

# HYGIENIC EVALUATION OF THE ORAL INFLUENCE OF IMIDACLOPRID IN IMMATURE ANIMALS WITH DIFFERENT ACETYLATION ACTIVITY

Korotun O.P., Vlasyk L.I.

## ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ПЕРОРАЛЬНОГО ВПЛИВУ ІМІДАКЛОПРИДУ НА СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ТВАРИН З РІЗНОЮ ШВИДКІСТЮ АЦЕТИЛЮВАННЯ

# В

ідомо, що забруднення навколишнього середовища є одним з вагомих і небезпечних чинників, які впливають на здоров'я і розвиток дітей [1]. Враховуючи, що дитячий вік є маркером схильності до шкідливого впливу багатьох ксенобіотиків, а також отриманий нами невідомий раніше ефект підвищення рівня метгемоглобіну під впливом імідаклоприду та з'ясовану нами у попередніх дослідженнях неоднакову схильність статевозрілих тварин з різною швидкістю ацетилювання до підгострого шкідливого впливу імідаклоприду, а також виявлені для цієї вікової групи показники, які можна використовувати як біомаркери ефекту шкідливої дії інсектици-

ду [2], метою даної роботи була гігієнічна оцінка шкідливого впливу імідаклоприду на зростаючі організми з різними типами ацетилювання.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили на 60 білих нелінійних щурах-самцях віком 1,5 міс., масою (90 ± 6) г. Тварин утримували у стабільних умовах. Тварини отримували стандартний гранульований корм для лабораторних щурів (виробництва АТЗТ "Фенікс", Україна) та водогінну воду без обмежень. Вміст пестицидів у кормах та воді не перевищував їхніх ГДК. Усі втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 18.03.1986 р.) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р., Закону України № 692 від 21.01.2006 р. Кількість тварин у статистичній групі становила 6-12.

Тип ацетилювання тварин визначали за допомогою амідопіринового тесту. На основі відсотка виведених з сечею метаболітів амідопірини 4-аміноантіпірину та N-ацетил-4-аміноантіпірину щурів було поділено на тварин з "швидким" та "повільним" типом ацетилювання. Серед "швидких" та "повільних" ацетиляторів було виділено підгрупи контрольних та дослідних тварин.

Підгостру інтоксикацію імідаклопридом проводили шляхом 14-тиденного введення пестициду за допомогою зонда у шлунок тварин у вигляді крохмального розчину у дозі 50 мг/кг. Контрольні тварини отримували водогінну воду у відповідних кількостях.

Перед початком введення (на 7-й і 14-й день експери-

**КОРОТУН О.П., ВЛАСИК Л.І.**  
Буковинський державний  
медичний університет

УДК 613.6.026

**Ключові слова:**  
імідаклоприд, вікова  
схильність, швидкість  
ацетилювання.

**ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПЕРОРАЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ИМИДАКЛОПРИДА НА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ ЖИВОТНЫХ С РАЗНОЙ СКОРОСТЬЮ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ**

**Коротун О.П., Власик Л.И.**

*Буковинский государственный медицинский университет*

**Целью работы** была гигиеническая оценка вредного воздействия имидаклоприда на растущий организм в зависимости от скорости ацетилирования.

**Материалы и методы.** Эксперимент проводился на 60 белых неполовозрелых самцах крыс. Скорость ацетилирования определяли нагрузочным тестом с амидопирином. Имидаклоприд вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг на протяжении 14 дней.

**Результаты и выводы.** Интоксикация имидаклопридом на уровне пороговых доз вызывает у неполовозрелых животных задержку прироста массы тела и повышения уровня метгемоглобина крови. Уровень метгемоглобина в крови является важным дополнительным биомаркером эффекта имидаклоприда на неполовозрелых животных. У молодых животных с "быстрым" типом ацетилирования отмечали также угнетение поведенческих реакций, активности АлАТ, увеличение уровня малонового альдегида и активности каталазы крови, а у "медленных" ацетиляторов — увеличение уровня средних молекул в плазме крови. Неполовозрелые животные с "быстрым" типом ацетилирования более восприимчивы к пероральному воздействию имидаклоприда на уровне пороговых доз.

**Ключевые слова:** имидаклоприд, возрастная восприимчивость, скорость ацетилирования.

© Коротун О.П., Власик Л.И. СТАТТЯ, 2014.

менту) вивчали функціональний стан ЦНС за показниками поведінкових реакцій: горизонтальної рухової активності (ГРА), вертикальної рухової активності (ВРА), норкового рефлексу (НР), емоційної реактивності (ЕР) та інтегральної поведінкової активності (ІПА), а також оцінювали динаміку зміни маси тіла тварин.

Після завершення експерименту оцінювали зміни біохімічних показників крові. Так, у плазмі крові визначали активність трансаміназ — аланінамінотрансферази (АлАТ), аспаратамінотрансферази (АсАТ) — уніфікованим динітрофенілгідразиним методом Райтмана-Френкеля. У цільній крові визначали концентрацію метгемоглобіну за методом Горна Л.Є. Вивчення рівня ендогенної інтоксикації проводили за вмістом СМР у сироватці крові.

Стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги оцінювали на основі визначення активності каталази, глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіон-S-трансферази (Г-S-T), вмісту малнового альдегіду (МА).

Статистичну обробку результатів проведено у пакеті програм "Microsoft Excel" з використанням параметричних методів оцінки одержаних даних. Статистично вірогідними вважали зміни при  $P < 0,05$ . Числові значення у таблицях наведено у вигляді середніх величин та їхніх стандартних похибок.

**Результати та їх обговорення.** Двотижневий вплив порогової дози імідаклоприду викликав у статевонезрілих тварин зміни такого важливого інтегрального показника стану здоров'я, як маса тіла та її приріст. У молодих щурів зі "швидким" типом ацетилювання протягом першого тижня введення цей показник не відрізнявся від контрольних значень. Однак на 14-й день експерименту маса тіла дослідних тварин була вірогідно меншою, ніж контрольних на 5%. Приріст маси за другий тиждень також був вірогідно меншим у групі тварин, які отримували імідаклоприд (рис. 1).

У "повільних" ацетиляторів цієї вікової групи тенденція до відставання приросту маси спостерігалася вже після першого тижня введення, а на завершення експерименту маса

дослідних тварин була меншою на 9%, також вірогідно меншим був приріст маси за другий тиждень (рис. 2).

Одночасність проведення досліджень дозволила провести порівняння показників контрольних та дослідних груп тварин зі "швидким" та "повільним" типами ацетилювання між собою. Показники маси тіла "повільних" ацетиляторів протягом усього експерименту вірогідно не відрізнялися від показників відповідних груп тварин зі "швидким" типом ацетилювання.

З метою оцінки функціонального стану ЦНС тварин за даної інтоксикації вивчали зміни поведінкових реакцій. У тварин з

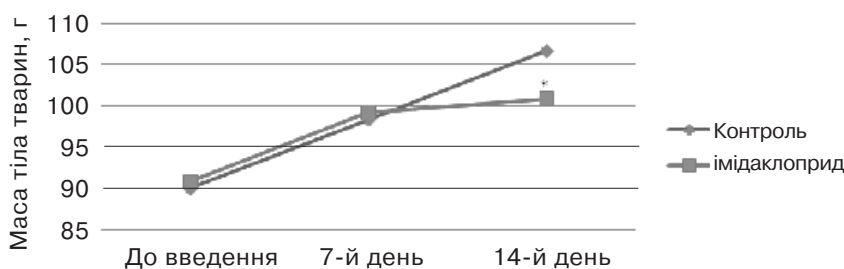
"повільним" типом ацетилювання введення імідаклоприду протягом двох тижнів не призвело до змін поведінкових реакцій (рис. 3).

У "швидких" ацетиляторів пригнічення ІПА спостерігали вже на 7-й день експерименту (на 22%), а також на 14-й (на 41%) (рис. 3). Показники ІПА "швидких" ацетиляторів на 7-й та 14-й день були вірогідно нижчими, ніж у відповідної групи тварин з "повільним" типом ацетилювання.

Пригнічення ІПА відбувалося за рахунок зниження ГРА та ВРА, показники яких на 7-й та 14-й день були вірогідно нижчими від контрольних і показників дослідної групи тварин з

Рисунок 1

### Вплив імідаклоприду на масу тіла молодих тварин зі "швидким" типом ацетилювання



Примітка до рисунків 1, 2, 4 і до таблиці 1:  
\* — вірогідні зміни щодо контролю ( $P < 0,05$ ).

Рисунок 2

### Вплив імідаклоприду на масу тіла молодих тварин з "повільним" типом ацетилювання

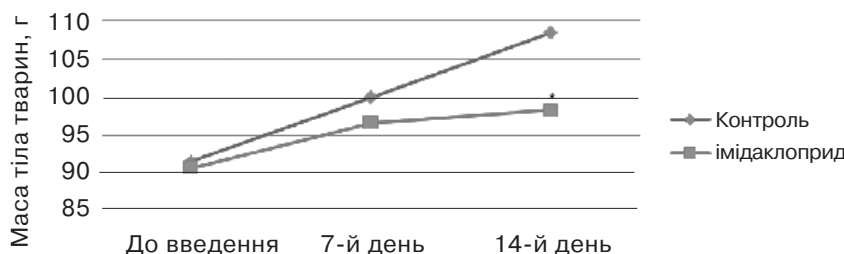
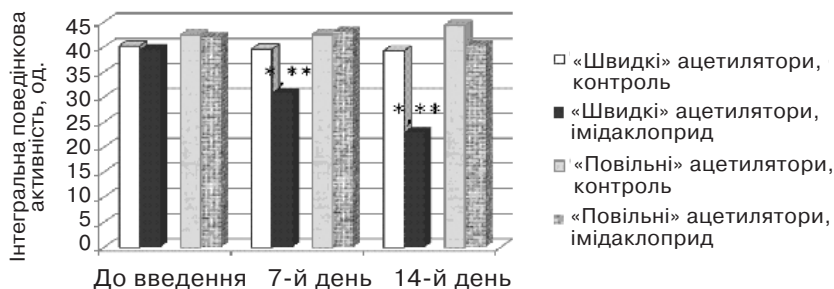


Рисунок 3

### Вплив імідаклоприду на ІПА молодих тварин з різними типами ацетилювання



Примітки до рисунків 3, 5-7:

\* — вірогідні зміни щодо контролю ( $P < 0,05$ );

\*\* — вірогідні зміни щодо відповідної групи тварин з "повільним" типом ацетилювання ( $P < 0,05$ ).

**HYGIENIC EVALUATION OF THE ORAL INFLUENCE OF IMIDACLOPRID IN IMMATURE ANIMALS WITH DIFFERENT ACETYLATION ACTIVITY**

**Korotun O.P., Vlasyk L.I.**

*Bukovyna State Medical University*

**Purpose of the study** is to provide a hygienic evaluation of harmful effects of imidacloprid on the growing organism depending on the rate of acetylation.

**Materials and Methods.** The experiment was modelled in 60 white immature male rats. Speed of acetylation was determined using the loading test with amidopyrine. The rats were administrated with imidacloprid intragastrically in a dose of 50 mg/kg during 14 days.

**Results and conclusions.** Intoxication by

imidacloprid at threshold dose causes delay of weight gain and increase of blood methemoglobin levels in immature animal. Level of methemoglobin in the blood is an important additional effect biomarker of imidacloprid for immature animals. Influence of pesticide causes also inhibition of the behavioural responses, increase of malondialdehyde and catalase and transaminases activity in blood in animals with the "rapid" type of acetylation and increase of the level of middle molecules in the blood plasma in the "slow" acetylators. Immature animals with the "rapid" type of acetylation are more susceptible to oral exposure of imidacloprid at threshold doses.

**Keywords:** imidacloprid, age susceptibility, acetylation speed.

"повільним" типом ацетилювання. Контрольні показники "швидких" та "повільних" ацетиляторів не відрізнялися.

Оскільки вплив імідаклоприду викликав метгемоглобінемію у статевозрілих тварин [2], доцільним було визначення цього показника і у молодих щурів. Рівень метгемоглобіну вірогідно зріс і у цій віковій групі у "швидких" та "повільних" ацетиляторів більш ніж втричі порівняно з контролем. Показники метгемоглобінемії контрольних і дослідних груп "швидких" і "повільних" ацетиляторів вірогідно не відрізнялися (рис. 4).

Відомо, що за фізіологічних умов постійно відбувається процес утворення та відновлення метгемоглобіну, його загальна кількість у крові коливається у межах 0,1-2,5%. Метгемоглобінемія у вказаних межах має захисний характер, знешкоджуючи низку шкідливих речовин шляхом утворення з ними комплексних сполук. Метгемоглобін також сприяє каталітичному розпаду перекису водню, тобто має антиоксидантні властивості [3].

Ймовірно, розвиток метгемоглобінемії за умов інтоксикації імідаклопридом відбувається за рахунок посилення ендогенного утворення метгемоглобіну. За даними літератури, це відбувається у разі зростання

рівня прооксидантних сполук та пригнічення активності таких ферментів, як каталаза, ГР і ГП [3], що, за нашими даними, спостерігалось у дослідних тварин. Прикладом такого механізму є описане у літературі зростання рівня метгемоглобіну з одночасним зростанням рівня МА та зниженням активності ферментів ГР та ГП за токсичної дії продуктів термодеструкції полімерних речовин (хоча гемічна гіпоксія не є провідним процесом у розвиткові патологічних змін у разі отруєння цими сполуками) [4]. Крім того, за хімічною будовою імідаклоприду (4,5-дигідро-N-нітро-1-[(6-хлор-3-піридин)-метил]імідазолідин-2-іленамін) містить термінальну нітрогрупу та імуногрупу, що є характерним для багатьох метгемоглобіноутворювачів. Таким чином, розвиток метгемоглобінемії можна вважати важливим до-

датковим біомаркером ефекту імідаклоприду для дорослого та зростаючого організму.

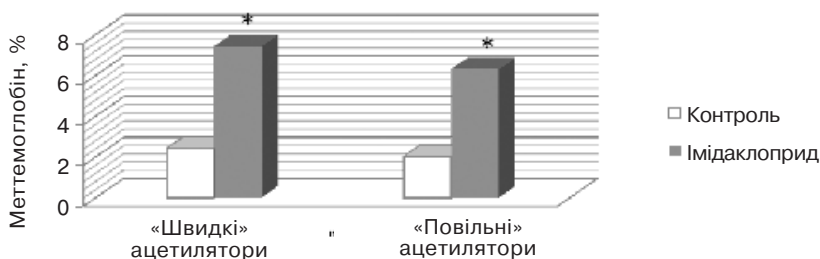
Вплив на активність трансаміназ у крові тварин з "швидким" типом ацетилювання характеризувався зростанням активності АлАТ на 42%, що супроводжувалося зниженням коефіцієнта Де Рітиса до одиниці. Активність АсАТ у цій дослідній групі не відрізнялася від контролю.

Активність трансаміназ у крові "повільних" ацетиляторів не зазнала вірогідних змін. Показники активності трансаміназ та коефіцієнт Де Рітиса "швидких" ацетиляторів вірогідно не відрізнялися від показників відповідних груп тварин з "повільним" типом ацетилювання (табл. 1).

Відомо, що загибель печінкових клітин може бути індукованою не лише безпосереднім впливом токсикантів чи їхніх ме-

Рисунок 4

**Концентрація метгемоглобіну у молодих тварин з різними типами ацетилювання за впливу імідаклоприду**



Таблиця 1

**Вплив імідаклоприду на активність трансаміназ крові у молодих тварин з різними типами ацетилювання**

Показник	"Швидкі" ацетилятори			"Повільні" ацетилятори		
	АсАТ, мкмоль / мл-год	АлАТ, мкмоль / мл-год	Коеф. Де Рітиса	АсАТ, мкмоль / мл-год	АлАТ, мкмоль / мл-год	Коеф. Де Рітиса
Група тварин						
Контроль (n=6)	0,72±0,03	0,50±0,05	1,44±0,10	0,71±0,06	0,54±0,05	1,31±0,13
Імідаклоприд (n=6)	0,74±0,05	0,71±0,06*	1,04±0,08*	0,76±0,07	0,62±0,06	1,23±0,09

таболітів, а й окисним стресом (так звана окисдавна клітинна травма) [5]. Цей механізм ураження печінки підтверджується більшими ознаками окисного стресу у тварин зі "швидким" типом ацетилювання.

Показано, що окисдавний стрес у печінці асоційований з посиленням продукції колагену (що ще більше посилюється в умовах пригнічення глутатіонової системи) [6]. Оскільки відомо, що N-ацетилтрансфераза бере участь у синтезі колагену в організмі, стає зрозумілою більша схильність "швидких" ацетиляторів до ураження печінкової тканини за умов окисдавного стресу.

Зростання концентрації СМП у плазмі крові є важливим показником розвитку ендогенної

інтоксикації. Якщо у "швидких" ацетиляторів цей показник не змінився щодо контролю, то у "повільних" збільшився рівень СМП, які не містять ароматичних амінокислот, а також рівень СМП, що їх містять, на 82% та 38% відповідно (рис. 5, 6).

Причому рівень обох груп СМП "повільних" ацетиляторів був вірогідно вищим, ніж у відповідній групі тварин зі "швидким" типом ацетилювання.

Відомо, що СМП — гетерогенна група речовин різноманітної природи та структури з молекулярною масою 300-5000 Д, які є продуктами розпаду білків, ферментів, нуклеїнових кислот. Підвищення рівня СМП є свідченням активації явищ ендотоксикозу внаслідок накопичення проміжних токсич-

них продуктів метаболізму. Також у літературі є дані, що розвиток гіперпептидемії можна розцінювати як прояв компенсаторної реакції за рахунок того, що СМП мають виражену антиоксидантну дію, пригнічуючи перекисне окислення ліпідів [7].

У "швидких" ацетиляторів рівень МА крові зріс щодо контролю (на 36%), а також щодо відповідної групи "повільних" ацетиляторів (рис. 7).

Серед показників антиоксидантного захисту у цій групі тварин спостерігали зростання активності каталази у крові на 35% щодо контролю. Активність ГП та Г-S-T залишилася без вірогідних змін, хоча спостерігалася незначна тенденція до їх зростання (табл. 3).

У тварин з "повільним" типом ацетилювання жоден з досліджуваних показників прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (рівень МА, активність каталази, ГП, Г-S-T крові) не відрізнявся від контрольних показників, хоча спостерігалася незначна тенденція до зростання активності ферментів антиоксидантного захисту.

Також слід відзначити, що у контрольних тварин показники активності каталази та Г-S-T у "швидких" ацетиляторів були вищими, ніж у групі тварин з "повільним" типом ацетилювання (табл. 2). Рівень МА у контрольній групі тварин зі "швидким" типом ацетилювання теж був дещо вищим, однак різниця виявилася невірогідною (рис. 7).

Таким чином, інтоксикація імідаклопридом на рівні порогових доз у статевонезрілих щурів незалежно від типу ацетилювання викликає затримку приросту маси тіла та метгемоглобінемію.

Крім того, у молодих тварин зі "швидким" типом ацетилювання вплив імідаклоприду характеризувався пригніченням ІПА за рахунок ГРА та ВРА, зростанням рівня гемоглобіну, активності АЛТ зі зниженням коефіцієнта Де Рітца, збільшенням рівня МА та активності каталази крові, а у повільних "ацетиляторів" — зростанням рівня СМП плазми крові.

Проведений аналіз результатів наших досліджень та даних літератури дозволив узагальнити існуючі погляди на необхідність диференційованого підходу до визначення

**Вплив імідаклоприду на рівень СМП, що не містять ароматичних амінокислот, у крові молодих тварин з різними типами ацетилювання**

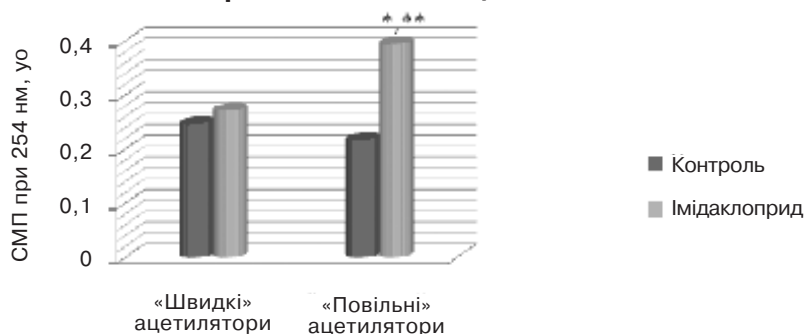


Рисунок 6

**Вплив імідаклоприду на рівень СМП, що містять ароматичні амінокислоти, у крові молодих тварин з різними типами ацетилювання**

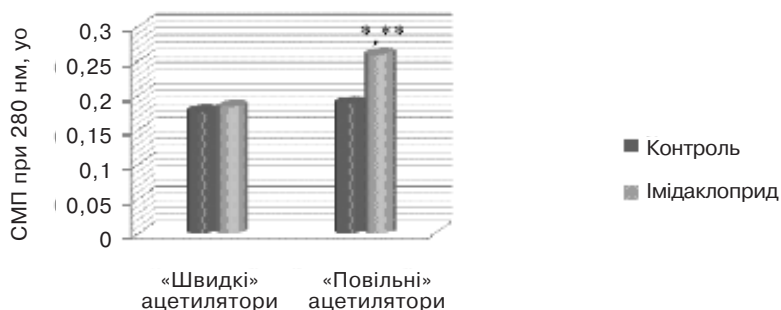
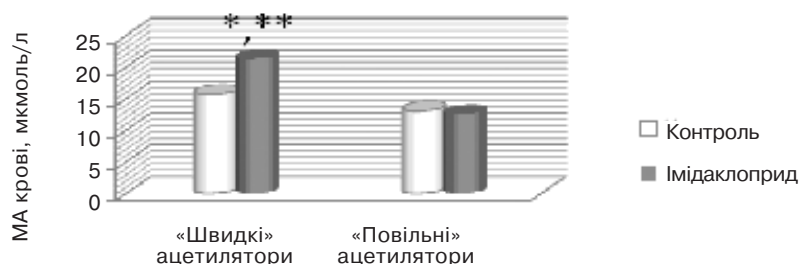


Рисунок 7

**Вплив імідаклоприду на рівень МА у крові молодих тварин з різними типами ацетилювання**



шкідливого впливу ксенобіотиків на різні групи населення, враховуючи вік та індивідуальні особливості метаболізуючої системи [8]. Тестування активності N-ацетилтрансферази можна використовувати з метою гігієнічної діагностики, а також для прогнозування індивідуальної схильності до шкідливого впливу імідаклоприду на зростаючий організм. Це належить враховувати у випадках інтоксикацій на рівнях доз, близьких до порогових, для виявлення причинно-наслідкових зв'язків між станом здоров'я та забрудненням навколишнього середовища, при перегляді та удосконаленні порогових доз і концентрацій на етапах гігієнічного нормування. Перспективним є подальше вивчення біомаркерів схильності та їх впровадження у систему гігієнічного регламентування для оцінки індивідуального ризику і визначення найбільш чутливих верств населення з метою оптимізації їх захисту, а також гармонізації підходів до гігієнічного регламентування з загальноприйнятими у світовому співтоваристві.

#### Висновки

1. Інтоксикація імідаклопридом на рівні порогових доз у статевонезрілих щурів незалежно від типу ацетилювання викликає затримку приросту маси тіла та метемоглобінемію.

2. У молодих тварин зі "швидким" типом ацетилювання вплив імідаклоприду характеризувався пригніченням ІПА, активності АлАТ зі зниженням коефіцієнта Де Рітца, збільшенням рівня МА та активності каталази крові, а у "повільних" ацетиляторів — зростанням рівня СМП плазми крові. Отже, підвищення рівня метемоглобіну крові є важливим додатковим біомаркером шкідливого впливу імідаклоприду на зростаючий організм.

3. "Швидкий" тип ацетилювання є біомаркером схильності до

шкідливого перорального впливу імідаклоприду на рівні порогових доз у молодих тварин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Капранов С.В. Влияние загрязнителей атмосферного воздуха на показатели физического развития школьников / С.В. Капранов // Довкілля та здоров'я. — 2013. — № 3. — С. 74-78.

2. Коротун О.П. Гігієнічна оцінка біомаркерів ефекту та схильності за умов комбінованої та ізольованої дії нітрату натрію та імідаклоприду / О.П. Коротун, Л.І. Власик // Гігієна населених місць. — 2007. — Вип. 49. — С. 109-114.

3. Общая токсикология: [Ред. Б.А. Курляндский, В.А. Филлов]. — М.: Медицина, 2002. — 608 с.

4. Третьякова Е.В. Гипоксия как универсальный механизм токсического действия продуктов термодеструкции полимерных материалов / Е.В. Третьякова // Актуальні проблеми токсикології. Безпека життєдіяльності людини: VI міжнар. наук.-практ. конф., 1-3 жовтня 2005 р.: тези доп. — К., 2005. — С. 60-61.

5. Залесский В.Н. Механизмы токсикант-индуцированного апоптоза клеток печени / В.Н. Залесский, О.Б. Дынник // Современные проблемы токсикологии. — 2006. — № 3. — С. 13-20.

6. Виноградова С.В. Молекулярно-генетические основы гепатотоксичности некоторых лекарственных препаратов / С.В. Виноградова, Н.А. Кравченко // Современные проблемы токсикологии. — 2007. — № 3. — С. 30-38.

7. Діагностичне значення середніх молекул при жовтяницях вірусного і пухлинного генезу / К.Ю. Литвин, М.С. Суремченко, Г.С. Біла-Попович, Т.В. Шулик, Ю.К. Ахундова // Інфекційні хвороби. — 2008. — № 7. — С. 36.

8. Трахтенберг И.М. Современные тенденции в теории и

практике гигиенического регламентирования / И.М. Трахтенберг // Гігієнічна наука і практика на рубежі століть: Мат. XVI з'їзду гігієністів України, Дніпропетровськ, 19-21 травня 2004 року. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2004. — Т. 1. — С. 50-54.

#### REFERENCES

1. Kapranov S.V. Dovkillia ta zdorovia. 2013; 3: 74-78. (in Russian)

2. Коротун О.П., Власик Л.І. In: Гігієна населених місць [Hygiene of the settlements]. Київ; 2007; 49: 109-114. (in Ukrainian)

Korotun O.P., Vlasik L.I. In : Hihiena naselenykh mistst [Hygiene of the Settlements]. Kyiv; 2007; 49: 109-114. (in Ukrainian)

3. Kurlyandskii B.A., Filov V.A. (eds.). Obshchaia toksikologiya [General Toxicology]. Moscow : Medicina; 2002: 608 p. (in Russian)

4. Tretiakova E. V. In : Aktualni problemy toksykologii. Bezpeka zhyttiedialnosti liudyny : VI mizhnarod. nauk.-prakt. konf. [Actual Problems of Toxicology. Safety of Man's Vital Functions]. Kyiv; 2005: 60-61. (in Russian)

5. Zaleskii V.N., Dynnik O.B. Sovremennye problemy toksikologii. 2006; 3: 13-20. (in Russian)

6. Vinogradova S.V., Kravchenko N.A. Sovremennye problemy toksikologii. 2007; 3: 30-38. (in Russian)

7. Lytvyn K.Yu., Suremenko M.S., Bila-Popovych H.S., Shulyk T.V., Akhundova Yu.K. Infektsiini khvoroby. 2008 ; 7 : 36. (in Ukrainian)

8. Trakhtenberh Y.M. In: Hihienichna nauka i praktyka na rubezhi stolit: mater. XVI zizdu hihienistiv Ukrainy [Hygienic Science and Practice on the Boundary of the Centuries]. Dnipropetrovsk : ART-PRES ; 2004; 1: 50-54. (in Russian)

Надійшла до редакції 24.02.2014.

Таблиця 2

#### Вплив імідаклоприду на активність ферментів антиоксидантного захисту крові молодих тварин з різними типами ацетилювання

Показник	Каталаза, U		ГП, нмоль/хв·мг білка		Г-S-T, нмоль/хв·мг білка	
	I	II	I	II	I	II
Група тварин						
Контроль (n=6)	11,63± 0,74**	9,43± 0,72	240,29± 10,25	236,28± 8,50	4,70**± 0,50	3,14± 0,27
Імідаклоприд (n=6)	15,73± 1,71*	11,73± 0,62	256,21± 8,69	244,02± 8,87	6,41± 0,65	3,85± 0,32

Примітка: \* — вірогідні зміни щодо контролю ( $P < 0,05$ );

\*\* — вірогідні зміни щодо відповідної групи тварин з "повільним" типом ацетилювання ( $P < 0,05$ );

I — "швидкі" ацетилятори; II — "повільні" ацетилятори.