

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Е. И. Шишацкая

« 19 » июня 2018 г.

## БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Влияние пестицидов и гуминовых кислот на морфофункциональные фенотипы эритроцитов *in vitro*

Научные руководители \_\_\_\_\_ доцент, к.б.н., Н.Г. Мензянова

Выпускник \_\_\_\_\_ Н. С. Арестова

Красноярск 2018

## Содержание

Введение.....	3
Основная часть .....	5
1 Литературный обзор .....	5
1.1 Необходимость использования пестицидов в современном сельском хозяйстве.....	5
1.2 Пестициды. Определение, классификация.....	6
1.3 Воздействие пестицидов на здоровье человека.....	8
1.4 Влияние пестецидов на структуру и биологические функции эритроцитов.....	10
1.5 Гуминовые вещества. Строение, биологическое действие на эритроциты.....	11
2 Материалы и методы .....	14
3 Результаты и обсуждение.....	20
Заключение.....	33
Список использованных источников.....	34

## ВВЕДЕНИЕ

По определению FAO к пестицидам относят органические соединения, использование которых позволяет защитить сельскохозяйственные культуры от растений-сорняков, насекомых-вредителей, патогенных грибов, бактерий и беспозвоночных.

В настоящее время для нужд сельского хозяйства ежегодно производится несколько мегатонн пестицидов. Из них – 40% гербициды, 10% - фунгициды.

В разных странах на 1 га вносится от 1 кг до 6 кг пестицидов. Мировой маркет пестицидов в 2019 году достигнет 52 миллиардов долларов.

Зависимость современных сельскохозяйственных технологий от пестицидов привела к появлению серьезных экологических проблем, связанных с накоплением пестицидов в почве, грунтовых водах, в тканях позвоночных и беспозвоночных животных.

По данным ВОЗ каждый год в развивающихся странах среди работников сельского хозяйства фиксируется 3 миллиона случаев отравлений пестицидами, в 18000 случаев отравление приводит к смерти.

Пестициды попадают в организм человека с продуктами питания и в результате непосредственного контакта (через кожу, в результате вдыхания аэрозолей). Биоаккумуляция пестицидов в различных органах тканей приводит к развитию различных заболеваний: нейродегенеративных, онкологических, гормональных и т.д. Пестициды проникают через гемато-плацентарный барьер и для них показаны тератогенные эффекты.

В современных сельскохозяйственных технологиях используются препараты гуминовых кислот – продуктов, бактериальной деградации органического вещества почвы. Гуминовые вещества относят к адаптогенам, которые повышают устойчивость растений к различным биотическим и абиотическим факторам.

Гуминовые кислоты проявляют биологическую активность и в клетках животных и человека. Известны патологии человека, связанные с высоким

содержанием гуминовых кислот в питьевой воде. В экспериментах *invitro* показано, что гуминовые кислоты индуцируют окислительный стресс, поддерживают пролиферацию опухолевых клеток, запускают процессы апоптоза в клеточных культурах, снижают осмотическую резистентность эритроцитов.

Недостаточная изученность молекулярно-клеточных механизмов и эффекторных мишеней пестицидов и гуминовых кислот в организме человека и животных, определяет актуальность исследования этих соединений в модельных клеточных системах *invitro*.

**Цель:**

Изучить влияния пестицидов и препаратов гуминовых кислот на морфофункциональные фенотипы эритроцитов *invitro*

**Задачи:**

В условиях кратковременного культивирования эритроцитов на средах с различными концентрациями пестицидов ТБ и МЕТ, препаратов гуминовых кислот определить:

- 1) сорбционную емкость эритроцитов;
- 2) сорбционную емкость гликокаликса эритроцитов;
- 3) осмотическую резистентность эритроцитов;
- 4) жизнеспособность клеток (МТТ-тест)
- 5) активность процессов трансформации эритроцитов в аномальные фенотипы

## **ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ**

### **1 литературный обзор**

#### **1.1 Необходимость использования пестицидов в современном сельском хозяйстве**

В настоящее время потери сельскохозяйственной продукции во всем мире оцениваются в 75 млрд. долларов в год, что составляет третью часть потенциально возможного сбора урожая[21].

От засоренности полей сорняками мировые потери урожая зерновых культур достигают 167 млн тонн, или 34,8% потенциального урожая [39].

Ежегодный экономический ущерб, связанный с микоинфекциями основных хлебных злаков, составляет более 60 миллиардов долларов. Эффективная борьба с микоинфекциями могла бы позволить обеспечить продуктами питания дополнительно более 600 млн человек ежегодно [25].

Определенные успехи в борьбе с микоинфекциями и сорняками агрокультур связаны с массовым использованием системных триазольных фунгицидов, в частности, тебуконазола (ТБ) и триазиновых гербицидов (метрибузин) [11].

Гуминовые кислоты, в свою очередь, обладают способностью стимулировать рост сельскохозяйственных растений, что положительно сказывается на урожайности. Кроме того, они помогают культурным растениям быстрее и эффективнее приспосабливаться к изменениям окружающей среды, что в конечном итоге так же ведет к увеличению объемов сельскохозяйственной продукции [38].

В условиях современного сельского хозяйства применение на полях пестицидов и гуминовых веществ представляется необходимым.

## 1.2 Пестициды. Определение, классификация

Пестициды — это токсичные химические вещества, используемые для борьбы с вредными организмами (включая некоторые виды грызунов, насекомых, грибы, лишайники, микроорганизмы, вирусы и др.), повреждающими растения и вызывающими порчу сельскохозяйственной продукции, а также сорными и нежелательными растениями. В здравоохранении и ветеринарии пестициды применяют для борьбы с переносчиками опасных заболеваний: малярии, чумы, туляремии, энцефалита, сонной и слоновой болезней, многих дерматологических, кишечных заболеваний и др., а также в качестве дезинфицирующих средств; в промышленности — для предохранения неметаллических материалов (полимеров, древесины, текстильных изделий), борьбы с обрастанием морских судов (особенно в южных морях), борьбы с сероводородобразующими бактериями, для предохранения труб от коррозии [8].

В настоящее время различают следующие группы пестицидов:

- а) Акарициды — группа пестицидов, предназначенных для борьбы с клещами;
- б) Гербициды — пестициды, используемые в борьбе с сорняками растений;
- в) Инсектициды — одна из самых крупных групп пестицидов, направленная на уничтожение насекомых-вредителей;
- г) Зооциды — пестициды, используемые в борьбе с животными наносящих вред сельскому хозяйству;
- д) Фунгициды — группа пестицидов, направленная на борьбу с грибковыми заболеваниями растений; и др. [5]

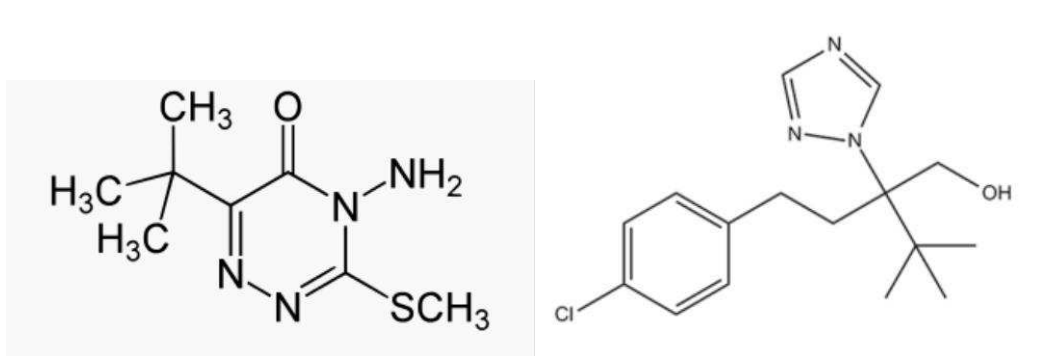


Рисунок 1 – Химические формулы гербицида метрибузина и фунгицида тебуконазола

В настоящее время более 5 миллионов тонн пестицидов поступает на мировой рынок. Около 1,5 миллионов тонн этих веществ прочно вошли в состав наземных и морских экосистем золовым и водным путем, и эта цифра неуклонно растет с каждым годом [15].

В водной среде все чаще встречаются представители инсектицидов, фунгицидов и гербицидов.

Они отравляют мировой океан и атмосферу, такими путями проникая во все уголки планеты. Так, пробы снега, взятые в Антарктиде показали, что содержание в нем сельско-хозяйственных химикатов составило 0,03-1,2 кг /л [28].

В конечном итоге пестициды из окружающей среды проникают в растения и животных. Показано, что пестициды способны вызывать в живых организмах ряд мутаций, и провоцировать развитие многочисленных заболеваний, в том числе, онкологических [25].

### 1.3 Воздействие пестицидов на здоровье человека

Выделяют три типа воздействия пестицидов на человека:

1. Острые отравления, которые вызываются большими дозами пестицидов и возникают обычно вследствие аварий или пожаров на химических предприятиях.

2. Хроническое воздействие умеренных доз связано, как правило, с профессиональной деятельностью работников химических производств либо персонала, непосредственно вовлеченного в процесс применения пестицидов.

3. Хроническому воздействию очень малых доз пестицидов, поступающих в основном по пищевым цепям, подвергается вся биосфера земного шара, хотя степень воздействия колеблется в зависимости от пищевого рациона, географического положения и уровня промышленного развития [6].

Прямые отравления пестицидами отмечаются в мире ежегодно у 2 млн. человек, из них около 50 тыс. приводят к смерти. В зависимости от структуры загрязнения пестицидами, наблюдается рост сердечно-сосудистой и эндокринной патологии, все более широко распространяются аллергические заболевания [11].

Рядом исследователей было показано, что многие пестициды являются активными канцерогенами. Они способны повреждать молекулы ДНК и вызывать мутации в генах. Кроме того, они оказывают разрушительное действие на гормоны, вызывают воспаления тканей [19].

По данным американского онкологического сообщества, девочки, проживающие в районах, подверженных массовому загрязнению пестицидами, по достижению половой зрелости в пять раз более склонны к развитию рака молочной железы, нежели их сверстницы из более чистых местностей.

Недавно было установлено, что при воздействии пестицидов на плод во время внутриутробного развития, повышает риск развития онкологических заболеваний в дальнейшем в среднем в четыре раза [30].



Люди, вовлеченные в работу в сельском хозяйстве и имеющие плотный контакт с пестицидами, болеют раком в разы чаще, чем население в целом.

Так было показано, что фермеры имеют намного более высокие показатели рака предстательной железы, чем городские жители. Женщины, которые работают с пестицидами, чаще страдают от рака яичников и имеют более высокий уровень рака кожи [24].

Пестициды оказывают губительное влияние на репродуктивное здоровье. Женщины, проживающие на загрязненных пестицидами территориях, отличаются такими изменениями репродуктивного здоровья, как позднее менархе, нарушение менструального цикла, самопроизвольные аборты, высокая частота гинекологической и акушерской патологии, нарушения темпов и сроков физического и полового развития девочек [8].

Мутагенная активность пестицидов – одно из самых опасных проявлений отрицательного влияния на здоровье человека и его потомства [12].

К числу наиболее серьезных отклонений в состоянии здоровья детей, составляющих существенную часть в общей заболеваемости и смертности, относятся врожденные пороки развития (ВПР). На протяжении последних лет наблюдается рост показателей частоты данного вида патологии, зарегистрированных среди новорожденных. Отмечено, что в таких отмечается высокая среднемноголетняя нагрузка пестицидами [7].

В настоящее время достоверно установлены генетические нарушения у лиц, перенесших острое отравление фосфорорганическими соединениями, и у рабочих промышленных предприятий, подвергающихся хроническому воздействию низких концентраций этих веществ (повышение эмбриональной смертности и врожденных аномалий у потомства) [12].

При проведении обследования среди работников сельского хозяйства, занимающихся распылением пестицидов на полях, ученые выявили, что

пестициды обнаруживаются не только в крови и моче таких людей, но даже в амниотической жидкости и грудном молоке [31].

#### 1.4 Влияние пестицидов на структуру и биологические функции эритроцитов

Доказано, что пестициды способны оказывать влияние на структуру и биологические функции эритроцитов.

Научными исследованиями было доказано, что пестициды способны вызывать гемолиз эритроцитов, окисление гемоглобина, изменение сорбционной емкости клеток, а так же индуцировать образование свободных форм кислорода [16].

Для пестицидов показана плохая растворимость в воде. При этом они хорошо растворяются в гидрофобных средах, в частности в липидах. Мембраны клеток состоят из липидного бислоя и именно он становится основной мишенью повреждающего действия пестицидов [34].

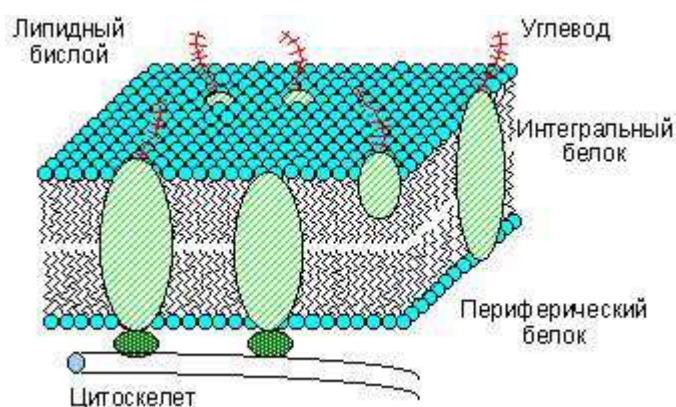


Рисунок 2 – Строение клеточной мембраны [1]

Для пестицидов показана способность индуцировать морфологические изменения эритроцитов посредством значительного увеличения процента окисленных белков в мембранах, перекисного окисления липидов, образование свободных радикалов, метгемоглобина, образования супероксида с повышенной активностью, дисмутазы и каталазы. Пестициды вызывают массовое превращение дискоцитов в акантоциты и стоматоциты.

Вместе с этим при воздействии пестицидов на эритроциты отмечается снижение уровня восстановленного глутатиона, что негативно сказывается на функциях эритроцитов [11].

Пестициды могут оказывать ингибирующее действие на белки-переносчики, заякоренные в мембранах клеток. Было показано, что некоторые пестициды непосредственно изменяют структуру мембраны и изменяют пассивную проницаемость мембран [39].

Кроме того, для пестицидов показана способность накапливаться в жировых тканях.

### **1.5 Гуминовые вещества. Строение, биологическое действие на эритроциты**

В наше время гуминовые вещества являются легко доступным сырьем, нашедшим широкое применение в сельском хозяйстве, животноводстве, а так же в некоторых отраслях нетрадиционной, альтернативной и народной медицины [33].

Гуминовые кислоты представляют собой комплекс органических соединений, состоящих из длинноцепочечных молекул, имеющих большую молекулярную массу. Имеют коричневую, бурую или желтую окраску. Гуминовые вещества обладают способностью растворяться в водных средах [36].

Исследования группы индийских ученых показали, что гуминовые кислоты в живых организмах способны вести себя как полиэлектролиты и могут связываться с положительно заряженными ионами внутри организмов, в том числе с молекулами магния, кальция, железа, кадмия или фосфора [35].

Строение гуминовых кислот отличается большим разнообразием химического состава:

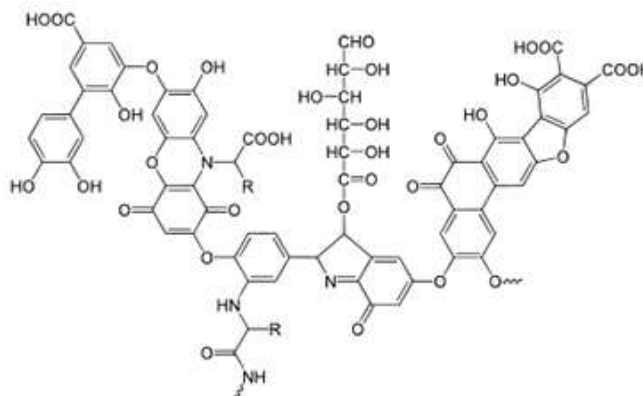


Рисунок 3 – Химическая формула отдельно взятой гуминовой кислоты [30]

Несмотря на то, что гуминовые кислоты получили широкую известность как вещества, способные оказывать противоопухолевые эффекты, исследования группы американских ученых показали, что из семи изученных линий раковых клеток, только одна оказалась восприимчива к действию гуминовых кислот. Кроме того, имеются сведения о том, что гуминовые вещества сами способны индуцировать развитие опухолевых процессов [21].

Данные вещества, способны активно участвовать в окислительно-восстановительных процессах, протекающих в живых организмах.

Ярким доказательством этого является так называемая «болезнь черных стоп», распространенная на юго-западном побережье Тайваня. Данная эндемичная болезнь связана с тем, что почвы в этом регионе богаты гумусом. Постоянный контакт открытых участков кожи с такими почвами является фактором, провоцирующим развитие заболевания среди населения [23].



Рисунок 4— «Болезнь черных стоп», распространенная на юго-западном побережье Тайваня

Было показано, что гуминовые кислоты индуцируют повреждения эритроцитов человека, вплоть до их массового гемолиза. В исследовании изучали дозовые зависимости эффектов, вызываемых гумусом, в концентрациях от 10 до 100 мкг/мл.

Ученым удалось выяснить, что гуминовые кислоты вызывают перекисное окисление липидов в мембранах эритроцитов [18].

Кроме того, гуминовые вещества выступают в качестве источников свободных радикалов. Проявление их биологических эффектов сопровождается резким снижением глутатиона, содержание которого в клетке является одним из важнейших параметров, показывающих уровень окислительного стресса.

Так же влияние гуминовых кислот на эритроциты выразилось в резком снижении активности многих ферментов, в том числе каталазы, супероксиддисмутазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [15].

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что гуминовые кислоты способны индуцировать окислительный стресс и являются источником свободных радикалов в эритроцитах, что ведет к многочисленным структурным и функциональным нарушениям [36].

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали эритроциты капиллярной крови.

В работе использовали следующие реактивы и реагенты:

- 0,1М PBS с 5мМ глюкозой (рН = 7,4);
- ЭДТА (0,2 мг/мл);
- 2,5% глутаровый альдегид;
- МТТ; (полностью)
- DMSO; (диметилсульфоксид)
- 0,9% NaCl,
- 0,0025% раствор красителя метиленового синего (МС), приготовленный на 0,9% NaCl.
- 0,005% раствор красителя ализановый синий, приготовленный 0,9% NaCl

### 1.1 Выделение и культивирование эритроцитов

Выборку доноров крови формировали на основе анкетирования (таблица 1).

Эритроциты выделяли из капиллярной крови. Эритроциты отмывали от компонентов плазмы 0,1М фосфатным буфером с 5мМ глюкозой и ЭДТА (0,2 мг/мл). Концентрацию клеток определяли в камере Горяева и довели до  $10^7$  кл/мл. Эритроциты культивировали на 0,1 фосфатном буфере с 5мМ глюкозой (рН=7,4) при  $T=37^{\circ}\text{C}$ , 1, 2 и 3 ч[3].

Таблица 1 – Общая анкета доноров

Вопрос	Ответ
Пол	
Возраст	
Наличие наследственных патологий (Сахарный диабет, аутоиммунные заболевания, болезни крови и т. д.)	
Перенесенные инфекционные заболевания (гепатит, полиомиелит и т.д.)	
<p>Особенности питания:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* В рационе преобладает пища растительного происхождения</li> <li>* В рационе преобладает животного происхождения</li> <li>* Соотношение животной и растительной пищи составляет 1:1</li> </ul>	
<p>Употребление спиртных напитков:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Никогда не употреблял</li> <li>* Редкое употребление слабоалкогольных напитков</li> <li>* Редкое употребление крепких напитков</li> </ul>	
<p>Курение:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>* Никогда не курил</li> <li>* Курил, но бросил</li> <li>* 1 сигарета в неделю</li> <li>* 1 пачка сигарет в неделю</li> <li>* 5 пачек сигарет в неделю</li> </ul>	

## **1.2 Определение жизнеспособности эритроцитов с помощью МТТ-теста**

После завершения инкубации контрольные и экспериментальные пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант удаляли и к полученному клеточному осадку добавляли 200 мкл раствора МТТ (0,01 мг/мл). Пробы инкубировали 1 ч при 37° С.

После завершения инкубации пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант отбрасывали. В полученные клеточные осадки вносили 100 мкл диметилсульфоксида (DMSO). После полного растворения материала аликвоты (50 мкл) вносили в 96-луночный планшет и определяли оптическую плотность при длине волны 550 нм.

Оптическую плотность контрольных образцов принимали за 100%. Значения экспериментальных проб выражали в % от экстинкции контрольных проб[3].

## **1.3 Определение сорбционной емкости эритроцитов**

После завершения инкубации контрольные и экспериментальные пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант отбрасывали. К клеточным осадкам добавляли 50 мкл 0,9% NaCl и 150 мкл 0,025% раствора метиленового синего. Инкубировали 10 мин при комнатной температуре. Через 10 мин пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Из супернатанта отбирали аликвоты (50 мкл) и вносили в 96-луночный планшет. Оптическую плотность определяли при длине волны 630 нм.

В холостые пробы вносили 50 мкл 0,9% NaCl и 150 мкл 0,025% раствора метиленового синего. Из супернатанта отбирали аликвоты (50 мкл) и вносили в 96-луночный планшет. Оптическую плотность определяли при длине волны 630 нм.



Сорбционную емкость выражали в мкг красителя/ $10^6$  кл[3].

#### **1.4 Определение сорбционной емкости гликокаликса**

После завершения инкубации контрольные и экспериментальные пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант отбрасывали. Клеточные осадки суспендировали в 100 мкл 0,9% NaCl. Аликвоты 60 мкл переносили в чистые пробирки, добавляли 60 мкл 0,005% раствора альцианового синего и инкубировали 10 мин при комнатной температуре. Через 10 мин пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Из супернатанта отбирали аликвоты 50 мкл и вносили в 96-луночный планшет. Оптическую плотность определяли при длине волны 617 нм.

В холостые пробы вносили 60 мкл 0,9% NaCl и 60 мкл 0,005% раствора альцианового синего. Из супернатанта отбирали аликвоты 50 мкл и вносили в 96-луночный планшет. Оптическую плотность определяли при длине волны 617 нм.

Сорбционную емкость выражали в мкг красителя/ $10^6$  кл[3].

#### **1.5 Определение осмотической резистентности эритроцитов**

После завершения инкубации контрольные и экспериментальные пробы центрифугировали 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант отбрасывали. Клеточные суспендировали в 100 мкл 0,9% NaCl. Из каждой пробы в 2 пробирки отбирали аликвоты по 40 мкл. Клетки осаждали центрифугированием, 3000 об/мин, 10 мин. Супернатант удаляли.

В 1-й пробирке клеточный осадок суспендировали в 100 мкл 0,45% NaCl, во 2-й пробирке клеточный осадок суспендировали 100 мкл дистиллированной

воды, инкубировали 10 мин при комнатной температуре. Через 10 мин пробы центрифугировали, 3000 об/мин, 10 мин.

Из супернатанта отбирали аликвоты 50 мкл и вносили в 96-луночный планшет. Оптическую плотность определяли при длине волны 500 нм.

Экстинкцию проб, в которые вносили дист.воду принимали за 100%. Экстинкцию проб, в которые вносили 0,45% NaCl, выражали в % от варианта с дистиллированной водой. Это значение (%) определяли как степень гемолиза [3].

## **1.6 Морфологический анализ**

После завершения инкубации клетки фиксировали 2,5% глутаровым альдегидом. Морфологию клеток анализировали под световым микроскопом. В каждой пробе анализировали 200 клеток. Численность различных морфологических классов выражали в % от общего числа проанализированных клеток [3].

## **1.7 Статистический анализ**

Статистический анализ полученных результатов проводили по методу Критерия  $\chi^2$  Пирсона – это непараметрический метод, который позволяет оценить значимость различий между фактическим (выявленным в результате исследования) количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы.

Значение критерия  $\chi^2$  находили по формуле (1):

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \quad (1)$$

Где:

$i$  – номер строки (от 1 до  $r$ ),

$j$  – номер столбца (от 1 до  $c$ ),

$O_{ij}$  – фактическое количество наблюдений в ячейке  $ij$ ,

$E_{ij}$  – ожидаемое число наблюдений в ячейке  $ij$ .

Определяли число степеней свободы по формуле (2):

$$f = (r - 1) * (c - 1) \quad (2)$$

Где:

$f$  – число степеней свободы,

$r$  – количество рядов в таблице,

$c$  – количество столбцов в таблице.

Сравнивали значение критерия  $\chi^2$  с критическим значением при числе степеней свободы  $f$  (по таблице  $\chi^2$ ).

### **3 Результаты и обсуждение**

Из текста бакалаврской работы изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Андерсон, Ш. Атлас гематологии : справочное руководство / Ш. Андерсон. – Москва:Логосфера, 2007. – 608 с.
2. Барабой, В. А. Биоантиоксидантная защита. Биоантиоксиданты, синтезируемые в организме: справочник / В.А. Барабой. – Москва : Наука, 2006. – 459 с.
3. Голубев, Ю. Ю.Лабораторные методы диагностики в пропедевтической клинике : Учебно-методическое пособие / Ю. Ю. Голубев. – Москва М., ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава РФ, 2013. – 176 с.
4. Запрометов, М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования / М. Н. Запрометов // Биохимические методы в физиологии растений. – 1991.– № 3. – С. 185–207.
5. Кузнецов, С. Л. Гистология, цитология и эмбриология: учебник для медицинских вузов / С. Л. Кузнецов, Н. Н. Мушкамбаров. – Москва : «Медицинское информационное агенство», 2007. — 600с.
6. Мороз, В.В. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях / В.В. Мороз, А.М. Голубев, А.В. Афанасьев, А.Н. Кузовлев, В.А. Сергунова, О.Е. Гудкова, А.М. Черныш // Общая реаниматология. – 2012.– №8. – С. 56–60.
7. Онищенко, Г. Г. Концептуальные основы биологической безопасности. Часть I / Г. Г. Онищенко, В. Ю. Смоленский, Е. Б. Ежлова// Вестник РАМН. – 2013. – № 10. – С. 4–13.
8. Пономарев, А.И. О методах нормирования антропогенных нагрузок на окружающую среду / А. И. Пономарев // Стратегия гражданской защиты: проблемы и исследования. – 2014. – №4. – С. 577–592.
9. Посохин, В. В. К вопросу о влиянии неблагоприятных экологических и вредных производственных факторов на нервную систему / В. В. Посохин // Экология человека. – 2005. – № 5. – С. 32–37.

10. Сергеев, О. В. Вещества, нарушающие работу эндокринной системы: состояние проблемы и возможные направления работы : научное издание / О. В. Сергеев. – Самара : ООО «Издательство Ас Гард», 2014. – 35 с.
11. Степанова, М. С. Коррекция окислительного стресса мозга с помощью природных и синтетических антиоксидантов: автореф. дис. ... канд. биологических наук : 03.00.04 / Степанова Мария Сергеевна. – Москва, 2009. – 26 с.
12. Шмидт, Р. Физиология человека : учебник / Р. Шмидт. – Москва : Мир, 1986. – 673 с.
13. Abbt-Braun, G. Molecular Weight Characteristics of Humic Substances from Different Environments As Determined by Size Exclusion Chromatography and Their Statistical Evaluation / G. Abbt-Braun, S. Hesse, V. Petrosyan // Environ Sci Technol. – 2015. – № 37. – P. 2477–2485.
14. Agrawa, D. Influence of hexachlorocyclohexane on phosphoinositides in rat erythrocyte membranes and brain / D. Agrawa, A. Subramoniam, F.Afaq // Toxicology. – 2015. – № 96. – P. 135-140.
15. Ahmad, A. Deciphering the toxic effects of organochlorine pesticide, dicofol on human RBCs and lymphocytes / A. Ahmad, M. Ahmad // Pesticide Biochemistry and Physiology. – № 143. – P. 194–200.
16. Arnaudov, A. Effects of zinc on morphology of erythrocytes and spleen in *Carassius gibelio* / A. Arnaudov, I. Velcheva // Journal of Environmental Biology. – 2016. – № 29. – P. 897–902.
17. Braginskaya, F. Effect of some pesticides containing chlorine on hemolytic resistance and acetylcholinesterase activity of erythrocytes / F. Braginskaya, G. Sultanova, O. Zorina // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – № 96. – P. 920–923.
18. Braham, R. Micronuclei and other erythrocyte nuclear abnormalities in fishes from the Great Lakes Basin, USA / R. Braham, V. Blazer, C. Shaw // Environ Mol Mutagen. – 2017. – № 58. – P. 570–581.


19. Carvalho, F. P. Pesticide, environment, and food safety / F. P. Carvalho // *EnvironMolMutagen.* – 2017. – № 6. – P. 48–60.
20. Cook, J. Pesticide characteristics that affect water quality / J. Cook, P. Baumann // *Texas A&M University.* – 2014. – № 2. – P.121–143.
21. De Faria, D. Analysis of various effects of abamectin on erythrocyte morphology in Japanese quails (*Coturnix japonica*) / D. de Faria, M. Montalvao // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2018. – № 25. – P. 2450–2456.
22. Domenecha, E. Pesticide action: Different response of erythrocyte membrane acetylcholinesterase to inhibition by organophosphorus compounds under varied dietary conditions / E. Domenecha, C. Domenecha, H. Balegno // *Pesticide Biochemistry and Physiology.* – 2014. – № 14. – P. 1–4.
23. Gonzalez, L. The Influence of Membrane Lipid Order on Cell Shape and Microvesiculation in Human / L. Gonzalez // *Cell and Developmental Biology Commons.* – 2016. – № 14. – P. 1–67.
24. Hussain, A. Clinico-hematological and mutagenic changes induced by arsenic and copper sulphate in adult poultry males / A. Hussain, A. Khan, R. Abbas // *J Animal & Plant Sci.* – 2015. – №25. – P. 1555–1561.
25. Ingermann, R.L. Influence of estrogenic pesticides on membrane integrity and membrane transfer of monosaccharide into the human red cell / R.L. Ingermann // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* – 2015. – № 43. – P. 13–20.
26. Introduction to endocrine disrupting chemicals (EDCs) : a guide for public interest organizations and policy-makers : scientific publication / University of Texas ; red. A. C. Gore, D. Crews, L. L. Doan, M. Merrill, H. Patisaul, A. Zota. – Austin :University publishing house, 2014. – 80 c.
27. Jamal, F. The influence of organophosphate and carbamate on sperm chromatin and reproductive hormones among pesticide sprayers / F. Jamal, Q. Haque, S. Singh // *Toxicology and Industrial Health.* – 2015. – № 32. – P. 1527–1536.

28. Khan, S. A. Assessment of certain hematological responses of factory workers exposed to pesticides / S. A. Khan, S. Ali // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2014. – № 5. – P. 740–747.
29. Klocking, R. Medical Aspects and Applications of Humic Substances” Regarding the Antiviral Activity of Humic Substance / R. Klocking, B. Helbig // *Institute for Antiviral Chemotherapy, Friedrich Schiller University, Jena, Germany*. – 2014. – №1. – P. 115–117.
30. Kumar, A. Morphological Abnormalities of Red Blood Cells / A. Kumar // *The art of medicine*. – 2015. – № 9. – P. 23–25.
31. Kwiatkowska, M. The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes (in vitro) / M. Kwiatkowska B. Hurasb B. Bukowska // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 2014. – № 109. – P. 34–43.
32. MacGregor, J. The in vivo erythrocyte micronucleus test: measurement at steady state increases assay efficiency and permits integration with toxicity studies / J. MacGregor, C. Wehr, P. Henika // *FundamApplToxicol*. – 2014. – № 14. – P. 513–522.
33. Maioli, M. The role of mitochondria and biotransformation in abamectin-induced cytotoxicity in isolated rat erythrocytes / M. Maioli, H. Medeiros, M. Guelfi // *Toxicol in Vitro*. – 2015. – № 27. – P. 570–579.
34. Mishra, A. Toxic impact of pesticides on the morphological characteristics of blood cells of fish *channapunctatus* (bloch) / A. Mishra // *Indian J.Sci.Res*. – 2017. – № 12. – P. 68–72.
35. Pesticides and wildlife : An Introduction to Testing, Registration, and Risk Management : scientific publication / Purdue University Cooperative Extension Service ; red. F. Whitford, B. Miller, R. Bennett, M. Jones, L. Bledsoe, D. Doyle. – Purdue : PUS, 2016. – 30 c.
36. Roberts, J.R. Pesticide exposure in children / J. R. Roberts, C. J. Karr // *Pediatrics*. – 2012. – №6. – P. 185–188.



37. Singh, M. Erythrocyte antioxidant enzymes in toxicological evaluation of commonly used organophosphate pesticides / M. Singh, R. Sandhir, R. Kiran // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 2016. – №44. – P. 580–583.
38. Trofimova, E. S. Influence of Humic Acids Extracted from Peat by Different Methods on Functional Activity of Macrophages in Vitro / E. S. Trofimova, M. V. Zykova, A. A. Ligacheva // *Bull Exp Biol Med*. – 2017. № 162. – P. 741–745.
39. Wang, S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage / S. Wang, H. Lin // *J. of Agricultural and Food Chemistry*. – 2000. – № 2. – P. 140–146.
40. Wood, J. C. Molecular Weights of Humic Acids in Sulfolane / J. C. Wood, S.E. Moschopedis, R.M. Eloffson // *Research Council of Alberta Edmonton*. – 2015. – № 3. – P. 15–24.
41. Yan, S. Low-dose bisphenol A and estrogen increase ventricular arrhythmias following ischemia-reperfusion in female rat hearts. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* / S. Yan, W. Song, Y. Chen // *Biology and medicine*. – 2013. – № 56. – P. 75–80.

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
 Е. И. Шишацкая

« 19 » июня 2018 г.

## БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Влияние пестицидов и гуминовых кислот на морфофункциональные фенотипы  
эритроцитов *in vitro*

Научный руководитель



доцент, к.б.н., Н.Г. Мензянова

Выпускник



Н. С. Арестова

Красноярск 2018