

ВПЛИВ ГЕНЕРИЧНОГО ЦИПЕРМЕТРИНУ НА ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ W1STAR HANNOVER У ПЕРІОДИ ПРЕ- ТА ПОСТНАТАЛЬНОГО РОЗВИТКУ

І.О. Рашківська, М.Г. Проданчук, Н.О. Корнута, М.Л. Зінов'єва

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», м. Київ, Україна

РЕЗЮМЕ. *Мета.* Дослідити вплив циперметрину на нервову систему щурят у періоди пре- і постнатального розвитку.

Матеріали та методи. Досліджено поведінкові реакції щурят породи Wistar Hannover за впливу циперметрину різного діапозону доз (0; 17,5; 35; 70 мг/кг) у періоди пре- і постнатального розвитку. На 13 і 21 дні після народження візуально оцінювали час до здійснення першого кроку (латентний період першого руху), кількість пересічених квадратів, стійок, кількість та сумарну тривалість грумінгів за період спостереження у «відкритому полі».

Висновки. Отримані дані показали відмінності у поведінкових реакціях самиць і самців щурят. Самці щурят виявилися більш чутливими до дії циперметрину. Експозиція циперметрину в дозі 70 мг/кг у пре- і постнатальному періодах впливає на нейроповедінкові реакції самців щурят у тесті «відкритого поля», що проявляється в збільшенні латентного періоду першого руху та зменшенні горизонтальної активності в усі терміни дослідження. Вплив циперметрину за більш низьких доз у пре- і постнатальному періодах не викликає змін у поведінці самиць та самців щурят.

Ключові слова: синтетичні піретроїди, циперметрин, пренатальний розвиток, постнатальний розвиток, нейроповедінкові реакції.

Широке застосування інсектицидів — невід'ємна складова сільськогосподарського виробництва. Інсектицидні препарати представлені різними класами хімічних сполук (хлорорганічні та фосфорганічні сполуки, карбамати, неонікотіноїди, синтетичні піретроїди). Серед них особливе місце посідають синтетичні піретроїди (СП) [1,2]. Інсектициди піретроїдного ряду є четвертою генерацією пестицидів з більш вираженою інсектицидною ефективністю. Цим обумовлене їхнє широке використання в боротьбі зі шкідливими комахами не тільки в сільському господарстві, а й у побуті. За впливу СП на цільові об'єкти основним їхнім органом-мішенню є нервова система (НС) [3]. Нейротоксичний ефект спостерігається не тільки у комах, а й в експериментах на лабораторних тваринах, а також при гострих отруєннях у людини [3,4]. Нейротоксичний ефект в експериментах на щурах різного віку проявляється змінами поведінкових реакцій як наслідок можливого порушення функціонування НС тварин [5, 6]. У науковій літературі наведено результати щодо вивчення поведінкових реакцій в експериментах на дорослих щурах обох статей після впливу СП [7]. Авторами було встановлено, що СП мають різну статеву чутливість в

експериментах: більш чутливими виявилися самці. Вплив СП незалежно від структури призводить до зниження рухової активності у самців. Порогові значення для рухової активності виявилися нижче доз, які викликають токсичні ефекти [5, 6].

Циперметрин є найбільш поширеною діючою речовиною серед інсектицидних препаратів для сільськогосподарських та побутових цілей [3]. Він досить добре вивчений у токсикологічному плані, зокрема його нейротоксичність на дорослих тваринах [8,9]. Останнім часом у науковій літературі з'явилися дані щодо проявів нейротоксичності у молодих тварин [10,11,12], які піддавалися впливові циперметрину в період лактації. Дослідження показали, що така дія циперметрину в неонатальному періоді призводить до збільшення терміну, який самці щурів проводять у центрі «відкритого поля» [13].

Окрім робіт з вивчення нейротоксичності циперметрину на молодих лабораторних тваринах, з'явилися епідеміологічні дані про нейротоксичні ефекти у дітей, народжених від матерів, які під час вагітності та лактаційного періоду піддавалися впливові інсектициду в побутових умовах або в сільськогосподарській практиці [14, 15, 16].

Оскільки встановлено дію циперметрини на тварин різного віку, логічно виникає питання щодо його впливу на розвиток потомства.

Метою даної роботи було оцінити вплив циперметрини в пренатальному і постнатальному періоді розвитку на поведінкові реакції щурят методом «відкритого поля», запропонованим Холлом [17].

Тест «відкритого поля» є найпоширенішим у токсикології при вивченні особливостей вищої нервової діяльності щурів, а саме поведінкових реакцій. Принцип методу полягає в дослідженні активності тварин у незвичному середовищі. Тест дозволяє оцінити: вираженість і динаміку окремих поведінкових елементів, рухову і дослідницьку активність, а також емоційний стан тварин [6, 18].

Матеріали та методи. Самці лінії Wistar Hanover (18 самиць вагою 200–220 г) отримані з SPF розплідника ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України» та розділені відповідно до доз циперметрини: 1 група – контроль (тваринам вводили дистильовану воду з емульгатором ОП-10 в еквівалентних кількостях), 2 група – 17,5 мг/кг маси тіла, 3 група – 35 мг/кг маси тіла, 4 група – 70 мг/кг маси тіла. Тварини утримувалися у стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та корму.

Циперметрин (згідно зі Сертифікатом якості циперметрин 97%, технічний) вводили перорально за допомогою металевого зонда з 6-го дня вагітності по 21-й день лактації вранці в той саме ж час.

Проводилось щоденне клінічне обстеження усіх вагітних самиць з метою виявлення можливих симптомів інтоксикації. Новонароджені щурята з моменту народження і до 21-го дня лактації обстежувалися щодо виявлення неврологічних порушень, а саме: аномальної поведінки, порушення координації руху, м'язового тонусу [19].

Для оцінки функціонального стану центральної нервової системи (ЦНС) було відібрано по 16 щурят (8 самців і 8 самиць) з кожної досліджуваної групи. На 13-й і 21-й день після народження (ДПН) візуально оцінювали поведінкові реакції щурят у

«відкритому полі» [20]. Дослід проводився на рівномірно освітленому квадратному майданчику 44 x 44 см з непрозорого чорного пластику, розділеному на 36 рівних квадратів, зі стінками висотою 30 см. Щурів розміщували в центрі поля, протягом 3 хвилин оцінювали їхню поведінку та реєстрували: час до здійснення першого кроку (латентний період першого руху), кількість пересічених квадратів, стійок, кількість та сумарну тривалість грумінгів за період спостереження. Тестування тварин відбувалось вранці в той же самий час.

Експерименти з тваринами проводили відповідно до вимог OECD 426 (Guideline for Testing of Chemicals. Developmental Neurotoxicity Study) [21] та вимог комісії з біоетики ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України».

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою t-критерію Стьюдента (критичний рівень значущості статистичних даних брали рівним $p < 0,05$). Для відповідних розрахунків використовували стандартний пакет програм статистичного аналізу Microsoft Excel 2010. Дані представлені у вигляді середнього значення (M) та його стандартної помилки (m).

Результати та їх обговорення. Надходження циперметрини з 6-го дня вагітності в усіх вивчених дозах не викликало загибелі вагітних самиць, а також видимих ознак інтоксикації. Також не спостерігалось загибелі новонароджених щурят. Подальше введення циперметрини самицям у період лактації не викликало у них клінічних симптомів інтоксикації, а також видимих ознак неврологічних порушень у їхнього потомства протягом усього експерименту.

Дослідження, проведені на 13 ДПН, показали, що циперметрин викликає різні зміни поведінкових реакцій у самиць і самців щурят. У самиць на 13 ДПН не було змін досліджуваних показників поведінкових реакцій у жодній з досліджуваних доз циперметрини. Тоді як у самців спостерігалися зміни горизонтальної рухової активності, а інші показники (стійки, тривалість і кількість актів грумінгу) залишалися без змін. Зміни рухової активності реєстрували лише за дії циперметрини в дозі 70 мг/кг. У

піддослідних тварин цієї групи спостерігали достовірне збільшення латентного періоду першого руху і зниження кількості пересічених квадратів. Як відомо, латентний період першого руху є показником, що характеризує швидкість адаптації тварин до нового середовища [9, 22]. В експерименті відзначали збільшення латентного періоду першого руху у 63% самців групи максимальної дози, тоді як у контрольній групі цей показник реєстрували тільки у 25% тварин. У цій же групі відзначалося зниження кількості пересічених квадратів на 31% самцями в порівнянні з кількістю

пересічених квадратів шурятами контрольної групи. Зниження загальної активності тварин у нашому дослідженні є наслідком підвищення рівня стресу. Зміни показників поведінкових реакцій у самців не спостерігали в дозах 17,5 і 35 мг/кг. Дані представлені в табл. 1.

Дослідження, проведене на 21-й ДПН, показало аналогічну картину щодо статевої чутливості та дозової залежності. У самиць не відмічалися достовірні зміни досліджуваних параметрів (латентний період першого руху, кількість пересічених квадратів, вертикальних стійок, тривалість

Таблиця 1

Дані з вивчення поведінкових реакцій шурят на 13-й день після народження за дії циперметрину (від 6-го дня вагітності по 21-й день лактації)

Показники	Стат. показники	Доза, мг/кг			
		0	17,5	35	70
Самиці					
Латентний період першого руху, сек	M±m	0,56±0,56	1,13±0,56	1,25±0,67	1,50±0,83
	t/P	—	0,7/0,6	0,8/0,3	0,9/0,6
Пересічені квадрати, од.	M±m	31,44±2,13	29,88±3,29	25,00±3,85	23,00±3,49
	t/P	—	0,4/0,7	1,5/0,4	1,9/0,07
Стійки, од.	M±m	4,11±0,82	3,75±1,05	3,50±1,21	2,50±0,54
	t/P	—	0,3/0,7	0,4/0,7	1,6/0,3
Грумінг, од.	M±m	1,67±0,24	2,00±0,46	2,38±0,50	2,14±0,56
	t/P	—	0,6/0,6	1,3/0,3	0,8/0,3
Тривалість грумінгу, сек	M±m	10,78±3,49	11,88±3,52	23,63±6,78	10,38±2,58
	t/P	—	0,2/0,8	1,7/0,4	0,1/1,0
Самці					
Латентний період першого руху, сек	M±m	0,67±0,47	1,00±0,59	1,13±0,58	2,25±0,56*
	t/P	—	0,4/0,7	0,6/0,6	2,1/0,04
Пересічені квадрати, од.	M±m	29,33±2,71	25,00±2,98	25,38±2,30	20,25±2,70*
	t/P	—	1,1/0,8	1,1/0,8	2,4/0,03
Стійки, од.	M±m	3,67±0,93	3,33±0,66	2,75±1,06	2,25±0,96
	t/P	—	0,3/0,7	0,7/0,7	1,1/0,8
Грумінг, од.	M±m	1,89±0,59	3,33±0,58	2,25±0,31	2,63±0,56
	t/P	—	1,8/0,1	0,5/0,6	0,9/0,6
Тривалість грумінгу, сек	M±m	10,89±3,67	20,00±3,19	18,50±2,28	14,13±5,16
	t/P	—	1,9/0,07	1,8/0,1	0,5/0,6

та кількість актів грумінгу) в жодній з досліджуваних доз циперметрину. Тоді як у самців спостерігали достовірні зміни за параметрами – час до початку руху і кількість пересічених квадратів у групі 70 мг/кг. Збільшення латентного періоду першого руху реєстрували у переважній кількості піддослідних щурів порівняно з 13 ДПН і контрольною групою (21 ДПН – 75% щурят, 13 ДПН – 63%, контроль – 25%). Показник кількості пересічених квадратів залишався на тому ж рівні, що і на 13 ДПН. Інші показники (вертикальні стійки, тривалість та кількість актів гру-

мінгу) залишалися без змін. Циперметрин у дозах 17,5 і 35 мг / кг не викликає достовірних змін досліджуваних показників поведінкових реакцій у самців. Дані представлені в табл. 2.

Порушення рухової складової поведінки відмічається переважно у самців щурят порівняно зі самицями, що узгоджується з літературними даними. Представлені результати в табл. 2 вказують на збільшення кількості самців з пролонгованим латентним періодом першого руху і зниженням кількості пересічених квадратів на 21-й ДПН у порівнянні з 13-м ДПН. Це

Таблиця 2

Дані з вивчення поведінкових реакцій щурят на 21-й день після народження за дії циперметрину (від 6-го дня вагітності по 21-й день лактації)

Показники	Стат. показники	Доза, мг/кг			
		0	17,5	35	70
Самиці					
Латентний період першого руху, сек	M±m	0,33±0,33	0,63±0,44	1,13±0,58	1,38±0,46
	t/P	—	0,5/0,6	1,2/0,3	1,7/0,4
Пересічені квадрати, од.	M±m	37,44±3,06	34,25±3,35	29,25±3,30	28,88±3,14
	t/P	—	0,7/0,7	1,8/0,08	1,9/0,07
Стійки, од.	M±m	5,78±1,51	4,50±0,86	4,38±1,59	3,25±0,61
	t/P	—	0,8/0,3	0,6/0,6	1,6/0,3
Грумінг, од.	M±m	1,78±0,28	2,50±0,73	2,13±0,74	2,25±0,35
	t/P	—	0,9/0,6	0,4/0,7	1,1/0,8
Тривалість грумінгу, сек	M±m	15,33±2,69	16,38±4,30	17,75±7,64	25,50±7,69
	t/P	—	0,4/0,7	0,3/0,7	1,3/0,3
Самці					
Латентний період першого руху, сек	M±m	0,44±0,29	0,57±0,35	1,75±0,73	2,50±0,86*
	t/P	—	0,2/0,8	1,6/0,3	2,2/0,04
Пересічені квадрати, од.	M±m	36,11±2,82	31,86±2,78	26,75±3,78	24,50±4,64*
	t/P	—	1,1/0,8	2,0/0,05	2,1/0,04
Стійки, од.	M±m	5,44±1,00	4,86±0,88	3,50±0,96	3,00±0,79
	t/P	—	0,4/0,7	1,4/0,2	1,9/0,07
Грумінг, од.	M±m	1,78±0,22	2,43±0,79	2,00±0,68	2,13±0,54
	t/P	—	0,8/0,3	0,3/0,3	0,6/0,6
Тривалість грумінгу, сек	M±m	19,22±4,77	13,57±3,52	12,75±3,91	13,00±4,75
	t/P	—	0,9/0,6	1,1/0,8	0,9/0,6

може свідчити про подальше посилення пригнічення функціональної активності ЦНС у дозі 70 мг/кг на 21 ДПН, як однієї з ознак синдрому пренатального стресу на розвиток ЦНС плоду, що надалі може проявитися зміною поведінкових реакцій в постнатальному періоді. Посилення пригнічення функціональної активності ЦНС у максимальній дозі пов'язане з тим, що тварини піддавалися дії циперметрину як в період пренатального розвитку, так і в період лактації.

Висновки

На підставі аналізу одержаних результатів з вивчення поведінкових реакцій щурят за дії різного діапазону доз циперметрину можна зробити наступні висновки:

1. Встановлено статеву чутливість впливу циперметрину щодо дослідження поведінкових реакцій. Самці щурят виявилися

більш чутливими до впливу циперметрину.

2. Введення циперметрину з 6-го дня вагітності по 21-й день лактації в дозах 17,5 і 35 мг/кг не викликає порушень поведінкових реакцій самців та самиць щурят.

3. Проведені дослідження можуть свідчити про посилення пригнічення функціональної активності ЦНС за дії максимальної дози циперметрину як в період пренатального розвитку, так і в період лактації.

4. Введення циперметрину в дозі 70 мг/кг в пре- і постнатальному періодах впливає на нейроповедінкові реакції самців щурят у тесті «відкритого поля», за показниками горизонтальної активності (збільшення латентного періоду першого руху і зменшенням кількості пересічених квадратів), що свідчить про зниження адаптації тварини до нового середовища. Циперметрин не впливає на дослідницьку та емоційну активність тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Saillenfait A.* Pyrethroids: exposure and health effects—an update / A. Saillenfait, D. Ndiaye, J. Sabaté // *International journal of hygiene and environmental health.* – 2015. – V. 218. – №. 3. – P. 281–292.
2. *Thatheyus A. J.* Synthetic pyrethroids: toxicity and biodegradation / A. J. Thatheyus, A. D. G. Selvam // *Applied Ecology and Environmental Sciences.* – 2013. – V. 1. – №. 3. – P. 33–36.
3. *Ray D. E.* A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides / D. E. Ray, J. R. Fry // *Pharmacology & therapeutics.* – 2006. – V. 111. – №. 1. – P. 174–193.
4. *Харченко О.А.* Синтетичні піретроїди: механізм дії, гострі отруєння та віддалені наслідки / О. А. Харченко, Г. М. Балан, Н. М. Бубало // *Проблеми харчування.* – 2013. – № 1. – С. 29–39.
5. *Shafer T. J.* Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: critical review and future research needs / T. J. Shafer, D. A. Meyer, K. M. Crofton // *Environmental health perspectives.* – 2005. – V. 113. – №. 2. – P. 123.
6. *Umryukhin P.* Behavior of Rats in an Open Field Test as a Prognostic Indicator of Corticosterone Levels Before and After Stress / P. Umryukhin, O. Grigorchuk // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2017. – V. 47. – P. 1–3.
7. *Wolansky M. J.* Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: a critical review / M. J. Wolansky, J. A. Harrill // *Neurotoxicology and teratology.* – 2008. – V. 30. – №. 2. – P. 55–78.
8. *Kanbur M.* The toxic effect of cypermethrin, amitraz and combinations of cypermethrin-amitraz in rats / M. Kanbur, Y. Siliğ, G. Eraslan [et al.] // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2016. – V. 23. – №. 6. – P. 5232–5242.
9. *Gould T. D.* The open field test / T. D. Gould, D. T. Dao, C. E. Kovacsics // *Mood and anxiety related phenotypes in mice: Characterization using behavioral tests.* – 2009. – P. 1–20.
10. *Lee I.* Developmental neurotoxic effects of two pesticides: Behavior and neuroprotein studies on endosulfan and cypermethrin / I. Lee, P. Eriksson, A. Fredriksson [et al.] // *Toxicology.* – 2015. – V. 335. – P. 1–10.
11. *Fluegge K. R.* Effects of simultaneous prenatal exposures to organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides on infant neurodevelopment at three months of age / K. R. Fluegge, M. Nishioka, J. R. Wilkins // *Journal of environmental toxicology and public health.* – 2016. – V. 1. – P. 60.
12. *Godinho A.* Perinatal exposure to type I and type II pyrethroids provoke persistent behavioral effects during rat offspring development / A. Godinho, F. Anselmo, D. Horta // *Medical Research Archives.* – 2017. – V. 5. – P. 1–12.
13. *Nasuti C.* Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids / C. Nasuti, R. Gabbianelli, M. L. Falci [et al.] // *Toxicology.* – 2007. – V. 229. – №. 3. – P. 194–205.
14. *Javed M.* Review on exposure, absorption and elimination of pyrethroids in humans / M. Javed, M. Majeed, A. Arshad [et al.] // *Journal of Entomology and Zoology Studies.* – 2015. – V. 3. P. 180–184.
15. *Raymer J. H.* Pesticide exposures to migrant farmworkers in Eastern NC: detection of metabolites in farmworker urine associated with housing violations and camp characteristics / J.H. Raymer, W.B. Studabaker, M. Gardner [et al.] // *American journal of industrial medicine.* – 2014. – V. 57. – №. 3. – P. 323–337.
16. *Ding G.* Prenatal exposure to pyrethroid insecticides and birth outcomes in Rural Northern China / G. Ding, C. Cui, L. Chen [et al.] // *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology.* – 2015. – V. 25. – №. 3. – P. 264.

17. Hall C. S. Emotional behavior in the rat. The relationship between emotionality and ambulatory activity / C. S. Hall // J. Comp. Physiol. Psychol. – 1936. – №. 122. – P. 345–352.
18. Stanford S. C. The open field test: reinventing the wheel / S. C. Stanford // Journal of psychopharmacology. – 2007. – V. 21. – №. 2. – P. 134–136.
19. Moser V. C. The functional observational battery in adult and developing rats / V. C. Moser // Neurotoxicology. – 2000. – V. 21. – №. 6. – P. 989–996.
20. Millan M. The neurobiology and control of anxious states / M. Millan // Prog Neurobiol. – 2003. – № 70. – P. 83–244
21. OECD Guideline for Testing of Chemicals; Guideline 426: Developmental Neurotoxicity Study. – 2007.
22. Пермяков А.А. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле» / А.А. Пермяков, Е.В. Елисеева, А.Д. Юдицкий [и др.] // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2013. – №. 3. – С. 83–90.

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕРИЧЕСКОГО ЦИПЕРМЕТРИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС WISTAR HANNOVER В ПЕРИОДЫ ПРЕ- И ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

И.А. Рашковская, Н.Г. Проданчук, Н.А. Корнута, М.Л. Зиновьева
ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя МЗ Украины», г. Киев, Украина

РЕЗЮМЕ. *Цель.* Исследовать влияние циперметрина на нервную систему крысят в периоды пре- и постнатального развития.

Материалы и методы. Исследовано поведенческие реакции крысят породы Wistar Hannover при воздействии циперметрина различного диапазона доз (0; 17,5; 35; 70 мг / кг) в периоды пре- и постнатального развития. На 13 и 21 дни после рождения визуально оценивали время начала движения (латентный период первого движения), количество пересеченных квадратов, стоек, количество и суммарную продолжительность груминга за период наблюдения в тесте «открытого поля».

Результаты. Полученные данные показали различия в поведенческих реакциях самок и самцов крысят. Самцы крысят оказались более чувствительными к действию циперметрина. Экспозиция циперметрина в дозе 70 мг / кг в пре- и постнатальном периоде влияет на нейроповеденческие реакции самцов крысят в тесте «открытого поля», что проявляется в увеличении латентного периода первого движения и уменьшении горизонтальной активности во все сроки исследования. Влияние циперметрина при более низких дозах в пре- и постнатальном периоде не вызывает изменений в поведении самок и самцов крысят.

Ключевые слова: синтетические пиретроиды, циперметрин, пренатальное развитие, постнатальное развитие, нейроповеденческие реакции.

GENERIC CYPERMETHRIN EFFECT ON BEHAVIOR RESPONSES OF WISTAR HANNOVER RATS IN PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT

I. Rashkivska, M. Prodanchuk, N. Kornuta, M. Zinovieva

L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ABSTRACT. The offspring's Wistar Hannover rats behavior during in pre- and postnatal period threatened by different doses (0; 17,5; 35; 70 mg/kg bw) of cypermethrin were investigated. Obtained data presents the differences in behavior reactions of males and females pups. The male pups were more sensitive to the test-substance. Treatment by cypermethrin at the dose of 70 mg / kg bw in the pre- and postnatal period influenced on the behavioral responses of male rats in the "open field", which is manifested by an increase of latency to the first step and decrease of horizontal activity during all periods of the study. Treatment by cypermethrin in low doses in the pre- and postnatal period didn't induce any changes in the behavior of male and female pups.

Key words: synthetic pyrethroids, cypermethrin, prenatal period, postnatal period, neurobehavior reactions.

Надійшла до редакції 24.11.17