

the transplacental barrier. Because of the crossing the transplacental barrier, these compounds may influence the developmental nervous system of the fetus during the prenatal period and further provoke neurological disorders in postnatal life. Pyrethroid insecticides are represented by different types of compounds. Zeta-cypermethrin is one of them. Nowadays in the scientific data there is insufficient information regarding neurotoxic effects of zeta-cypermethrin, especially the manifestation of its neurotoxic effects in the postnatal period. Our study was conducted on Wistar Hannover male and female rats, which were exposed orally by zeta-cypermethrin at doses 5; 12.5; 35; 70 mg/kg bw in the pre- and postnatal period. Investigation of pups behavioral reactions were conducted on the 13, 17, 21 and 60 postnatal day (PND) using "open field" test, introduced by Hall. The "open field" test is the most common in toxicological studies for investigating behavioral reactions of rodents in an unfamiliar environment. The obtained results show that the effect of zeta-cypermethrin on male and female rats in the pre- and postnatal period is dose-dependent and characterized by sexual sensitivity. Treatment by zeta-cypermethrin at doses 5 mg/kg and 12.5 mg/kg did not provoke symptoms of intoxication and did not induce changes in the behavioral reactions of pups rats during postnatal period (13, 17, 21 and 60 PND). Treatment by zeta-cypermethrin at dose 70 mg/kg produce disbalance of psycho-emotional state, reduced of motor and exploratory activity and adaptive abilities of both sexes offsprings during their testing in the "open field" in lactation period (13, 17, 21 PND). Treatment by zeta-cypermethrin at dose 35 mg/kg produce an increase anxiety behavior of males pups only during the lactation period (17 and 21 PND). After a period of no exposure with zeta-cypermethrin from 21 to 60 PND) the recovery of behavioral reactions is observed of male and female pups.

**Key words:** synthetic pyrethroids, zeta-cypermethrin, prenatal period, postnatal period, behavioral reactions.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 27.02.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-72-78

УДК 615.9:616.15:615.099

*Усенко Т. В., Проданчук М. Г., Шуляк В. Г.*

## **ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГЕНЕРИЧНОГО ЦИПРОКОНАЗОЛУ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА ЦИТОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ WISTAR HANNOVER**

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

**t.usenko.medved@gmail.com**

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках НДР ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України» за темою «Наукове обґрунтування сучасних нормативних вимог до застосування пестицидів і агрохімікатів: прогнозування віддалених ефектів дії (канцерогенної, мутагенної, тератогенної активності, репродуктивної токсичності, хронічних інтоксикацій)» № державної реєстрації 0108U007458.

**Вступ.** Ципроконазол (ЦИП) – системний фунгіцид, який відноситься до класу триазолів. Активно використовується в сільському господарстві для захисту зернових культур, цукрових буряків, винограду та фруктових дерев від комплексу фітопатогенів грибкової етиології, а також в якості протруйника насіння [1,2]. Є відносно "молодим" пестицидом: Європейська агенція з безпеки харчових продуктів (European Food Safety Authority, далі EFSA) рекомендувала до реєстрації ЦИП в Європі лише в 2010 році [3]. Завдяки своїм токсикокінетичним особливостям: швидкій та інтенсивній абсорбції при пероральному шляху надходження в організм (24-48 годин) та високій біодоступності (більше 86%) [4], ЦИП є потенційно небезпечним та потребує детального дослідження з метою оцінки токсичних ефектів, що можуть

виникнути при інтоксикації пестицидом. Літературні дані щодо гематотоксичної дії ЦИП, попри свою малочисельність, ще й суперечливі. Наприклад, деякі автори описують відсутність токсичних ефектів даного фунгіциду на гематологічні параметри лабораторних щурів самців [5,6]. Робота наукової групи, яка була створена за ініціативи EFSA з метою оцінки ризиків для людини 224 активних інгредієнтів пестицидних формуляцій на предмет хімічної ідентичності, механізмів дії та токсикологічних ефектів не віднесла ЦИП до таких тестових субстанцій, що мають гематотоксичний потенціал [7]. На противагу цій інформації, Агенція US EPA наводить результати досліджень гематологічних показників у субхронічному 13 тижневому експерименті на щурах Wistar, де зазначає про деякі порушення параметрів периферичної крові: збільшення загального вмісту лейкоцитів та про кількісні коливання нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів після впливу ЦИП на високих дозах [8].

В зв'язку з інтенсивним використанням даного фунгіциду на теренах України та підвищеним ризиком отруєння цільових груп населення (при неправильному користуванні апаратами для обприскування посівів пестицидами та порушенні або нехтуванні правилами особистої гігієни, використанням рукавичок, спецодягу, респіраторів під час роботи з отрутохімікатами, тощо) постало питання

дослідити вплив ЦИП на систему крові лабораторних тварин в дозі, еквівалентній для моделювання гострого отруєння.

**Мета дослідження:** оцінити вплив генеричного триазольного фунгіциду ципроконазолу технічного, 95% на гематологічні та цитохімічні показники периферичної крові щурів Wistar Hannover (Han) за умови гострої пероральної інтоксикації.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження були проведені на лабораторних щурах самців Wistar Han, що були отримані з розплідника ДП «Наукового токсикологічного центру імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», мали SPF-статус, що підтверджується відповідними сертифікатами. Щури утримувались в окремих клітках по 5 тварин в кожній в контрольованих умовах конвенційного віварію (відносна вологість 30-70%, температура 19-23°C та автоматична 12-годинна система освітлення «день-ніч»). Корм та вода надавались *ad libitum*. Всі маніпуляції з тваринами виконувались згідно положень Комісії з етики медичних та біологічних досліджень «Наукового токсикологічного центру імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України» та «Європейської конвенції про захист тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986) ETS №123, «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Academies Press, USA, 2011) [9,10]. На всіх етапах гематологічних та цитохімічних досліджень маніпуляції були виконані з дотриманням стандартних операційних процедур Центру, що розроблені у відповідності до рекомендацій та вимог Належної лабораторної практики (GLP).

Після періоду акліматизації тварин до умов конвенційного віварію та перед початком експерименту у них була проведена оцінка вхідних гематологічних показників (нульовий день досліджень) і сформовані групи, що вірогідно не відрізнялись між собою. Дослідження були проведені на статевозрілих щурах самців Wistar Han з масою тіла 280-300 г, розділених на 2 групи: I – контрольна та II – експериментальна, по 5 тварин в кожній.

За даними EFSA, напівлетальна доза (ЛД50) ципроконазолу для самців складає 350 мг/кг маси тіла [6]. Щурам II групи одноразово внутрішньошлунково через зонд була введена токсична доза 175 мг/кг маси тіла – 1/2 від ЛД50. I група отримувала розчинник (вода з емульгатором ОП-10 в концентрації 0,002%).

Дослідження периферичної крові (ПК) проводились на 1, 3, 7 та 14 добу після експозиції ЦИП. Вивчали гематологічні показники: кількісний вміст еритроцитів (RBC), концентрацію гемоглобіну (HGB), рівень гематокриту (HCT), еритроцитарні індекси (середній об'єм еритроцита (MCV), середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті (MCH), середня концентрація гемоглобіну в одному еритроциті (MCHC)), кількість лейкоцитів (WBC) та тромбоцитів (PLT), які вимірювали за допомогою ветеринарного автоматичного гематологічного аналізатора Micros ABC (Horiba Diagnostics, France). Гемограма з оцінкою морфологічних змін клітин крові та відсоткового

співвідношення різних видів лейкоцитів досліджувалась в мазках периферичної крові, пофарбованих за Паппенгеймом-Крюковим [11]. Цитохімічний статус лейкоцитів оцінювався на основі визначення ферментативної активності наступних ферментів: нафтол-AS-D-хлорацетатестерази (НХАЕ) в нейтрофілах за методом Молоні та співав., сукцинатдегідрогенази (СДГ) в лімфоцитах за методом Нарцисова, кислої фосфатази (КФ) в лімфоцитах реакцією одночасного азосполучення за методом Голдберга і Барка [12,13]. Результати аналізу 100 лейкоцитів в мазку виражали в вигляді середнього цитохімічного коефіцієнта (СЦК), використовуючи принцип Астальді [12].

Отримані дані піддавались статистичній обробці. Аналіз даних виконувався за допомогою 2-way ANOVA.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Отримані результати гематологічних досліджень червоної крові щурів (**табл. 1**) через добу після введення ЦИП показали лише тенденцію до зниження індексу МСНС (на 2,3%). На 3 постекспозиційну добу (ПЕД) зміни проявились у вигляді тенденції до еритроцитозу та збільшення концентрації гемоглобіну. У цей же термін відмічено вірогідне зростання рівня гематокриту (на 9,2%) та значне достовірне зниження індексу МСНС (на 5,5%). Підвищене надходження молодих незрілих еритроцитів з низьким вмістом гемоглобіну у циркулюючу кров підтвердилось при аналізі мазків крові вірогідною поліхромазією: зростання кількості поліхроматофільних еритроцитів у 5 разів на 3 ПЕД та в 2 рази на 7 ПЕД відповідно. До кінця експерименту (14 ПЕД) всі показники червоної крові щурів експериментальної групи вірогідно не відрізнялись від значень контрольної. Отримані зміни червоної крові можна розцінювати як компенсаторний механізм у відповідь на гіпоксію внаслідок гострої інтоксикації фунгіцидом.

Впродовж усіх термінів дослідження кількість тромбоцитів була в межах фізіологічних коливань.

Зміни ж білої крові були яскраво виражені (**табл. 2**). Вже на 1 ПЕД на фоні нормального рівня загальної кількості лейкоцитів у лейкограмі встановлено відносний нейтрофілоз та зсув лейкоцитарної формули вліво до молодих клітин: вірогідно зростала кількість метамієлоцитів (у 4 рази), паличкоядерних (у 3,5 рази) та сегментоядерних нейтрофілів (у 3 рази). У перерахунку на абсолютний вміст клітин вірогідним був лише метамієлоцитоз. При оцінці морфологічних особливостей клітин цього ряду в мазках відмічено достовірне зростання кількості гіперсегментованих нейтрофілів (у 2,5 рази) та клітин з хроматинолізом ядер (у 3,5 рази відповідно). Це може свідчити про токсичну дію ЦИП саме на цей ряд гранулоцитів.

Також на 1 ПЕД відмічено вірогідну відносну (зниження на 20%) та абсолютну (на 30% відповідно) лімфоцитопенію. Загальна кількість моноцитів не змінюється відносно контролю, але вірогідно зростає (у 2 рази) число незрілих форм моноцитарного ряду – промоноцитів.

**Таблиця 1.** Гематологічні показники периферичної крові щурів Wistar Han

Показник	Термін дослідження, доба	Група I (контроль), М ± m	Група II (ЦИП), М ± m
Еритроцити, 10 <sup>12</sup> /л	0	8,81±0,26	9,12±0,11
	1	7,84±0,17	8,27±0,32
	3	8,49±0,25	9,33±0,32
	7	7,87±0,24	8,08±0,26
	14	8,13±0,17	8,47±0,39
Гемоглобін, г/л	0	172,80±6,85	179,20±0,62
	1	174,60±5,16	175,80±3,53
	3	183,00±1,47	188,60±2,06
	7	169,25±8,41	172,50±6,20
	14	169,75±1,65	173,40±6,36
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	0	11,58± 2,58	10,28±0,34
	1	15,46±1,49	13,26±2,05
	3	15,43±1,13	32,50±3,45*
	7	19,05±2,39	22,80±5,45
	14	15,35±0,92	17,52±1,08
Гематокрит, %	0	49,48±1,71	51,42±0,15
	1	45,18±1,48	46,58±0,92
	3	48,30±0,77	52,72±0,89*
	7	44,60±2,06	45,13±1,16
	14	45,88±0,68	46,68±1,83
Тромбоцити, 10 <sup>9</sup> /л	0	555,00±125,71	630,40±5,77
	1	646,40±47,12	672,00±22,00
	3	714,00±90,14	639,40±37,97
	7	614,00±86,00	651,00±93,29
	14	494,50±59,77	609,40±55,79
Середній об'єм еритроцитів, фл	0	56,20±2,04	56,40±0,62
	1	57,60±1,36	56,40±1,03
	3	56,75±1,11	56,60±1,29
	7	56,50±0,96	56,00±1,87
	14	56,50±0,96	55,20±1,39
Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті, пг	0	19,64±0,82	19,70±0,19
	1	22,26±0,44	21,30±0,44
	3	21,63±0,63	20,26±0,56
	7	21,53±0,65	21,38±0,36
	14	20,88±0,47	20,50±0,57
Середня концентрація гемоглобіну в одному еритроциті, г/л	0	349,20±2,04	348,40±0,92
	1	386,60±3,08	377,60±2,91
	3	379,00±5,12	358,00±3,89*
	7	379,75±6,54	383,00±11,53
	14	370,00±3,49	371,60±3,16

Примітка. \* – вірогідна різниця при p≤0,05.

На 3 ПЕД встановлено виражений лейкоцитоз (загальна кількість лейкоцитів вірогідно зростала у 2 рази). Разом з цим в лейкограмі встановлено достовірне відносне та абсолютне збільшення як загальної кількості нейтрофільних гранулоцитів, так і метамієлоцитів (у 4 рази), паличкоядерних (у 6 разів) та сегментоядерних (майже у 4 рази) нейтрофілів. Зсув лейкоцитарної формули вліво, що мав місце на 1 ПЕД, зберігався та продовжував наростати й до 3 ПЕД. Водночас при морфологічному дослідженні мазків ПК відмічено появу великої кількості зруйнованих клітин нейтрофільного ряду та їх вірогідне

зростання (у 4 рази) у порівнянні з контролем. Достовірно наростає число зрілих нейтрофілів з ознаками дегенеративних порушень ядер: хроматиноліз та конденсація хроматину. Така реакція білої крові, що спостерігалась після гострого отруєння ЦИП на 1 та 3 ПЕД може вказувати одночасно на два процеси:

- стимуляція нейтрофілопоезу в кістковому мозку та підвищене надходження в кров незрілих форм клітин – метамієлоцитів та паличкоядерних нейтрофілів;
- активізація судинного пристінкового пулу лейкоцитів та їх демаргінація – перехід в циркулюючий стан, оскільки кількість зрілих сегментоядерних та гіперсегментованих нейтрофілів наростає в динаміці.

Є очевидним, що вмикаються захисні механізми в організмі щурів, направлені на знешкодження токсичного ЦИП.

На 3 ПЕД експерименту відмічено відносну (зменшення майже на 70%) та абсолютну (на 33% відповідно) лімфоцитопенію. Зміни моноцитарного ряду клітин проявились вірогідним відносним та абсолютним моноцитозом: загальна кількість моноцитів достовірно зростала (у 6 разів) за рахунок їх зрілих (майже в 4 рази) та молодих форм (у 8 разів), одночасно. Звертає на себе увагу циркулююча в судинному руслі значна кількість макрофагів в стадії активного фагоцитозу (15,8±5,4; в контролі – 1,0±0,0) (рис. 1). Фізіологічна функція макрофагів в даному випадку направлена на захоплення та перетравлювання залишків зруйнованих целюлярних компонентів, які можуть становити загрозу для нормального функціонування крові. Поява макрофагів в ПК є рідкісним явищем, спрямованим на відновлення гомеостатичних властивостей циркулюючої крові.

До 7 ПЕД загальна кількість лейкоцитів залишалась ще дещо підвищеною (на 20%), але відсоткові співвідношення клітин білої крові вірогідно не відрізнялись від значень контролю. Нормалізувався відносний та абсолютний вміст всіх форм нейтрофілів, лімфоцитів та моноцитів. Але все ще залишається підвищеною кількість макрофагів (14,8±4,7; в контролі – 7,0±1,8).

На 14 ПЕД всі досліджувані показники лейкограми експериментальної груп щурів були на рівні контролю, окрім промоноцитів, кількість яких залишалась підвищеною: відносна на 60% та абсолютна у 2,5 рази. Це свідчить про все ще наявну потребу організму в клітинах з макрофагальними властивостями.

Цитохімічні дослідження лейкоцитів периферичної крові (рис. 2) показали, що активність НХАЕ у клітинах нейтрофільного ряду вірогідно наростала впродовж 1, 3, 7 ПЕД на 44%, 63% та 82%, відповідно. На 14 ПЕД СЦК даного ферменту у тварин експериментальної групи не відрізнявся від значень контр-

Таблиця 2.

**Відносний (лейкограма) та абсолютний вміст лейкоцитів периферичної крові щурів Wistar Han після впливу генеричного ципроконазолу, 95%**

Показник	ПЕД	Лейкограма, % (M ± m)		Абсолютний вміст, 10 <sup>9</sup> /л (M ± m)	
		I (0 мг/кг)	II (175 мг/кг)	I (0 мг/кг)	II (175 мг/кг)
Метамієлоцит	1	-	1,33±0,21*	-	0,11±0,04*
	3	-	1,33±0,21*	-	0,24±0,10*
	7	1,00±0,00	-	0,07±0,06	-
	14	-	2,00±0,00	-	0,06±0,06
Паличко-ядерний нейтрофіл	1	-	3,50±0,86*	-	0,42±0,26
	3	1,00±0,00	6,20±1,50*	0,09±0,04	2,18±0,80*
	7	1,50±0,21	1,75±0,43	0,27±0,03	0,27±0,10
	14	2,33±0,64	1,60±0,43	0,27±0,12	0,29±0,10
Сегментоядерний нейтрофіл	1	10,00±1,72	30,20±6,01*	1,54±0,27	4,34±1,69
	3	11,25±2,15	43,60±7,08*	1,66±0,21	14,51±2,80*
	7	11,25±0,86	10,20±1,72	2,10±0,21	2,00±0,44
	14	15,75±1,29	17,20±2,36	2,40±0,16	3,07±0,58
Всього нейтрофілів	1	10,00±1,72	33,80±7,51*	1,54±0,27	4,87±1,97
	3	11,75±1,93	50,60±7,08*	1,75±0,17	16,93±3,60*
	7	13,00±1,07	11,60±2,15	2,44±0,28	2,27±0,41
	14	17,50±1,07	19,20±1,72	2,67±0,17	3,43±0,52
Еозинофіл	1	1,50±0,21	1,00±0,00	0,11±0,06	0,08±0,04
	3	-	1,25±0,21	-	0,43±0,06
	7	1,00±0,00	2,25±0,64	0,15±0,06	0,34±0,12
	14	2,50±0,64	2,33±0,43	0,21±0,15	0,25±0,13
Базофіл	1	-	-	-	-
	3	-	1,00±0,00	-	0,09±0,09
	7	-	-	-	-
	14	1,00±0,00	1,00±0,00	0,03±0,03	0,04±0,04
Моноцит	1	9,50±0,64	9,00±1,50	1,44±0,27	1,24±0,40
	3	6,25±0,85	20,00±2,58*	0,96±0,14	6,50±1,45*
	7	10,75±2,15	13,80±1,72	2,02±0,34	3,09±0,88
	14	13,75±1,50	13,20±3,22	2,11±0,26	2,32±0,54
Лімфоцит	1	79,75±2,79	60,00±7,51*	12,17±1,42	7,56±1,03*
	3	81,50±2,36	28,60±4,51*	12,62±1,14	8,82±1,24*
	7	75,25±2,15	72,80±3,65	14,41±2,05	17,10±4,18
	14	66,75±0,21	66,00±4,94	10,24±0,55	11,48±1,05

Примітка. \* – вірогідна різниця при p≤0,05.

ольної. Така підвищена активність НХАЕ засвідчує не лише про омолодження циркулюючого пулу нейтрофільних гранулоцитів, а й про зростання ферментативної активності у зрілих та старіючих формах нейтрофілів, що пов'язано з підвищеними каталітичними можливостями їх лізосомального апарату.

Активність СДГ та КФ у лімфоцитах на 1 ПЕД достовірно не відрізнялись від значень контролю. На 3 та 7 ПЕД встановлено вірогідне збільшення СЦК для СДГ на 18% та 13,4%, відповідно. Така активізація СДГ, навіть за умови лімфоцитопенії в ПК, є відповіддю організму на гіпоксичний стан, що мав місце на 1 ПЕД.

У ці ж терміни дослідження (3, 7 ПЕД) зафіксовано й достовірне підвищення активності КФ на 74% та 58%, відповідно. Дослідивши розподіл лімфоцитів на субпопуляції за активністю КФ (рис. 3) було показано слідує: на 1 ПЕД вірогідно зростає кількість Т-лімфоцитів, яка вже до 3 ПЕД вірогідно зменшується і залишається достовірно нижчою аж до 7 ПЕД. Одночасно на 3 ПЕД наростає число нульових лімфоцитів. Їх кількість лишається вірогідно підвищеною до 7 ПЕД. На 14 ПЕД співвідношення Т- та нульових лімфоцитів достовірно не різняться від контролю, а от кількість В-лімфоцитів вірогідно падає.

Активність СДГ та КФ на 14 ПЕД достовірно не різняться з контролем.

Таким чином, на основі визначеного СЦК для КФ та розподілу

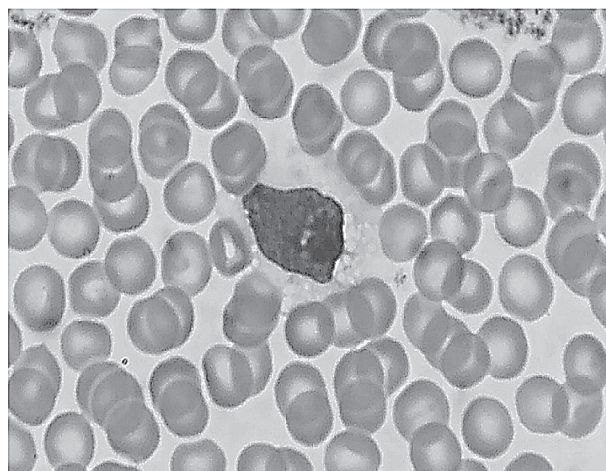


Рис. 1. Активний макрофаг в периферичній крові щурів Wistar Han на 3 добу після інтоксикації ципроконазолом, забарвлення за Паппенгеймом-Крюковим, 10х100.

лімфоцитів за її активністю на субпопуляції можна судити про імунні процеси, що відбуваються у відповідь на гостре отруєння пестицидом. Імунна відповідь організму щурів Wistar Han на інтоксикацію ЦІП спочатку заключалась в стимуляції клітинної ланки системного імунітету на 1 ПЕД. На 3 та 7 ПЕД відмічено перерозподіл клітин в ПК за рахунок надходження в кров нульових лімфоцитів. На особливу увагу заслуговують кількісні зміни клітин на 14 ПЕД, які проявились вірогідним зниженням В-лімфоцитів. Це може свідчити про пригнічення гуморального імунітету [14-17]. Загалом, такі кількісні коливання лімфоцитів показують токсичну дію ЦІП на імункомпетентні клітини та потребують додаткових спеціалізованих тестів для підтвердження або ж спростування даного факту.

**Висновки.** Аналіз результатів дослідження гематотоксичної дії генеричного триазольного фунгіциду

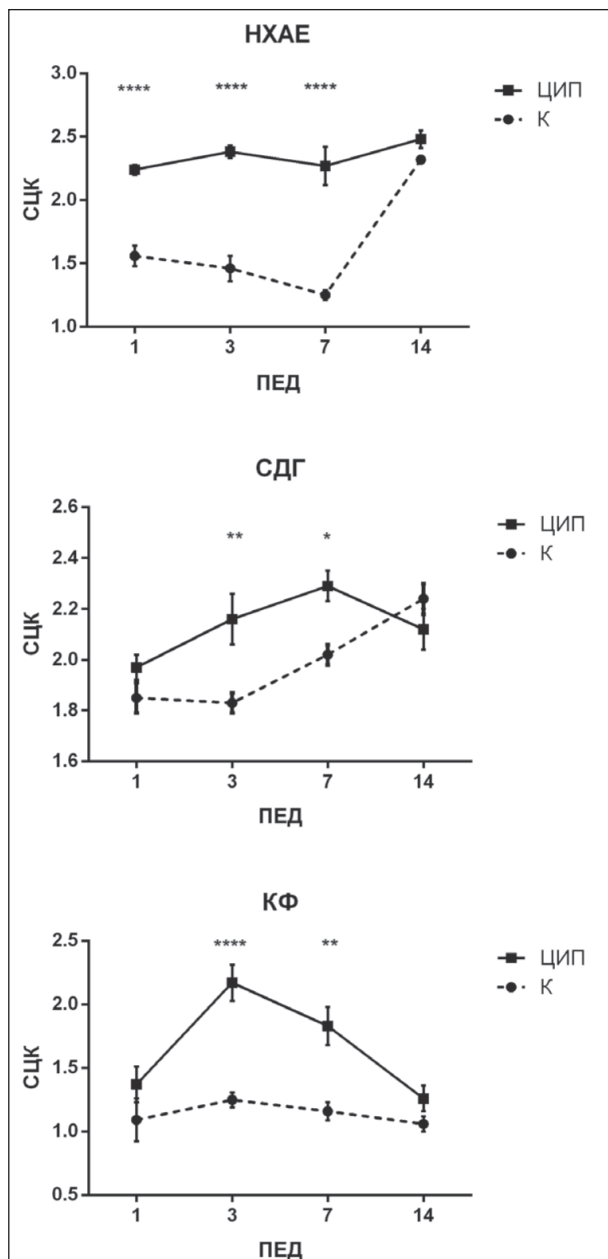


Рис. 2. Цитохімічна активність ферментів у лейкоцитах периферичної крові за дії ципроконазолу (ЦИП).

Примітка: \* – вірогідна різниця при  $p \leq 0,05$ ; \*\* – при  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*\* – при  $p \leq 0,0001$ .

ципроконазолу, 95% в умовах гострого експерименту на щурах самцях Wistar Han показав тропність до клітин нейтрофільного ряду, яка полягала в одночасному руйнуванні зрілих клітин та компенсаторному надходженні в периферичну кров молодих форм за рахунок стимуляції нейтрофілопоезу в кістковому мозку; активізація моноцитопоезу та збільшення макрофагів в судинному руслі; зміни імунної відповіді організму.

1. ЦИП спричинив зміни червоної крові, що проявились зростанням кількості еритроцитів та гематокриту внаслідок гіпоксії.

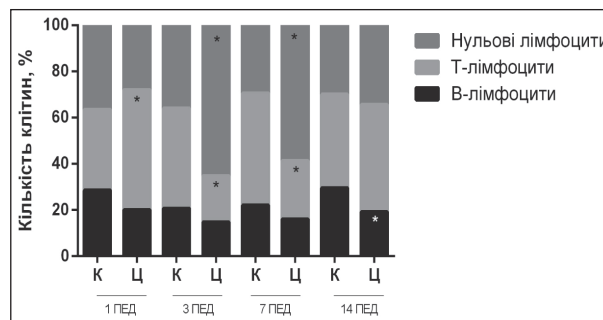


Рис. 3. Розподіл лімфоцитів щурів за активністю кислотофосфатази після впливу ципроконазолу (Ц) в порівнянні з контролем (К) на 1, 3, 7, 14 постекспозиційну добу (ПЕД) при  $p \leq 0,05$ .

2. ЦИП проявляв цитотоксичну дію на лейкоцити ПК, що призводило до значного руйнування клітин у судинному руслі.

3. У відповідь на дію спостерігався значний лейкоцитоз за рахунок стимуляції нейтрофілопоезу в кістковому мозку, що проявляється зсувом лейкоцитарної формули вліво. Вихід попередників зрілих клітин мав компенсаторний характер.

4. Наявність активних макрофагів в судинному руслі характеризує підвищену потребу організму в клітинах з фагоцитарними властивостями та активізації моноцитопоезу.

5. Збільшення ферментативної активності НХАЕ вказує як на омолодження клітин нейтрофільного ряду, так і на фізіологічну активізацію зрілих і старіючих нейтрофілів. Має компенсаторний характер.

6. Підвищена активність мітохондріального ферменту СДГ на фоні лімфоцитопенії в периферичній крові свідчить про стимуляцію окисно-відновних процесів в лімфоцитах на 3 та 7 добу експерименту та вказує на активізацію адаптаційних механізмів у відповідь на гіпоксію після інтоксикації ЦИП.

7. ЦИП впливав на імунний статус організму щурів: встановлено токсичну дію на імунокомпетентні клітини крові. Отримані дані потребують проведення додаткових тестів з оцінки імунотоксичної дії фунгіциду.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші поглиблені дослідження механізмів гематотоксичної дії генеричного триазольного фунгіциду ципроконазолу повинні бути спрямовані на комплексну оцінку процесів кровотворення в кістковому мозку та селезінці, проведення додаткових тестів з визначення імунотоксичної дії як при гострому так і субхронічному надходженні його в організм щурів. Отримані дані дозволять розмежувати адаптаційні та патологічні зміни, що можуть виникнути за дії ЦИП.

**Література**

1. Kaplaushenko AH, et al. Praktichne znachennya ta zastosuvannya poxidnyh 1,2,4-triazolu [monohrafiya] [Internet]. Zaporizhzhya: ZDMU; 2016. 187 s. Dostupno: <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/4902> [in Ukrainian].
2. FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues «Cyproconazole» 2010 JMPR Monograph. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2015. p. 766-938.
3. EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMERS DIRECTORATE-GENERAL Review report for the active substance cyproconazole finalised in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health. EU Pesticides database. 2015. p. 7 [ec.europa.eu].
4. Assessment Report Evaluation of active substance Cyproconazole. RMS: Ireland. 2014. 124 p.
5. Schmidt F, Marx-Stoelting P, Haider W. Combination effects of azole fungicides in male rats in a broad dose range. Toxicology. 2016;355-356:54-63.
6. Peer Review of the pesticide risk assessment of the active substance cyproconazole. EFSA Journal. 2010;8(11):73. DOI: 10.2903/j.efs.2010.1897
7. EXTERNAL SCIENTIFIC REPORT submitted to EFSA Identification of Cumulative Assessment Groups of Pesticides Prepared by Elsa Nielsen et al. Technical University of Denmark. 2014. 304 p.
8. USEPA; Updated Revised Human-Health Risk Assessment for Proposed Uses on Corn, Soybean and Wheat. 2008. p. 48-9.
9. Guide for the care and use of laboratory animals. – LAR Publication, National Academy Press, USA, 1996. 220 p.
10. OECD Principles of Good Laboratory Practice. ENV/MC/CHEM(98)17. Environment Directorate Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, 1998. 41 p.
11. Novykova Y. Klynycheskaya y laboratornaya hematolohyya [Internet]. Litres, 2017. Dostupno: <http://www.clinlab.info/Hemocytology/Reticulocytes-counting-49> [in Russian].
12. Men'shikov VV. Laboratornye metody yssledovaniya v klynyke. M.: Medycyna; 1987. s. 106-45. [in Russian].
13. Butenko ZA, Hluzman DF, Zak KP. Cytohymyya y elektronnyaya mykroskopyyya kletok krovy i krovotvornyyh orhanov. Kyev: Naukova dumka; 1974. s. 28-88. [in Russian].
14. Nader D Nader, Sina Davari-Farid. Neutrophilia. [Internet]. Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/208576-overview>
15. She Y, Wang N, Chen C. Effects of aluminum on immune functions of cultured splenic T and B lymphocytes in rats. Biological trace element research. 2012;147(1-3):246-50.
16. Otton R, Marin D, Bolin A. Combined fish oil and astaxanthin supplementation modulates rat lymphocyte function. European journal of nutrition. 2012;51(6):707-18.
17. Romanyuk AM, Rudna MM, Rudna VM. Vplyv nespriyatlyvyh faktoriv dovkillya (soli vazhkykh metaliv) na imunnu systemu (ohlyad literatury). Visnyk Sums'koho derzhavnoho universytetu. Seriya Medycyna. 2012;2:36-41. [in Ukrainian].

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГЕНЕРИЧНОГО ЦИПРОКОНАЗОЛУ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА ЦИТОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ WISTAR HANNOVER****Усенко Т. В., Проданчук М. Г., Шуляк В. Г.**

**Резюме.** Досліджено вплив генеричного триазольного фунгіциду ципроконазолу, 95% на гематологічні (загальний аналіз, гемограма з оцінкою морфологічних змін клітин крові) та цитохімічні показники (на основі визначення ферментативної активності нафтол-AS-D-хлорацетатестерази в нейтрофілах, сукцинатдегідрогенази та кислій фосфатази в лімфоцитах) периферичної крові щурів Wistar Hannover в умовах гострого експерименту. Встановлений вірогідний лейкоцитоз, нейтрофілію зі зсувом лейкоцитарної формули вліво до метамієлоцитів. Спостерігалась активація моноцитопоезу. В судинному руслі відмічена поява активних фагоцитуючих макрофагів. Активність вивчених ферментів достовірно підвищувалась. ЦИП чинив імунотоксичну дію, що проявилась кількісними змінами субпопуляцій лімфоцитів. Аналіз результатів дослідження засвідчив гематотоксичну дію генеричного триазольного фунгіциду ципроконазолу, 95% при гострому надходженні в організм щурів самців Wistar Hannover.

**Ключові слова:** цитохімія лейкоцитів, нейтрофілія, макрофаги.**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕНЕРИЧЕСКОГО ЦИПРОКОНАЗОЛА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС WISTAR HANNOVER****Усенко Т. В., Проданчук Н. Г., Шуляк В. Г.**

**Резюме.** Исследовано влияние генерического триазольного фунгицида ципроконазола, 95% на гематологические (общий анализ, гемограмма с оценкой морфологических изменений клеток крови) и цитохимические показатели (на основании определения ферментативной активности нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразы в нейтрофилах, сукцинатдегидрогеназы и кислй фосфатазы в лимфоцитах) периферической крови крыс Wistar Hannover в условиях острого эксперимента. Установлен достоверный лейкоцитоз, нейтрофилия со сдвигом лейкоцитарной формулы влево до метамиеоцитов. Наблюдалась активация моноцитопоеза. В сосудистом русле отмечено появление активных фагоцитирующих макрофагов. Активность изученных ферментов достоверно повышалась. ЦИП проявил иммунотоксическое действие, которое заключалось в количественных изменениях субпопуляций лимфоцитов. Анализ результатов исследования показал гематотоксическое действие генерического триазольного фунгицида ципроконазола, 95% при остром поступлении в организм крыс самцов Wistar Hannover.

**Ключевые слова:** цитохимия лейкоцитов, нейтрофилия, макрофаги.

### STUDY OF GENERIC CYPROCONAZOLE EFFECTS ON HEMATOLOGICAL AND CYTOCHEMICAL PARAMETERS OF WISTAR HANNOVER RATS PERIPHERAL BLOOD

Usenko T., Prodanchuk M., Shulyak V.

**Abstract.** Pesticides are extensively used in agriculture today. Fungicides based on derivatives of triazole are the most widespread all over the world. Cyproconazole is one of the most frequently used substance of this group. Published data about the hematotoxic effects of cyproconazole, despite their fewness, are controversial.

*Goal.* The aim was to assess the effects of generic triazole fungicide cyproconazole, 95% on hematological and cytochemical parameters of peripheral blood of Wistar Hannover male rats in conditions of acute oral toxicity study.

*Object and methods.* 10 healthy males of Wistar Han rats were equally divided into control (0 mg/kg/bw) and experimental groups. The input control of peripheral blood parameters was conducted after a period of animals acclimatization. The goal was to evaluate the physiological state of the Wistar Han rats and the blood picture before treatment. Dose 175 mg/kg/bw (1/2 LD50) was administrated once orally by gavage to 5 experimental rats. Peripheral blood was studied at 0 and 1, 3, 7, 14 day after exposure. RBC, HGB, HCT, erythrocyte indices MCV, MCH, MCHC, WBC and PLT were measured, hemogram and morphological disturbances of cells were studied. Cytochemical investigations of specific naphtol-AS-D-chloracetate esterase in neutrophils and succinate dehydrogenase, acid phosphatase in lymphocytes were studied.

*Results.* Significant RBC increase and MCHC decrease due to hypoxia, polychromasia of erythrocytes in peripheral blood as confirmation of the compensatory mechanism. The probable leukocytosis, relative and absolute neutrophilia with left shift to metaemyelocytes in leukogram is established. The appearance of active phagocytic macrophages in the vascular channel was noted. Activation of monocytopenesis was observed. The activity of cytochemical enzymes was significantly increased. Immunotoxic action was shown. That was manifested by quantitative changes in the lymphocytes subpopulations.

*Conclusion.* Due to obtained results the triazole fungicide generic cyproconazole, 95% had hematotoxic action on peripheral blood of Wistar Hannover male rats in conditions of acute oral toxicity study.

**Key words:** cytochemistry of leukocytes, neutriphilia, macrophages.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.*

*Стаття надійшла 05.03.2018 року*