отвергали при уровне значимости, соответствующем $p < 0,05$. В случае множественных сравнений применяли поправку Бонферрони (Унгурияну, Гржибовский, 2011).

ГЛАВА 3. Закономерности функционирования желез внутренней секреции у грызунов при адаптации к действию синтетических пиретроидов

Развитию метаболических изменений при действии СП способствуют гормоны, вырабатываемые гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, - тиреоидной и -гонадной системами. Однократное введение ДМ и ЦМ крысам в дозе 1/2 ЛД₅₀ способствует повышению концентрации АКТГ в сыворотке крови (табл. 1). Концентрация кортикостерона также повышается, что указывает на развитие стресс-реакции в 1-е сутки эксперимента (табл. 1). Это способствует активации различных видов обмена, в частности метаболизма гликогена и запасов триацилглицеролов в жировой ткани. На 7-е сут эксперимента уровень АКТГ и кортикостерона снижаются (табл. 1).

Немаловажную роль в адаптации животных к действию СП играет уровень тиреоидных гормонов. Значения T_4 и T_3 снижаются при воздействии высоких доз СП на 7-е сут (табл. 1). Это, с одной стороны, способствует снижению энергопродукции клетками вследствие снижения транспорта кислорода, что ведет к тканевой гипоксии, а, с другой стороны, способствует сохранению запасов гликогена благодаря снижению чувствительности тканей к катехоламинам. В ответ на развитие дефицита тиреоидных гормонов у крыс, получавших высокие

дозы СП, выбрасывается в кровь большее количество ТТГ (табл. 1) для стимуляции работы щитовидной железы.

Таблица 1 – Содержание гормонов в сыворотке крови крыс, подвергнутых однократному введению дельтаметрина (ДМ) и циперметрина (ЦМ) в дозе 1/2 ЛД₅₀, *Me (Q₁–Q₃)*, *n=12*

Показатель	1-е сут			7-е сут		
	К	ДМ	ЦМ	К	ДМ	ЦМ
АКТГ, <i>нг/мл</i>	51,3 (39,4–59,7)	102 (87,4–120) <i>p=0,0004</i>	89,7 (80,2–119) <i>p=0,0005</i>	58,6 (36,6–61,4)	26,5 (18,2–39,5) <i>p=0,0055</i>	27,4 (9,22–31,6) <i>p=0,0002</i>
Кортико- стерон, <i>нмоль/л</i>	417 (385–503)	610 (577–711) <i>p=0,0001</i>	693 (574–721) <i>p=0,0003</i>	428 (368–502)	354 (288–410) <i>p=0,0649</i>	173 (134–287) <i>p=0,0008</i>
ТТГ, <i>мкМЕ/мл</i>	0,566 (0,489–0,659)	0,489 (0,370–0,643) <i>p=0,1749</i>	0,658 (0,523–0,815) <i>p=0,2727</i>	0,531 (0,466–0,639)	0,788 (0,614–0,857) <i>p=0,0047</i>	0,821 (0,662–0,900) <i>p=0,0007</i>
Т ₄ , <i>нмоль/л</i>	70,7 (57,9–79,8)	61,0 (28,9–85,6) <i>p=0,5637</i>	69,8 (37,3–94,8) <i>p=0,9540</i>	67,9 (57,4–78,7)	33,6 (27,2–58,5) <i>p=0,0015</i>	36,8 (31,8–62,0) <i>p=0,0047</i>
Т ₃ , <i>нмоль/л</i>	5,76 (4,73–6,42)	5,11 (4,15–6,10) <i>p=0,1658</i>	5,41 (4,46–6,31) <i>p=0,5637</i>	5,05 (4,76–6,67)	3,60 (2,47–4,13) <i>p=0,0009</i>	3,52 (2,22–4,08) <i>p=0,0008</i>
ЛГ, <i>мМЕ/л</i>	280 (217–307)	263 (252–308) <i>p=0,6033</i>	225 (218–247) <i>p=0,1124</i>	245 (221–305)	369 (333–438) <i>p=0,0011</i>	407 (361–427) <i>p=0,0001</i>
Тестосте- рон, <i>нмоль/л</i>	16,7 (11,6–18,9)	14,7 (10,1–16,0) <i>p=0,1190</i>	12,6 (10,9–18,5) <i>p=0,5834</i>	17,6 (12,7–19,4)	7,50 (4,32–8,72) <i>p=0,0001</i>	10,8 (8,51–11,5) <i>p=0,0020</i>

Уровень тестостерона у крыс, получавших ДМ и ЦМ, снижается уже на 3-и сут эксперимента и сохраняется на 7-е сут (табл. 1). Концентрация ЛГ при этом компенсаторно возрастает. Снижение уровня половых стероидов в крови под влиянием СП способствует снижению анаболизма. Это также можно рассматривать как одну из адаптивных реакций, направленных на устранение энергодефицита, при котором реализация репродуктивной функции откладывается на более отдаленный период.

Ежедневное введение ДМ и ЦМ в дозах по 1/100 ЛД₅₀ в течение 60 сут способствует гиперсекреции АКТГ и кортикостерона, что может быть обусловлено хроническим стрессом. Введение ЦМ в дозе 1/100 ЛД₅₀ в течение 120 сут не вызывает статистически значимых колебаний в уровне АКТГ, кортикостерона, прогестерона и альдостерона. Воздействие 1/100 ЛД₅₀ ДМ в течение 120 сут способствует повышению уровня кортикостерона на фоне снижения концентрации прогестерона и альдостерона в сыворотке крови в сравнении с аналогичными показателями в контроле. Тиреоидный статус

лабораторных крыс также изменяется под влиянием СП. Введение ДМ и ЦМ в указанной дозе в течение 60 сут способствует значительному снижению концентрации T_4 и T_3 в сравнении с контролем. Похожая картина сохраняется и на 120-е сут эксперимента. Введение ДМ способствует более раннему развитию дефицита тестостерона (60-е сут), а ЦМ – только на 120-е.

Отмеченные выше изменения гормонального профиля крыс при длительном действии низких доз СП указывают на интенсивную работу эндокринных органов, главным образом надпочечников, способствующих адаптации животных в данных условиях. Интенсивная продукция кортикостерона сопряжена с увеличением массы надпочечников. Масса семенников, напротив, снижается после длительного воздействия низких доз пиретроидов.

Воздействие ДМ и ЦМ на эндокринную систему красных полевок, находящихся в полевом виварии, проявляется следующим образом. На 7-е сут после введения изучаемых СП у самцов и самок отмечается повышение кортикостерона в сыворотке крови относительно контрольных животных, что указывает на высокую стрессированность полевок. При этом изменяются показатели крови и метаболический статус.

Уровень гормонов щитовидной железы у полевок обоих полов снижается в сравнении с контрольными животными. Снижение уровня тиреоидных гормонов так же, как и гиперкортикостеронемия, накладывает свой отпечаток на модификацию обменных процессов.

Содержание половых гормонов в плазме крови *M. rutilus*, получивших СП, также изменяется. Концентрация тестостерона у самцов при воздействии ДМ и ЦМ в дозе $1/2$ ЛД₅₀ ниже контрольных значений. У самок отмечается снижение уровня эстрадиола на фоне статистически значимого роста уровня тестостерона на 7-е сут после введения ДМ или ЦМ в сравнении с контролем.

Данные, полученные в эксперименте с красными полевками, содержащимися в условиях полевого вивария, показали, что у *M. rutilus* так же, как и у крыс в лабораторном виварии, отмечается изменение уровней гормонов периферических эндокринных желез (надпочечников, щитовидной железы, половых желез). Это указывает на общие закономерности эндокринно-метаболических адаптивных изменений, развивающихся в организме мышевидных грызунов в ответ на воздействие СП.

Изучение влияния акарицидной обработки лесного биотопа на мышевидных грызунов показало, что в их организме также отмечаются эндокринные сдвиги. Они выражаются в увеличении кортикостерона у всех ФФГ на 7-е сут после акарицидной обработки площадок «Д» и «Ц». У полевок, отловленных на площадках, обработанных СП, отмечается также снижение продукции гормонов щитовидной железы. Воздействие СП на полевок, обитающих на территории

экспериментальных площадок, привело к снижению репродуктивного потенциала. Кроме гормонального дисбаланса, который отмечался у мышевидных грызунов в условиях вивария, наблюдалось также снижение плодовитости самок, количества эмбрионов на фоне увеличения количества самок, не участвующих в размножении. У самцов при этом отмечалось снижение количества сперматозоидов в гомогенатах семенников, а также снижение содержания тестостерона в ткани семенников. Снижение репродуктивного потенциала полевок под влиянием СП, применяемых при акарицидной обработке, может повлиять на численность популяции, что указывает на потенциальные экологические риски при эндокринно-метаболических адаптивных изменениях, развивающихся в организме полевок в ответ на воздействие изучаемых пестицидов.

ГЛАВА 4. Влияние синтетических пиретроидов на гематологические и биохимические показатели крови мышевидных грызунов

Введение СП крысам в высоких дозах ($1/2$ и $1/5$ ЛД₅₀) в 1-е сут эксперимента вызывает изменение двигательной активности, у крыс отмечаются гиперактивность, судороги, гиперсаливация, усиление агрессии, выраженная реакция на шум и нарушение социальных взаимодействий. На 7-е сут эксперимента у крыс отмечается снижение уровня глюкозы и накопление молочной кислоты, что обусловлено усилением анаэробного окисления глюкозы и гликогена. Увеличению в сыворотке крови лактата способствует возросшая токсическая нагрузка на печень, в результате чего молочная кислота менее эффективно превращается в глюкозу в глюконеогенезе. Также этому способствует снижение в крови концентрации глюкокортикоидов.

Накопление лактата в ранние сроки эксперимента ведет к активации ферментов катаболизма пуриновых нуклеотидов и увеличению концентрации мочевой кислоты. Концентрация урата в плазме крови крыс, подвергнутых действию ДМ и ЦМ в дозе $1/2$ ЛД₅₀, на 31,7 и 20,9% соответственно выше контроля.

На 7-е сут эксперимента отмеченные выше симптомы исчезают, но усугубляются метаболические сдвиги. У животных отмечается снижение активности Г6ФДГ в эритроцитах, что способствует снижению функции АОС и, как следствие, повышенному расходу неферментативных антиоксидантов. У животных, получавших ДМ и ЦМ, отмечается снижение содержания токоферола в эритроцитах на 61 и 54,9% в сравнении с контролем. Снижение функции пентозного цикла и АОС ведет к гемолизу эритроцитов и уменьшению их количества в крови.

Снижение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина под влиянием СП вызывает развитие тканевой гипоксии, что усиливает энергодефицит и катаболические процессы. Разрушение эритроцитов ведет к накоплению в крови билирубина. Содержание общего белка в сыворотке крови животных, получавших СП в высоких дозах, ниже, чем у крыс, получавших физиологический раствор. Это также является следствием энергодефицита и указывает на замедление анаболических реакций, чему способствует низкий уровень половых стероидов.

Воздействие на крыс СП в низких дозах (1/100 и 1/1000 ЛД₅₀) вызывает схожие изменения метаболизма, однако развиваются они в течение 60 сут после начала введения пестицидов. На 60-е сут эксперимента у крыс, получавших ДМ и ЦМ в дозе 1/100 ЛД₅₀, отмечается снижение уровня гемоглобина и количества эритроцитов в крови, что способствует развитию тканевой гипоксии и активации анаэробного гликолиза, это запускает катаболизм АТФ и других пуриновых мононуклеотидов до мочевой кислоты. Концентрация мочевой кислоты в крови крыс, получавших ежедневно низкие дозы СП, выше, чем у крыс из контрольной группы. Гипоксия и энергодефицит ведут к замедлению биосинтеза белка, что выражается в снижении содержания общего белка в сыворотке крови и массы тела в сравнении с контролем.

Сравнивая данные по воздействию высоких и низких доз СП на крыс, можно заключить, что изменения показателей крови во многом схожи и отличаются лишь временем развития и динамикой. Особенностью действия низких доз ДМ и ЦМ является отсутствие гипергликемии на начальном этапе воздействия, что позволяет более экономно расходовать запасы энергетических субстратов и отсрочить многие адаптивные перестройки метаболизма.

Изменения в биохимическом профиле крови коррелируют с массой тела и внутренних органов подопытных животных. Так, коэффициент корреляции r_s между уровнем глюкозы в крови и массой тела животных из группы ДМ на 120-е сут опыта составляет 0,740 ($p < 0,05$). Коэффициент корреляции между уровнем общего билирубина и массой тела на 120-е сут также высок, но имеет отрицательные значения, так как снижение массы сопровождается увеличением данного биохимического показателя ($r_s = -0,801$, $p < 0,05$). Спустя 60 сут отмечается снижение массы тела у крыс, получавших СП в дозе 1/100 ЛД₅₀, а через 120 сут – у всех подопытных крыс в сравнении с контролем.

Введение ДМ и ЦМ красным полевым в дозах 1/2 и 1/5 ЛД₅₀ в условиях полевого вивария показало, что в их организме развиваются изменения метаболизма. Так же, как и у крыс, у полевок отмечается снижение уровня глюкозы в плазме крови на фоне накопления лактата и урата. Кроме того, у полевок также снижается количество гемоглобина и эритроцитов на 7-е сут

эксперимента на фоне увеличения содержания билирубина, что указывает на усиление гемолиза, способствующего развитию тканевой гипоксии, вызывающей усиленный распад углеводов в анаэробных процессах. У полевок, получавших ДМ и ЦМ, на 7-е сут отмечается дефицит глюкозы в крови и повышенный уровень молочной кислоты. Анализируя данные эксперимента, проведенного в условиях полевого вивария, можно отметить, отсутствие половых различий в развитии адаптивных изменений показателей крови у *M. rutilus*.

Изменение показателей крови у полевок, отловленных на территории площадок «Д» и «Ц», на которых проводилась акарицидная обработка с использованием СП, характеризовалось следующим образом. У представителей всех ФФГ, как у самцов, так и у самок, отмечалось статистически значимое снижение содержания гемоглобина и эритроцитов в крови на 7-е и 30-е сут эксперимента. Также у полевок отмечалось снижение уровня глюкозы на фоне повышения концентрации лактата и урата, это указывает на то, что у полевок, обитающих в естественных условиях, так же, как и у мышевидных грызунов в условиях вивария, под влиянием СП усиливается анаэробный гликолиз вследствие развития гипоксии, что ведет к усилению катаболизма пуринов. В крови полевок, отловленных на площадках «Д» и «Ц», отмечается более высокий уровень мочевой кислоты в сравнении с животными, обитающими на фоновой площадке.

Катаболизм пуринов сопровождается активацией свободно-радикального окисления (СРО). В результате в эритроцитах полевок обнаруживается дефицит токоферола на фоне накопления МДА. Усилению процессов СРО способствует, кроме катаболизма пуринов, снижение активности Г6ФДГ. Из-за меньшей генерации НАДФН+Н⁺ снижается эффективность АОС, что приводит к дефициту не только токоферола, но и невитаминных антиоксидантов, таких как GSH. Однотипное изменение показателей крови у полевок, обитающих в условиях естественного биотопа, и у мышевидных грызунов, содержащихся в вивариях, указывает на общие закономерности адаптивных изменений, развивающихся в организме животных в ответ на действие СП.

ГЛАВА 5. Роль редокс-реакций и систем биотрансформации ксенобиотиков в развитии окислительного стресса у млекопитающих при воздействии на организм пиретроидов

Интенсификация анаэробного окисления углеводов, сопровождающаяся накоплением лактата ведет к развитию дефицита гликогена в печени (рис. 2) и мышцах, а также активации ферментов катаболизма пуринов. В итоге происходит переключение ксантиндегидрогеназы в оксидазную форму, что сопровождается

усилением СРО (рис. 3). При активации ксантинооксидазной прооксидантной системы во всех органах и тканях отмечается накопление мочевой кислоты и P_i (табл. 2).

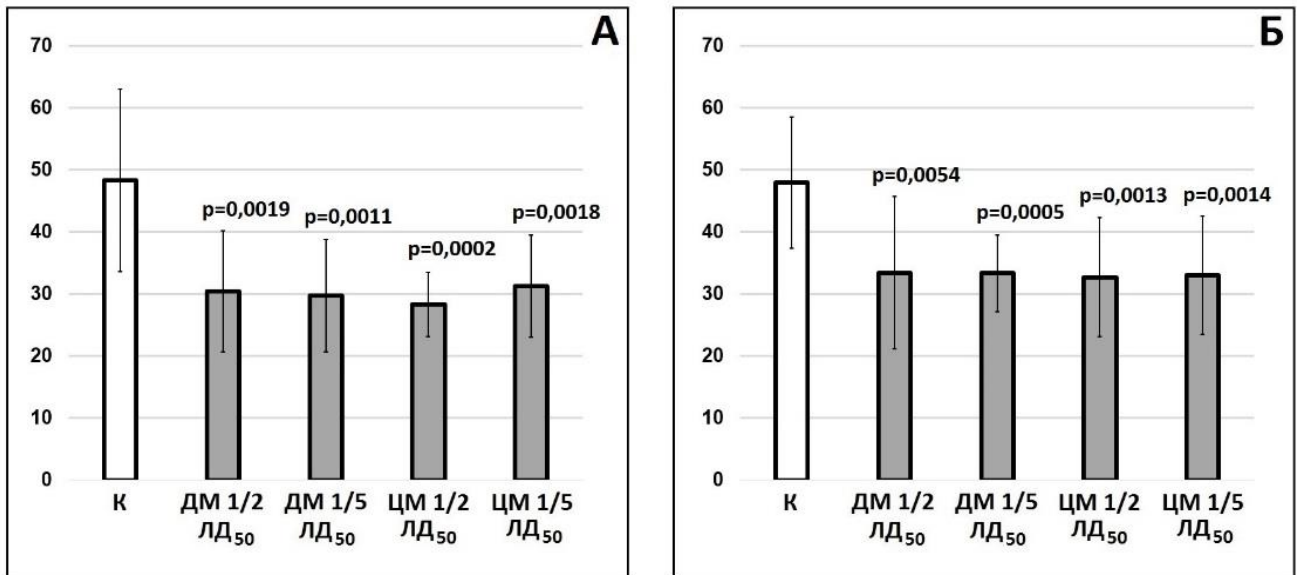


Рисунок 2 – Содержание гликогена в печени крыс в 1-е (А) и 7-е (Б) сутки после однократного введения пиретроидов, ($M \pm SD$), мг/г ткани, (n=12)

Физиологическое функционирование редокс-реакций подразумевает достаточное поступление восстановленных коферментов в различные окислительно-восстановительные реакции. При воздействии СП на организм животных происходит снижение потенциала общих путей катаболизма из-за развития гипоксии и усиления анаэробных процессов. Результатом этого является накопление в клетках и крови пирувата. Животные, получавшие ДМ и ЦМ, имели более высокий уровень пирувата, чем крысы, получавшие физраствор. Замедление окисления пирувата в общих путях катаболизма ведет не только к развитию энергодифицита, но и снижению количества восстановленных коферментов, что вызывает перестройку метаболизма и замедление редокс-зависимых реакций.

Одним из наиболее важных процессов, потенциал которого тормозится под влиянием СП, является пентозный цикл (рис. 5). В нашем эксперименте показано, что ключевой фермент данного процесса – Г6ФДГ снижает свою активность в печени (табл. 2). Это означает, что продукция этим ферментом НАДФН+ H^+ тормозится, что отражается на многих НАДФН+ H^+ -зависимых процессах, главным образом митохондриальном окислении и АОС. Снижение продукции НАДФН+ H^+ *in vivo* способствует более медленному восстановлению GSH.

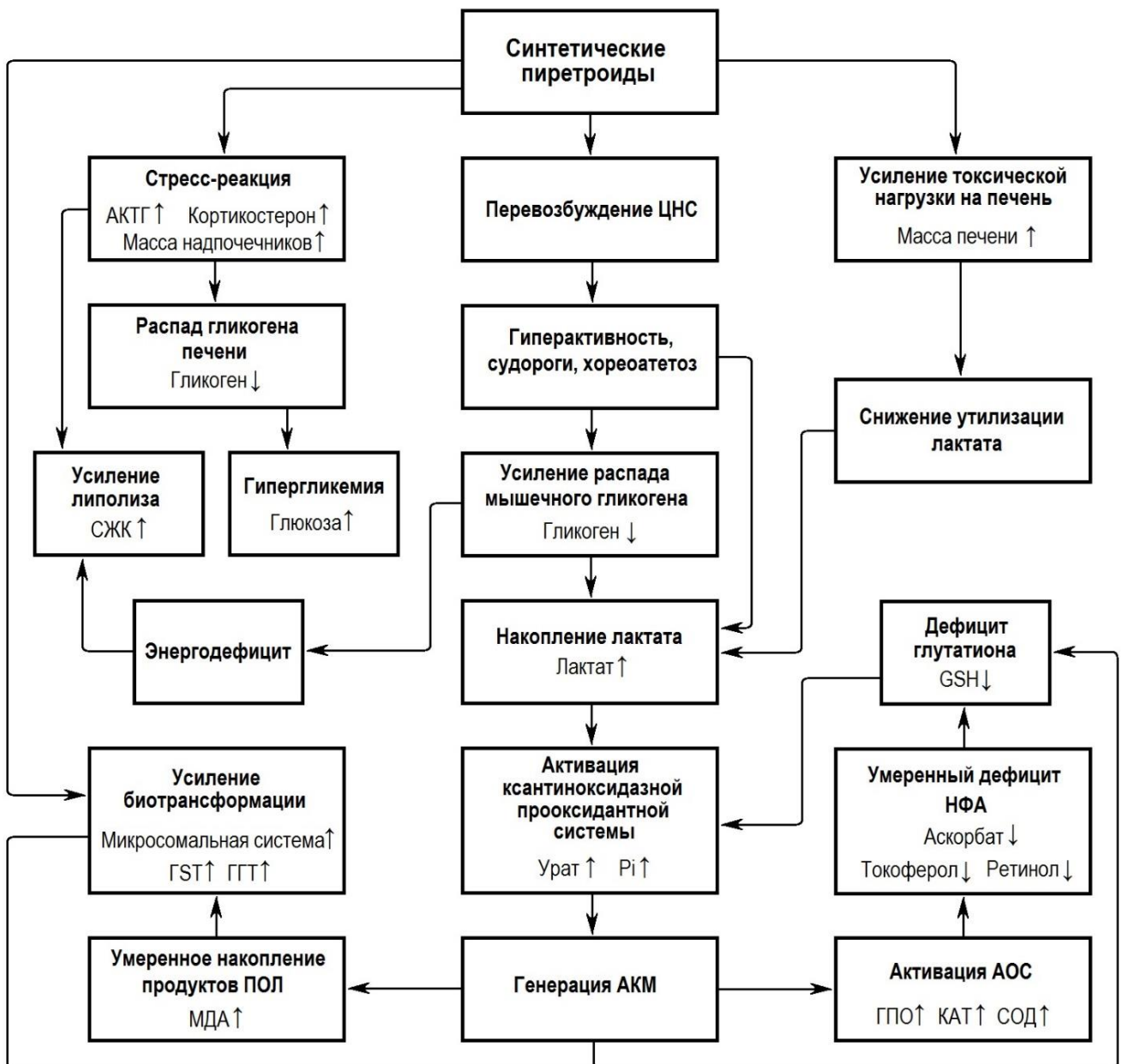


Рисунок 3 – Адаптационные реакции организма мышевидных грызунов на ранних стадиях воздействия высоких доз синтетических пиретроидов (1-3-е сут после введения ДМ/ЦМ в дозе 1/2 или 1/5 ЛД₅₀)

Примечание. Здесь и на рис. 5: *АОФ* – антиоксидантные ферменты (ГПО, ГР, КАТ, СОД), *КоА* – кофермент А, *МС* – микросомальная система, *НФА* – неферментативные антиоксиданты (аскорбат, токоферол, ретинол), *Р5Ф* – рибозо-5-фосфат, *СЖК* – свободные жирные кислоты, *ЦНС* – центральная нервная система, *ЦПЭ* – цепь переноса электронов, *ЦТК* – цикл трикарбоновых кислот.

Таблица 2 – Биохимические показатели печени крыс, подвергнутых однократному введению дельтаметрина (ДМ) и циперметрина (ЦМ) в дозе $1/2 \text{ ЛД}_{50}, \text{Me} (Q_1-Q_3), n=15$

Показатель	1-е сут			7-е сут		
	К	ДМ	ЦМ	К	ДМ	ЦМ
Урат, мкмоль/г ткани	23,8 (18,6–30,4)	41,7 (35,6–50,1) $p=0,0001$	38,4 (35,9–46,7) $p=0,0007$	18,7 (16,0–25,5)	44,8 (38,6–52,8) $p<0,0001$	49,1 (41,8–55,0) $p=0,0003$
Pi, мкмоль/г ткани	11,4 (8,94–15,0)	20,4 (18,8–24,0) $p<0,0001$	22,3 (20,3–25,5) $p=0,0003$	9,14 (7,56–13,2)	25,4 (22,4–28,9) $p<0,0001$	23,0 (20,7–28,6) $p=0,0001$
МДА, нмоль/мг белка	89,5 (64,9–91,9)	98,4 (92,0–139) $p=0,0079$	131 (95,2–145) $p=0,0039$	74,0 (65,5–98,1)	153 (117–161) $p=0,0003$	139 (119–149) $p=0,0001$
GSH, нмоль/мг белка	38,5 (31,2–40,3)	26,5 (22,3–29,5) $p=0,0007$	22,3 (17,5–29,6) $p=0,0008$	33,8 (31,0–37,6)	26,2 (18,3–27,1) $p=0,0002$	20,9 (17,6–26,7) $p=0,0002$
Аскорбат, мкг/ мг белка	18,3 (16,1–21,5)	15,3 (12,1–18,2) $p=0,0351$	16,2 (15,1–18,7) $p=0,1749$	21,0 (18,6–22,5)	12,0 (10,7–16,8) $p=0,0005$	10,7 (9,35–13,9) $p=0,0001$
Токоферол, мкг/ мг белка	9,87 (8,45–11,2)	7,65 (4,88–9,92) $p=0,0783$	8,78 (6,31–11,1) $p=0,3556$	11,2 (8,73–14,2)	3,01 (1,95–6,08) $p=0,0001$	4,92 (3,34–6,86) $p=0,0002$
Г6ФДГ, Ед./мг белка	26,8 (24,9–35,9)	25,1 (20,2–30,8) $p=0,1749$	25,0 (19,6–28,4) $p=0,1260$	31,4 (25,9–37,0)	14,7 (12,1–18,0) $p=0,0004$	16,8 (14,4–18,6) $p=0,0006$
ГПО, Ед./мг белка	814 (644–853)	976 (941–1330) $p=0,0001$	939 (853–1018) $p=0,0038$	685 (620–846)	347 (269–422) $p=0,0001$	463 (314–563) $p=0,0007$
ГР, Ед./мг белка	438 (368–531)	852 (698–963) $p=0,0002$	746 (607–846) $p=0,0002$	399 (357–444)	267 (181–294) $p=0,0001$	269 (195–300) $p=0,0001$
GST, Ед./мг белка	614 (504–680)	841 (752–951) $p=0,0003$	904 (779–982) $p=0,0001$	588 (512–706)	857 (746–1065) $p=0,0008$	863 (823–937) $p<0,0001$

Активность микросомальных оксигеназ, напротив, увеличивается в течение первой недели после введения высоких доз ДМ/ЦМ (рис. 4). Однако эффективность данной системы может быть недостаточно выражена из-за отмеченного выше дефицита НАДФН+Н⁺, так как в реакциях *in vivo* это может быть лимитирующим фактором. Торможение реакций пентозного цикла ведет не только к снижению генерации НАДФН+Н⁺, но и снижению эффективности реутилизации пуринов, что способствует накоплению мочевой кислоты в органах и тканях.

Биотрансформация СП проходит и в других ферментативных системах. Одной из наиболее важных является GST, которая осуществляет конъюгацию СП и их метаболитов с GSH. При этом клетки теряют как сам GSH, так и отдельные аминокислоты, участвующие в синтезе этого трипептида, из-за чего развивается

дефицит GSH в гепатоцитах и других клетках организма (табл. 2). Кроме того, регенерация GSH – это энергозатратный процесс.

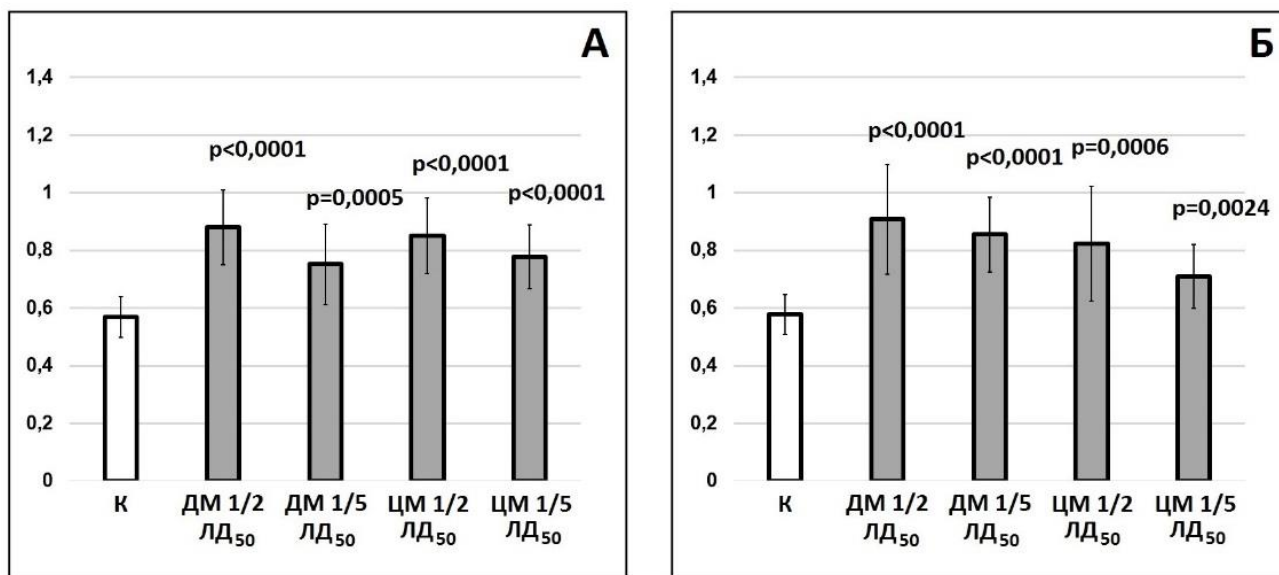


Рисунок 4 – Гидроксилазная активность микросом печени крыс в первые (А) и седьмые (Б) сутки после однократного введения синтетических пиретроидов, ($M \pm SD$), нмоль/мг/мин., (n=12)

Снижение окислительно-восстановительного потенциала общих путей катаболизма и АОС в организме экспериментальных животных усугубляет энергодефицит и ведет к развитию окислительного стресса (рис. 5). Данный процесс усугубляется тем, что генерируемые во время синтеза мочевой кислоты АКМ менее эффективно инактивируются в реакциях, катализируемых КАТ и СОД.

У крыс, получавших низкие дозы СП, отмечается накопление в органах МДА, продукта ПОЛ, вследствие активации ксантиноксидазной прооксидантной системы, продуктами которой являются урат и АКМ. Уровень мочевой кислоты в печени крыс, подвергнутых действию низких доз ДМ и ЦМ, статистически значимо превышает значение данного показателя у крыс из контрольной группы. Для нивелирования прооксидантных эффектов клетки активно используют ферментативные и неферментативные антиоксиданты. Низкие дозы СП способствуют снижению уровня антиоксидантов и подавлению активности антирадикальных и антиперекисных ферментов. Это указывает на то, что продукция АКМ, индуцированная низкими дозами СП, превышает физиологические возможности АОС. Введение низких доз СП также способствует активации микросомальных оксигеназ и GST. Это вносит свой вклад в развитие дефицита GSH и других антиоксидантов.

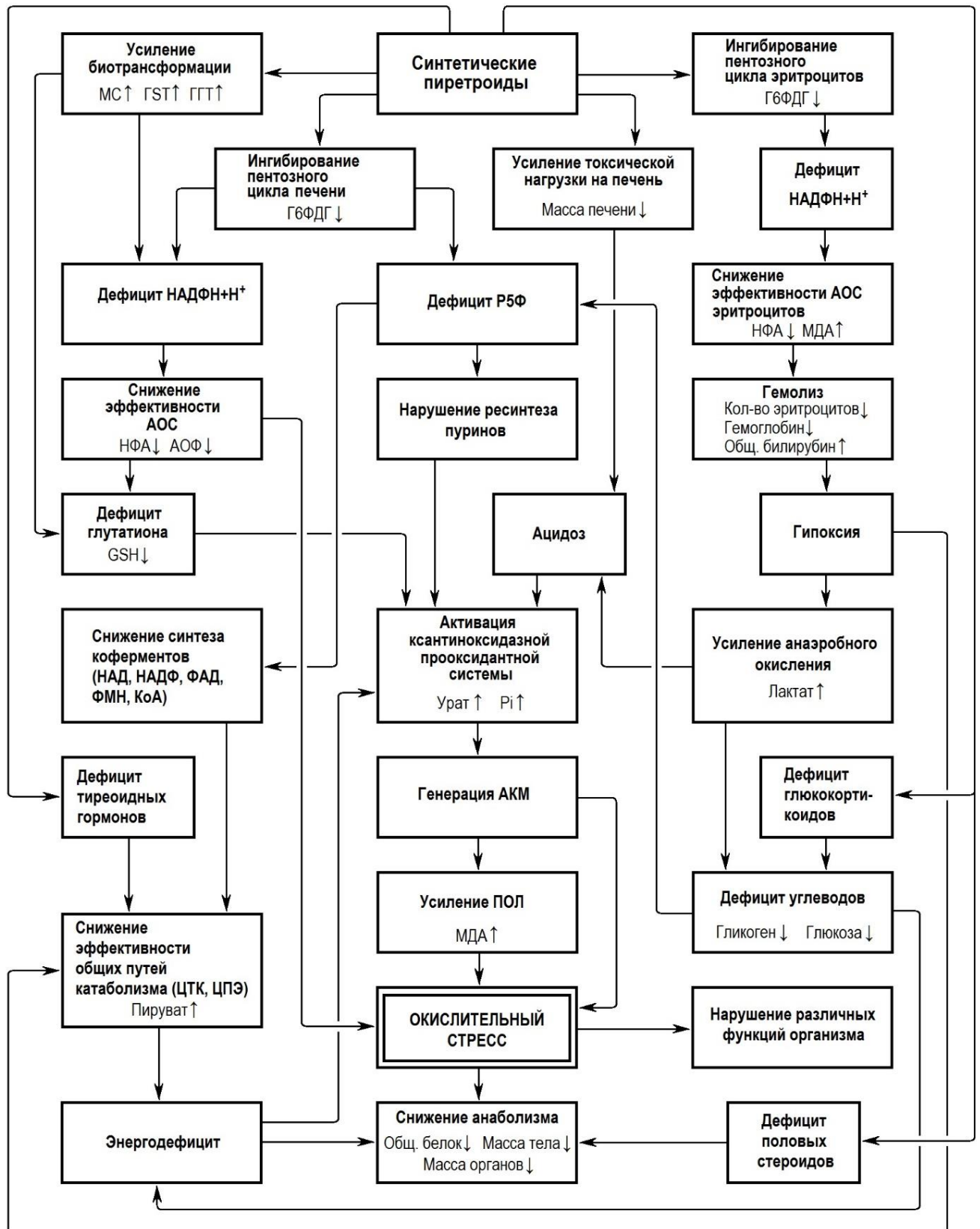


Рисунок 5 – Компенсаторные механизмы поддержания гомеостаза в поздние сроки воздействия высоких доз СП / при длительном действии низких доз синтетических пиретроидов (7-30-е сут после введения ДМ/ЦМ в дозе 1/2 или 1/5 ЛД₅₀ / 60-120-е сут при ежедневном введении ДМ/ЦМ в дозе 1/100 или 1/1000 ЛД₅₀)

Кроме того, низкие дозы ДМ и ЦМ способствуют снижению функции пентозного цикла на 60-е сут ежедневного введения изучаемых пестицидов. Из-за подавления ключевого фермента пентозного цикла (Г6ФДГ) органы и ткани недополучают НАДФН+Н⁺ и рибозу, необходимую для реутилизации пуринов и функционирования АОС. В результате это способствует дисфункции АОС на фоне еще большей генерации АКМ в прооксидантных системах. Итогом воздействия низких доз СП становится развитие окислительного стресса, перестройка клеточных функций и изменение абсолютной и относительной массы внутренних органов.

Эксперимент в условиях полевого вивария показал, что в результате введения самцам и самкам красной полевки СП происходит накопление в печени мочевой кислоты, Рi и МДА на фоне снижения уровня неферментативных антиоксидантов. Изменения у самцов и самок носят схожий характер, но необходимо отметить, что введение самкам ЦМ в дозе 1/2 ЛД₅₀ не вызывает статистически значимых различий в содержании МДА. Это может быть связано с более эффективной работой АОС у самок *M. rutilus*. В рамках данного исследования уровни GSH и токоферола в печени у зимовавших самок *M. rutilus* значительно превышали эти показатели у самцов, а содержание аскорбата было ниже. Кроме того, запасы ретинола в печени у самок также оказались выше, чем у самцов.

Накопление в печени МДА на фоне снижения уровня неферментативных антиоксидантов указывает на развитие в организме окислительного стресса. Это ведет к накоплению продуктов ПОЛ. Таким образом, в организме возрастает количество эндогенных токсинов, которые наряду с метаболитами СП стимулируют экспрессию различных антиоксидантных и защитных ферментов, таких как GST и ГГТ. Введение ДМ и ЦМ вызывает увеличение активности GST и ГГТ в печени у *M. rutilus* на 7-е сут опыта. Кроме того, в печени красных полевок СП стимулируют активацию микросомального окисления и вызывают торможение функции пентозного цикла. Развитие дефицита кислорода в тканях и активация защитных механизмов способствуют истощению запасов гликогена в печени у полевок. Кроме того, ДМ и ЦМ вызывают увеличение относительной массы печени у *M. rutilus*.

Исследование обмена веществ у красных полевок, отловленных на территории лесных биотопов после акарицидной обработки, показало изменения, описанные выше для крыс и полевок, содержащихся в условиях лабораторного и полевого вивариев. У *M. rutilus* отмечается увеличение содержания в гомогенатах печени мочевой кислоты, что говорит об интенсификации разрушения АТФ и

других пуринов с параллельной генерацией АКМ, разрушающих мембранные структуры гепатоцитов и вызывающих накопление МДА.

В результате усиления ПОЛ возрастает расход антиоксидантов, что ведет к снижению их содержания в печени полевок, отловленных на территории площадок «Д» и «Ц» в сравнении с фоном. Также у полевок отмечается повышение активности систем биотрансформации на фоне торможения функции пентозного цикла. Дефицит НАДФН+Н⁺, генерируемого в Г6ФДГ-ой реакции *in vivo*, лимитирует протекание многих редокс-реакций у полевок, включая процессы биотрансформации ксенобиотиков и АОС.

Энергодефицит, катаболизм пуриновых мононуклеотидов, активация прооксидантных систем, снижение функции пентозного цикла и АОС, активация систем биотрансформации ксенобиотиков являются звеньями адаптационно-компенсаторного механизма, развивающегося в организме мышевидных грызунов в результате действия на него цианосодержащих СП (рис. 3 и 5).

ГЛАВА 6. Биохимические показатели и профили как маркеры адаптивных изменений после воздействия на организм синтетических пиретроидов

Использование информативных биохимических показателей или метаболических профилей крови и внутренних органов представляется перспективным в разработке новых методов оценки адаптации животных к действию различных ксенобиотиков, а также методов биоиндикации природных популяций млекопитающих после применения пестицидов на территории природных биотопов.

При проведении акарицидной обработки леса СП мы отмечали изменение метаболического профиля у *M. rutilus*, обитающих на его территории (табл. 3). У полевок, отловленных спустя 7 и 30 сут после обработки леса, наблюдается нарушение энергетического, белкового и углеводного обмена. Стоит отметить, что у полевок из ЗФФГ заметны большие различия между самцами и самками. Это, с одной стороны, может означать, что созревшие самцы-сеголетки лучше адаптируются к действию СП, а, с другой, может быть связано с высокой миграционной активностью молодых самцов внутри популяции. На 30-е сут полевого опыта метаболические профили у представителей ЗФФГ имели максимальное количество отличий от фона по анализируемым показателям. Это касается как профилей крови, так и печени (табл. 3). Спустя 60 сут после обработки различия с фоном нивелируются, что указывает на обратимость изменений в организме *M. rutilus* при обработке лесного биотопа суспензией ДМ с концентрацией по действующему веществу 0,0250% и эмульсии ЦМ с концентрацией 0,1880% по действующему веществу.

Таблица 3 – Метаболические профили крови и печени красной полевки (ЗФФГ) после акарицидной обработки леса

Срок, сут	Площадка	Пол	Кровь						Печень				
			Гемоглобин	Общий белок	Глюкоза	Лактат	Кортикостерон	T ₃	Гликоген	МДА	Ретинол	Активность микросом	GST
7	«Д»	♂	=	↓	=	=	=	↓	↓	↑	↓	↑	↑
		♀	=	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↑
	«Ц»	♂	=	=	↓	↑	=	↓	↓	↑	↓	↑	↑
		♀	↓	↓	↓	↑	=	↓	↓	↑	↓	↑	↑
30	«Д»	♂	=	↓	↓	↑	↑	↓	↓	=	↓	↑	↑
		♀	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↑
	«Ц»	♂	=	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↑
		♀	↓	↓	↓	↑	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↑
60	«Д»	♂	=	↓	↓	↑	↑	↓	↓	=	=	↑	↑
		♀	=	↓	↓	=	=	↓	↓	=	=	↑	↑
	«Ц»	♂	=	↓	↓	↑	=	↓	↓	=	=	↑	↑
		♀	↓	↓	↓	=	=	↓	=	=	=	↑	↑

Примечание. «=» – отсутствие статистически значимых различий по сравнению с фоном, «↑» – показатель статистически значимо превышает уровень фона, «↓» – ниже, чем у полевок с фоновой площадки.

Для неинвазивной оценки стрессированности млекопитающих проводили сбор образцов фекалий у отловленных зверьков для сопоставления уровня кортикостерона с изменением морфофизиологических параметров крови и внутренних органов у *M. rutilus*. Установлено, что изменения морфофизиологических параметров, указывающие на высокую стрессированность (увеличение массы надпочечников, снижение массы репродуктивных органов, уменьшение содержания гликогена и витаминов в печени), коррелируют с высоким содержанием кортикостерона в фекалиях. Например, коэффициент корреляции (r_s) между массой надпочечников и содержанием кортикостерона в фекалиях у самцов и самок из ЗФФГ, отловленных на 30-е сут после начала полевого опыта, варьирует в диапазоне 0,587-0,793 при $p < 0,05$. Следовательно, содержание кортикостерона в фекалиях мышевидных грызунов может рассматриваться как альтернатива инвазивных методов при оценке стрессированности популяции, не требующая определения большого количества морфофизиологических параметров и гарантирующая возвращение зверьков в естественные биотопы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований показали, что адаптивные изменения метаболизма у мышевидных грызунов, происходящие под действием СП, характеризуются изменением гормонального статуса, вызывающим перестройку энергетического обмена, сопровождающуюся развитием дефицита глюкозы и гликогена в организме животных. Усугубляет ситуацию снижение функции пентозного цикла на фоне активации систем биотрансформации ксенобиотиков. В результате этих адаптационно-компенсаторных метаболических реакций в организме крыс развивается окислительный стресс, сопровождающийся снижением уровня антиоксидантов в печени и других органах, в том числе органах репродуктивной системы, что нарушает репродуктивную функцию.

Результаты, полученные в условиях полевого опыта на красной полевке (*M. rutilus*), показали, что адаптационные метаболические изменения у этого вида мышевидных грызунов однотипны с установленными ранее в лабораторных тестах на крысах. У полевок установлены дефицит глюкозы в крови и гликогена в печени и мышцах, повышение активности прооксидантных систем с накоплением МДА и угнетением АОС, а также активация ферментов биотрансформации и изменение эндокринной регуляции метаболических процессов.

Результаты исследования в дальнейшем могут использоваться в оценке адаптивных реакций и выявления потенциальной угрозы срыва адаптационного процесса. При этом будет обеспечена возможность своевременно и целенаправленно корректировать состояние организма и его функций.

На основании результатов исследований по изучению адаптивных изменений метаболизма у мышевидных грызунов к действию СП можно сделать следующие выводы:

1. Наиболее информативными маркерами адаптации мышевидных грызунов к действию ДМ и ЦМ являются следующие биологически активные вещества: неферментативные антиоксиданты (аскорбат, токоферол, ретинол, GSH), ферменты (Г6ФДГ, ГР, GST), а также гормоны (кортикостерон, Т₄, тестостерон). Данные показатели могут использоваться в оценке стрессорной нагрузки и адаптационных изменений в организме млекопитающих при использовании СП.

2. Стресс, развивающийся у крыс при действии высоких доз СП (1/2 ЛД₅₀ и 1/5 ЛД₅₀), вызывает в первые трое суток увеличение содержания в крови глюкозы, ПВК, молочной и мочевой кислот, а также холестерина. На 7-е сутки у крыс отмечаются дефицит глюкозы на фоне накопления лактата и ПВК, что указывает на активацию анаэробных процессов; снижение количества эритроцитов, концентрации гемоглобина на фоне повышения уровня общего

билирубина свидетельствует о развитии гемолиза и тканевой гипоксии; дефицит общего белка на фоне накопления мочевой кислоты и мочевины указывает на преобладание катаболических реакций. Ежедневное введение крысам низких доз СП (1/100 и 1/1000 ЛД₅₀) вызывает аналогичные изменения метаболизма, но адаптивные процессы развиваются 60-120 суток.

3. Акарицидная обработка природных биотопов с использованием рабочей суспензии ДМ с концентрацией по действующему веществу 0,0250% и рабочей эмульсии ЦМ с концентрацией 0,1880% вызывает у обитающих на их территории красных полевок изменения показателей крови. У полевок обнаруживается снижение количества эритроцитов в крови, дефицит гемоглобина, общего белка и глюкозы на фоне накопления лактата, урата и билирубина, что указывает на гемолиз, развитие гипоксии и интенсификацию анаэробного окисления, нивелируемые по истечении 60 суток. Биотестирование высоких доз ДМ и ЦМ (1/2 ЛД₅₀ и 1/5 ЛД₅₀) на зимовавших особях *M. rutilus*, содержащихся в условиях полевого вивария, выявляет те же закономерности в изменении гематологических и биохимических показателей. Однотипные изменения под влиянием СП в организме лабораторных крыс и красной полевки в условиях полевого опыта указывают на общие закономерности адаптационных реакций, направленных на поддержание гомеостаза.

4. Адаптационно-компенсаторные реакции при действии СП на лабораторных крыс и красных полевок запускаются вследствие активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что сопровождается выбросом в кровь АКТГ, увеличением абсолютной и относительной массы надпочечников и повышением секреции кортикостерона и альдостерона. Содержание кортикостерона в крови крыс достигает максимума в первые сутки после воздействия СП и нормализуется на 7-е сутки. Воздействие высоких доз ДМ и ЦМ на красных полевок в условиях вивария ведет к развитию гиперкортикостеронемии на 7-е сутки эксперимента. После акарицидной обработки лесного биотопа высокий уровень кортикостерона в крови красных полевок отмечается на 7-е и 30-е сутки, а нормализуется только на 60-е.

5. Однократное воздействие высоких доз ДМ и ЦМ вызывает гипофункцию щитовидной железы у мышевидных грызунов, что сопровождается снижением уровня Т₄ и Т₃ в сыворотке крови. У крыс в условиях лабораторного эксперимента отмечается компенсаторное возрастание концентрации ТТГ в крови. Дефицит тиреоидных гормонов способствует торможению анаболических реакций и экономному использованию энергетических субстратов (особенно глюкозы). Длительное воздействие низких доз СП на крыс в лабораторном виварии и красных полевок при акарицидной обработке леса также приводит к гипофункции щитовидной железы.

6. Адаптивные изменения гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси под влиянием СП у самцов крыс характеризуется увеличением в крови ЛГ и снижением биосинтеза тестостерона. В ткани семенников, эпидидимисе и простате отмечается накопление МДА и урата, снижение уровня неферментативных антиоксидантов и торможение активности ферментов АОС и пентозного цикла, что свидетельствует об усилении свободнорадикальных процессов и ПОЛ. Дефицит половых стероидов, вызванный СП, ведет к снижению массы семенников и снижению количества сперматозоидов в гомогенате семенников. У красных полевок, отловленных на обработанной СП территории, также снижается относительная масса и гормональная активность половых желез. У самок отмечается снижение плодовитости и интенсивности размножения. Содержание гормонов в сыворотке крови коррелирует с уровнем антиоксидантов в печени и половых железах.

7. В первые трое суток после воздействия СП у животных в лабораторном опыте отмечается увеличение массы печени, мобилизация печеночного гликогена, активация ферментов АОС и микросомальной системы биотрансформации ксенобиотиков. В более поздние сроки (7-30 сут) из-за развития гипоксии отмечается дефицит запасов гликогена (как в печени, так и в мышцах) и усиление катаболических реакций, что ведет к замедлению темпов роста животных, уменьшению массы печени и снижению белоксинтезирующей функции печени. Восполнение запасов гликогена за счет глюконеогенеза в лабораторных условиях затруднено вследствие дефицита энергии и глюкокортикоидов, а у полевок в естественных условиях за счет энергодифицита.

8. Высокие дозы СП вызывают у крыс в течение первых трех суток увеличение абсолютной и относительной массы почек, активацию ферментов АОС, снижение уровня GSH, токоферола, аскорбата, ретинола на фоне увеличения содержания мочевой кислоты, Р_i и МДА. В более поздние сроки эксперимента (7-30 сутки) у крыс отмечается тенденция к снижению массы почек, угнетение активности ферментов АОС; низкий уровень антиоксидантов на фоне увеличения содержания урата, Р_i и МДА сохраняется. Изменение физико-химических параметров крови в сочетании с нарушением окислительных и редокс-реакций в почках способствует накоплению в крови животных конечных продуктов обмена веществ (мочевой кислоты, мочевины, билирубина и др.). Воздействие СП на красных полевок в условиях полевого вивария и естественного биотопа вызывает аналогичные изменения в почках.

9. Накопление МДА в органах и тканях мышевидных грызунов, подвергнутых действию СП, на фоне снижения уровня неферментативных антиоксидантов (GSH, токоферола, аскорбата, ретинола) и подавления активности антиоксидантных ферментов (КАТ, СОД, ГПО, ГР) указывает на развитие

окислительного стресса. Пусковыми механизмами данного процесса являются ацидоз и усиленный катаболизм пуринов, сопровождающиеся накоплением в организме мочевой кислоты и повышением продукции АКМ, провоцирующих свободнорадикальное окисление. Повреждение мембран эритроцитов в условиях окислительного стресса ведет к гемолизу, наиболее выраженному на 7-е сутки эксперимента, что усугубляет тканевую гипоксию, катаболизм пуринов, нарушает физиологическое протекание редокс-реакций.

10. Биотрансформация СП в организме мышевидных грызунов сопряжена с усиленным расходом клеточного GSH из-за активации GST, вовлекающей данный трипептид не в редокс-реакции с последующим восстановлением, а в реакции конъюгации с последующим выводом из организма конъюгатов, включающих метаболиты пиретроидов, GSH и/или аминокислоты, входящие в его состав. Это, с одной стороны, приводит к повышению адаптационного резерва организма и резистентности к СП, а, с другой, ведет к безвозвратной потере GSH, ресинтез которого в условиях энергодефицита затруднен. Дефицит GSH в результате действия ДМ и ЦМ ведет к повышенному расходу других неферментативных антиоксидантов.

11. Активность Г6ФДГ – ключевого фермента пентозного цикла снижается под влиянием СП у мышевидных грызунов как в лабораторном, так и полевом экспериментах. Статистически значимое снижение активности Г6ФДГ при действии высоких доз СП отмечается на 7-е сутки. При длительном воздействии химического стрессора значимые изменения отмечаются на 60-е сутки. Угнетение функции пентозного цикла у животных под влиянием СП способствует глубокому катаболизму пуринов (из-за дефицита рибозы), а также лимитирует работу АОС и микросомальной системы биотрансформации метаболитов СП и эндогенных продуктов ПОЛ (из-за дефицита НАДФН+H⁺). Подавление активности Г6ФДГ эритроцитов ведет к дисфункции их АОС вследствие нарушения редокс-реакций.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Адаптационно-компенсаторные изменения в организме мышевидных грызунов могут служить информативными критериями экологического благополучия естественных биотопов. При этом необходимо учитывать стадийность изменений:

- адаптация характеризуется повышением активности ферментов антиоксидантной системы (СОД, КАТ, ГПО, ГР), умеренным накоплением мочевой кислоты, Р_i, МДА, незначительным снижением уровня неферментативных антиоксидантов (GSH, аскорбата, токоферола) в печени и

эритроцитах, высоким уровнем кортикостерона в сыворотке крови, при этом тиреоидные и половые гормоны остаются на уровне физиологической нормы.

- компенсация характеризуется ингибированием ферментов антиоксидантной системы (СОД, КАТ, ГПО, ГР) и пентозного цикла (Г6ФДГ), значительным накоплением мочевины, P_i , МДА на фоне выраженного дефицита неферментативных антиоксидантов (GSH, аскорбата, токоферола) в печени и эритроцитах, снижением уровня тиреоидных и половых гормонов в сыворотке крови, при этом уровень кортикостерона сопоставим с нормой или снижен.

2. Неинвазивную диагностику стрессированности особей в естественных биотопах целесообразно проводить по содержанию кортикостерона в фекалиях с возвратом отловленных зверьков в среду обитания.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Чигринский Е.А.** Система глутатиона в простате крыс при острой интоксикации синтетическим пиретроидом дельтаметрином / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, В.Д. Конвай, Я.Ю. Метринский // Естественные и технические науки. – 2014. – № 11-12. – С. 58-61. (ВАК)
2. **Chigrinski E.A.** Glutathione-related enzyme activity in rats' testes and epididymis at an acute intoxication with a synthetic pyrethroid deltamethrin / E.A Chigrinski, V.D. Conway, L.K. Gerunova, T.V. Gerunov // Int. J. Pharma Bio Sci. – 2015. – Vol. 6, No 4. – P. B340-B344. (Scopus)
3. Фёдоров Ю.Н. Оценка риска репродуктивной токсичности дельтаметрина в условиях эксперимента / Ю.Н. Фёдоров, **Е.А. Чигринский**, Т.В. Герунов, Я.Ю. Метринский // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т.9 (18). – №1 (1). – С. 43-44. (ВАК, RSCI)
4. Герунов Т.В. Морфобиохимическая оценка повреждения почек у крыс при острой интоксикации дельтаметрином / Т.В. Герунов, **Е.А. Чигринский**, В.И. Герунов, В.Д. Конвай // Вестник АПК Ставрополя. – 2015. – № S1. – С. 44-48. (ВАК)
5. Герунов Т.В. Адаптационно-компенсаторные реакции на ранней стадии острой интоксикации крыс дельтаметрином / Т.В. Герунов, **Е.А. Чигринский**, Ю.Н. Федоров, Л.К. Герунова, В.Д. Конвай // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – №4. – С. 516-523. (ВАК, Scopus, RSCI)
6. **Chigrinski E.A.** Impact of Acute Deltamethrin Poisoning on Rat Adrenal Glands: Biochemical and Pathomorphological Study / E.A. Chigrinski, T.V. Gerunov, L.K. Gerunova, P.P. Zolin // Int. J. Biomed. – 2017. – Vol. 7, No 3. – P. 221-225. (Web of Science)
7. Дорожкин В.И. Влияние синтетического пиретроида дельтаметрина на активность глутатион-зависимых ферментов в семенниках крыс / В.И.

- Дорожкин, Е.А. **Чигринский**, Т.В. Герунов // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2017. – № 1. – С. 85-90. (BAK, RSCI)
8. **Chigrinski E.A.** Experimental study of deltamethrin-induced nephrotoxicity in the rat model / E.A. Chigrinski, T.V. Gerunov, L.K. Gerunova, Yu.N. Fedorov, N.V. Shorin // Int. J. Biomed. – 2018. – Vol. 8, No 3. – P. 220-223. (Web of Science)
 9. **Чигринский Е.А.** Антиоксидантная система печени красной полевки (*Myodes rutilus*, Rodentia, Cricetidae) при воздействии дельтаметрина / Е.А. Чигринский // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2023. – Т. 9, № 2. – С. 229-238. (BAK – K2)
 10. **Chigrinski E.A.** Trigger Mechanisms of Cypermethrin-Induced Changes of Metabolism: An Experimental Study / E.A. Chigrinski, L.K. Gerunova, T.V. Gerunov, N.V. Shorin, L.A. Dietz // Int. J. Biomed. – 2023. – Vol. 13, No 2. – P.309-312. (Scopus, Web of Science)
 11. Герунов Т.В. Окислительный стресс у животных при воздействии циперметрина: механизмы развития и возможные риски / Т.В. Герунов, **Е.А. Чигринский**, Л.К. Герунова // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 3. – С. 94-101. (BAK – K2)
 12. **Чигринский Е.А.** Морфофункциональное состояние щитовидной железы у крыс при длительном низкодозовом воздействии дельтаметрина / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов, Н.В. Шорин // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 3. – С. 102-107. (BAK – K2)
 13. **Чигринский Е.А.** Влияние дельтаметрина на функциональную активность щитовидной железы у мышевидных грызунов при однократном воздействии / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов, П.П. Золин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 255, № 3. – С. 371-375. (BAK – K1)

Статьи в других рецензируемых изданиях:

14. **Чигринский Е.А.** Морфофункциональное состояние надпочечников у лабораторных животных в условиях экспериментальной интоксикации циперметрином / Е.А. Чигринский, В.Д. Конвай, Ю.Н. Федоров, Л.К. Герунова, В.И. Герунов // Токсикологический вестник. – 2018. – № 6. – С. 28-33.
15. **Чигринский Е.А.** Изменение метаболического профиля мышевидных грызунов при воздействии циперметрина / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // Естественные и технические науки. – 2018. – № 10. – С. 68-70.
16. Дорожкин В.И. Комплексная диагностика отравлений пестицидами в условиях эксперимента / В.И. Дорожкин, Т.В. Герунов, В.И. Герунов, А.А. Тарасенко, В.В. Шитиков, **Е.А. Чигринский** // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 11. – С. 42-50.
17. **Чигринский Е.А.** Влияние акарицидной обработки леса на состояние репродуктивной системы самцов красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // Естественные и технические науки. – 2019. – № 8. – С. 42-45.

18. **Чигринский Е.А.** Тиреоидный статус мышевидных грызунов при воздействии синтетического пиретроида циперметрина / Е.А. Чигринский // Токсикологический вестник. – 2019. – № 5. – С. 54-59.
19. **Чигринский Е.А.** Изменение структуры популяции и морфофизиологических параметров красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) после акарицидной обработки лесного биотопа циперметрином / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // Естественные и технические науки. – 2020. – № 12. – С. 105-110.
20. **Чигринский Е.А.** Содержание каротиноидов и токоферола в звеньях пищевой цепи при использовании циперметрина для акарицидной обработки лесных биотопов / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Н.В. Шорин // Проблемы региональной экологии. – 2020. – № 6. – С. 24-30.
21. Герунов Т.В. Проблема резистентности членистоногих к инсектицидным и акарицидным препаратам / Т.В. Герунов, В.И. Дорожкин, А.А. Тарасенко, Л.К. Герунова, **Е.А. Чигринский**, А.Х. Шантыз // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2021. – № 1. – С. 91-98.
22. **Чигринский Е.А.** Влияние акарицидной обработки леса на размножение и плодовитость популяции красной полевки (*Myodes rutilus* Pall., 1779) / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Н.В. Шорин, Т.В. Герунов // Проблемы региональной экологии. – 2021. – № 4. – С. 112-117.
23. Герунов Т.В. Стресс и иммуносупрессия: возможности фармакокоррекции / Т.В. Герунов, Л.К. Герунова, Ю.Н. Федоров, В.И. Герунов, **Е.А. Чигринский** // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». – 2023. – Т. 9, № 3. – 271-281.

Методические рекомендации:

24. Дорожкин В.И. Принципы фармакологической коррекции иммунной реактивности животных при использовании инсектоакарицидных препаратов: методические рекомендации / В.И. Дорожкин, Т.В. Герунов, **Е.А. Чигринский**, М.Н. Гонохова. – Омск: Изд-во ИП Макшеевой Е.А., 2020. – 36 с.

Учебное пособие:

25. **Чигринский Е.А.** Методы экспериментальной биохимии: учебное пособие / Е.А. Чигринский, Е.С. Ефременко; Омский государственный медицинский университет. – Омск: «Полиграфист», 2022. – 136 с.

Публикации в других изданиях и сборниках материалов конференций:

26. **Chigrinski E.A.** Ascorbate level in reproductive organs of male rats in acute deltamethrin intoxication / E.A. Chigrinski, V.D. Conway, Y.Y. Metrinskiy // Eur. J. Nat. Hist. – 2014. – № 4. – P. 30.
27. **Chigrinski E.A.** Effect of acute intoxication deltamethrin on level of non-enzymatic antioxidants in the prostate of male rats / E.A. Chigrinski, V.D. Conway, Y.Y. Metrinskiy // Proceedings of the 3rd Eur. Conf. Biol. Med. Sci., Vienna. – 2014. – P. 24-27.
28. **Чигринский Е.А.** Активность ферментов обмена глутатиона в простате крыс при острой интоксикации циперметрином / Е.А. Чигринский // Рос. научно-практ. конф. «Зубаировские чтения: новое в коагулологии» «Медицинская

- биохимия: достижения и перспективы»: Сб. научн. статей., 12-14 ноября 2015 г. – Казань, 2015. – С. 129-131.
29. **Чигринский Е.А.** Влияние синтетического пиретроида циперметрина на содержание гликогена в мышцах экспериментальных животных / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // Экология и безопасность жизнедеятельности: сб. научн. трудов XVI Междунар. научно-практ. конф., 15 декабря 2016 г. – Пенза, 2016. – С. 95-98.
 30. **Chigrinski E.A.** The activity of superoxide dismutase and catalase in rat kidney with acute intoxication cypermethrin / E.A. Chigrinski, V.D. Conway // Proceedings of the 2nd Int. Conf. Sci. Dev. Eur., Vienna. – 2016. – P. 3-6.
 31. **Чигринский Е.А.** Влияние высоких доз цианосодержащих синтетических пиретроидов на содержание гликогена в мышцах в условиях эксперимента / Е.А. Чигринский // IV Всерос. научн. мед. форум с междунар. уч. «Белые цветы», 11-13 апреля 2017 г. – Казань, 2017. – С. 495.
 32. **Chigrinski E.A.** Effect of synthetic pyrethroid deltamethrin on glycogen content in muscles of experimental animals / E.A. Chigrinski // Eur. J. Nat. Hist. – 2017. – № 4. – P. 10.
 33. **Чигринский Е.А.** Влияние высоких и низких доз циперметрина на содержание гликогена в мышцах экспериментальных животных / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов // Междунар. научно-практ. конф. «Всемирный день охраны окружающей среды (Экологические чтения – 2017)», 3-5 июня 2017 г. – Омск, 2017. – С. 313-315.
 34. **Чигринский Е.А.** Влияние низких доз дельтаметрина на содержание гликогена в мышцах экспериментальных животных / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов // Всерос. научно-практ. конф. «Эколого-биологические проблемы использования природных ресурсов в сельском хозяйстве», 8-9 июня 2017 г. – Екатеринбург, 2017. – С. 415-417.
 35. **Чигринский Е.А.** Система глутатиона печени крыс при острой интоксикации пестицидом циперметрином / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов // Междунар. научно-практ. конф. «Эффективное животноводство – залог успешного развития АПК региона», 6 декабря 2017 г. – Омск, 2017. – С. 251-256.
 36. **Чигринский Е.А.** Уровень альдостерона в сыворотке крови красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) после применения циперметрина на территории леса / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // Экология и безопасность жизнедеятельности: сб. научн. трудов XVII Междунар. научно-практ. конф., 21-22 декабря 2017 г. – Пенза, 2017. – С. 155-158.
 37. Семикина С.П. Активность ферментов гликогенолиза в печени крыс при острой и хронической интоксикации дельтаметрином / С.П. Семикина, **Е.А. Чигринский** // V Всерос. научн. мед. форум с междунар. уч. «Белые цветы», 4-6 апреля 2018 г. – Казань, 2018. – С. 630.
 38. **Чигринский Е.А.** Антиоксидантная система печени красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) после акарицидной обработки леса / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, В.Д. Конвай // Всерос. научно-практ. конф. «Биоразнообразие и антропогенная трансформация экосистем», 17-18 мая 2018 г. – Саратов, 2018. – С. 229-232.

39. **Чигринский Е.А.** Система глутатиона печени мышевидных грызунов при действии на организм пестицида дельтаметрина / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // Междунар. научно-практ. конф. «Экологические чтения – 2018», 4-6 июня 2018 г. – Омск, 2018. – С. 329-332.
40. **Чигринский Е.А.** Биохимические маркеры токсичности циперметрина для лесных полевок (*Myodes*) / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, В.Д. Конвай, Т.В. Герунов // Проблемы и мониторинг природных экосистем: сб. научн. тр. V Всерос. научно-практ. конф., 29 октября 2018 г. – Пенза, 2018. – С. 155-159.
41. **Чигринский Е.А.** Метаболический профиль красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) после акарицидной обработки леса / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Н.В. Шорин // X Нац. научно-практ. конф. (с междунар. уч.) «Экологические чтения – 2019», 5 июня 2019 г. – Омск, 2019. – С. 428-433.
42. Герунов Т.В. Влияние дельтаметрина на поведение в тесте «Открытое поле» и перекисное окисление липидов в головном мозге крыс / Т.В. Герунов, **Е.А. Чигринский**, Л.К. Герунова // Всерос. научно-практ. конф. «Биоразнообразие и антропогенная трансформация природных экосистем», 6-7 июня 2019 г. – Саратов, 2019. – С. 60-64.
43. **Чигринский Е.А.** Биохимический статус мышевидных грызунов при воздействии синтетического пиретроида дельтаметрина / Е.А. Чигринский, Т.В. Герунов, Л.К. Герунова // Всерос. научно-практ. конф. «Биоразнообразие и антропогенная трансформация природных экосистем», 6-7 июня 2019 г. – Саратов, 2019. – С. 248-251.
44. **Чигринский Е.А.** Адаптационно-компенсаторные реакции у лабораторных крыс при воздействии циперметрина / Е.А. Чигринский // XVIII Всерос. симп. с междунар. уч. «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Сочи, 26-28 июня 2019 г.). – М.: РУДН, 2019. – С. 245-246.
45. Дорожкин В.И. Изменение биохимических показателей в процессе адаптации крыс к действию низких доз дельтаметрина / В.И. Дорожкин, **Е.А. Чигринский**, Т.В. Герунов, Л.К. Герунова // III Всерос. научно-практ. конф. с междунар. уч. «Агаджанянские чтения», 16-18 апреля 2020 г. – М.: РУДН, 2020. – С. 72-73.
46. **Чигринский Е.А.** Биохимический статус лабораторных крыс при хронической интоксикации циперметрином / Е.А. Чигринский, Т.В. Герунов // Междунар. научно-практ. конф. «Инновации и технологический прорыв в АПК», 19 ноября 2020 г. – Брянск, 2020. – С. 345-347.
47. **Чигринский Е.А.** Гидроксилазная активность микросом печени у мышевидных грызунов при интоксикации синтетическими пиретроидами / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова // VI Междунар. научно-практ. конф. «Модернизация аграрного образования», 16-17 декабря 2020 г. – Томск-Новосибирск, 2020. – С. 591-593.
48. **Чигринский Е.А.** Изменение витаминного статуса печени у мышевидных грызунов после акарицидной обработки леса / Е.А. Чигринский, Л.К. Герунова, Т.В. Герунов // XII Нац. научно-практ. конф. (с междунар. уч.) «Экологические чтения – 2021», 4-5 июня 2021 г. – Омск, 2021. – С. 736-741.

СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ:

АКМ – активированные кислородные метаболиты, **АКТГ** – адренокортикотропный гормон, **АОС** – антиоксидантная система, **АТФ** – аденозинтрифосфорная кислота, **Г6ФДГ** – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, **ГГТ** – гамма-глутамилтрансфераза, **ГПО** – глутатионпероксидаза, **ГР** – глутатионредуктаза, **GST** – глутатион-S-трансфераза, **ДМ** – дельтаметрин, **ДНК** – дезоксирибонуклеиновая кислота, **К** – контроль, **КАТ** – каталаза, **КФ** – классификация ферментов, **ЛД₅₀** – среднесмертельная доза, **МДА** – малоновый диальдегид, **НАД(Ф)** – никотинамидадениндинуклеотид(фосфат), **ПОЛ** – перекисное окисление липидов, **СОД** – супероксиддисмутаза, **СП** – синтетические пиретроиды, **сут** – сутки, **Т₃** – трийодтиронин, **Т₄** – тироксин, **ТТГ** – тиреотропный гормон, **ФАД** – флавинадениндинуклеотид, **ФФГ** – физиологическая функциональная группировка, **ЦМ** – циперметрин, **GSH** – глутатион, **n** – количество животных в группе, **p** – уровень значимости различий, **Pi** – неорганический фосфор.