

Г.Я. Базака, аспірант

В.Б. Духницький, д.вет.н., професор

В.Д. Іщенко, к.вет.н., доцент

Національний університет біоресурсів та природокористування України

Висвітлено результати досліджень з визначення хронічної токсичності інсектициду із групи неонікотиноїдів, діючою речовиною якого є ацетаміприд. Прояв хронічної токсичності оцінювали за змінами показників клінічних, гематологічних, біохімічних та патоморфологічних досліджень. Клінічного прояву ознак отруєння і загибелі тварин не відмічали. При дослідженні морфологічного складу крові встановлено тромбоцитоз і нейтрофільний лейкоцитоз із зміщенням ядра нейтрофілів вправо. Поряд із нейтрофілією встановлено лімфоцитопенію.

У сироватці крові тварин збільшується вміст загального білка на 18,9 % за рахунок збільшення глобулінової фракції. Встановлено зниження вмісту сечовини в сироватці крові білих мишей дослідної групи на 43,6 % на фоні незмінного вмісту креатиніну та достовірне підвищення активності АлАТ, АсАТ, а також зростання коефіцієнта Де Рітіса з одночасним підвищенням активності ГГТП. Це свідчить про значні порушення синтетичної функції печінки у тварин із явищами гепатоцитолізу.

Ключові слова: інсектициди, неонікотиноїди, моспілан, ацетаміприд, хронічна токсичність, лабораторні миші, кров, печінка, активність ферментів.

Пестициди та агрохімікати є високоактивними хімічними сполуками та потужним фактором дії на організми тварин і людини. Досить часто реєструють випадки отруєння пестицидами. Водночас застосування їх у сільському господарстві є необхідною умовою отримання високого врожаю. Наукою і практикою доведено, що одним з найефективніших способів захисту рослин від хвороб і шкідників є хімічний метод. Відкриття і широке застосування інсектицидів відіграє значну роль у боротьбі з комахами, масове знищення яких за допомогою інших методів є обтяжливим та мало-ефективним. Так, оцінюючи значення інсектицидів у боротьбі із захворюваннями, збудників яких переносять кровосисні комахи, у 1948 році П. Мюллеру було вручено Нобелівську премію з фізіології та медицини «за відкриття високої ефективності ДДТ як контактного інсектициду». Хоча нині у більшості розвинених країн застосування ДДТ заборонене, проте із певним обмеженням відповідно Базельської та Стокгольмської конвенцій його і досі застосовують для боротьби з сараною та переносниками малярії у тропічних країнах.

За останні 20 років обсяги та географія використання пестицидів у світі суттєво змінилися. Найвищі витрати пестицидів відмічають у Японії, Європі, США, Китаї. В Україні із запровадженням сучасних технологій ведення сільського господарства спостерігається тенденція до збільшення використання високоефективних пестицидів з низькими нормами витрат, що мінімізує їх шкідливий вплив на зовнішнє середовище. До таких сполук належать неонікотиноїди.

Неонікотиноїди – відносно новий клас пестицидів, які широко застосовують у сільському господарстві в якості системних інсектицидів для боротьби з сисними і листогризучими комахами

[1]. У ветеринарії ці речовини застосовують з лікувально-профілактичною метою за ентомозів дрібних домашніх тварин, у побуті – для знищення комах в житлових і господарських приміщеннях.

Існують дані щодо токсичної дії неонікотиноїдів на медоносних бджіл та інших комах-запилювачів. Ця обставина стала підставою для введення обмежень до використання імідаклоприду, тіаметоксаму і клотіанідину у деяких країнах Європи. Експериментальні дані підтверджують потенційну небезпеку неонікотиноїдів для ссавців. Тому існує потреба в уточненні даних (часто таких, які виробники препаратів не надають у вільний доступ) щодо гострої токсичності неонікотиноїдів, а також вивчення їх хронічної токсичності для лабораторних і продуктивних тварин та птиці.

Мета і задачі дослідження – вивчення в експерименті на білих мишах токсичних властивостей інсектициду з групи неонікотиноїдів моспілану за результатами клінічних, гематологічних, біохімічних та патоморфологічних досліджень.

Матеріали і методи досліджень. Досліди проводили на базі кафедри фармакології та токсикології й віварію факультету ветеринарної медицини НУБіП України. Об'єктом дослідження був препарат групи неонікотиноїдів моспілан, що містить 20 % ацетаміприду. При проведенні досліджень щодо визначення токсичності моспілану застосовували методіку, викладену у виданні «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» за редакцією доктора ветеринарних наук, професора І.Я. Коцюмбаса [5].

Визначення хронічної токсичності проводили на самцях білих мишей масою тіла 18-20 г. Тварин утримували в умовах віварію згідно з дію-

чими «Санітарними правилами щодо устрою, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» за температури 18-20 °С та відносної вологості повітря 50-55 %. Годівлю здійснювали повнораціонним комбікормом, водопій не обмежували. Перед початком експерименту тварин упродовж 7-ми діб витримували в адаптаційному періоді. Дозу препарату обчислювали у мг діючої речовини (ДР) на 1 кг маси тіла.

Досліди проводили на 14 білих мишах, яких за принципом аналогів було розподілено на 2 групи по 7 тварин у кожній. У тварин дослідної групи хронічне отруєння моспіланом відтворювали щоденним уведенням водної суспензії препарату всередину в дозі 1/10 DL₅₀ (65 мг/кг м.т.). Тварини другої групи слугували контролем і отримували дистильовану воду в такому ж об'ємі. Тривалість досліду становила 30 діб.

Упродовж експерименту за тваринами вели спостереження та відзначали в динаміці зміни їх клінічного стану. Брало до уваги зовнішній вигляд, реакцію на зовнішні подразники, зміни положення тіла, поведінку, прийом корму та води, інтенсивність і характер рухової активності, стан шкіри і слизових оболонок, реєстрували терміни розвитку інтоксикації.

В кінці досліду мишей після хлороформного наркозу піддавали етаназії. Від тварин обох груп відбирали кров з серця для морфологічних та біохімічних досліджень щодо токсичного впливу моспілану. У крові визначали гематокрит, кількість еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів та їх форм, уміст гемоглобіну, загального білка, альбуміну, сечовини та креатиніну, активність АлАТ, АсАТ і ГГТП. Патоморфологічні прояви токсичності оцінювали під час макроскопічного дослідження внутрішніх органів в кінці експерименту за змінами індексів маси печінки, селезінки, легенів, нирок, серця.

Результати власних досліджень та їх обговорення. Упродовж усього періоду спостереження поведінковій реакції, споживання корму та води тварин дослідної групи не відрізнялися від показників тварин контрольної групи. Тварини були активними та рухливими, координація рухів не порушена, частота дихальних рухів і серцебиття не виходили за межі фізіологічних. Клінічного прояву ознак отруєння і загибелі тварин не спостерігали. Проте слід зазначити, що тварини дослідної групи були агресивними і часто напали одна на одну.

При дослідженні морфологічного складу крові мишей показники кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну крові тварин дослідної та контрольної груп були майже однаковими. Незмінним залишався і показник гематокриту в тварин обох груп (табл. 1). Водночас кількість лейкоцитів і тромбоцитів за хронічного отруєння білих мишей моспіланом за статистично вірогідної різниці збільшувалася відповідно на 16,9 та 11,5 %. При цьому слід зазначити, що при мікроскопії мазків крові відмічали анізоцитоз та мікроцитоз еритроцитів.

Аналіз лейкограми крові мишей за хронічного отруєння моспіланом свідчить, що встановлений лейкоцитоз має нейтрофільний характер. При цьому сума процентних вмістів різних форм нейтрофілів у тварин дослідної групи була на 42,9 % більшою, ніж у тварин контрольної групи (табл. 2). Такі зміни пов'язані в першу чергу із збільшенням у крові білих мишей сегментоядерних нейтрофілів на 47,8 % за статистично вірогідної різниці. Тобто, можна стверджувати, що за хронічного отруєння білих мишей моспіланом відмічається нейтрофільний лейкоцитоз із зміщенням ядра нейтрофілів вправо. Це вказує на виснаження кровотворних органів після 30-денного введення білим мишам моспілану в дозі, що становить 1/10 DL₅₀.

Таблиця 1

Картина крові білих мишей за хронічного отруєння моспіланом (M±m, n=7)

Показник	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Гематокрит, %	0,34±0,03	0,33±0,01
Еритроцити, Т/л	4,43±0,33	4,37±0,15
Гемоглобін, г/л	112,70±9,44	110,97±4,60
Тромбоцити, Г/л	274,60±7,31	306,04±4,90****
Лейкоцити, Г/л	7,44±0,38	8,70±0,27**

Примітка. * – p≤0,05; ** – p≤0,02; *** – p≤0,01; **** – p≤0,001 порівняно з контролем

Поряд із нейтрофілією встановлено лімфоцитопенію. При цьому вміст лімфоцитів у крові тварин дослідної групи був на 11,5 % нижчим порівняно із тваринами контрольної групи. Також

встановлено тенденцію до збільшення вмісту моноцитів, проте такі зміни не були статистично вірогідними.

Таблиця 2

Лейкограма крові білих мишей за хронічного отруєння моспіланом (M±m, n=7)

Групи тварин	Б	Е	Н		Л	Мон
			П	С		
Контрольна	-	-	0-1	19,14±1,61	79,43±1,78	0-1
Дослідна	-	-	0-1	28,29±1,35****	70,28±1,70***	1-2

Для визначення функціонального стану органів і систем при токсичному навантаженні, в тому числі при хронічному отруєнні неонікотинами, важливу роль відіграє визначення біохімічних показників сироватки крові тварин. При хронічному отруєнні білих мишей моспіланом у дозі, що становить 1/10 DL₅₀, встановлено суттєве збільшення умісту загального білка (на 18,9 % за статистично вірогідної різниці) у сироватці крові

тварин дослідної групи порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 3). Проте вміст альбуміну при цьому залишився практично незмінним. Тобто, збільшення вмісту загального білка було пов'язане із збільшенням його глобулінової фракції. Це, ймовірно, є реакцією на зниження вмісту лімфоцитів у крові мишей та компенсації недостатньої кількості компонентів клітинного імунітету за рахунок посилення гуморального.

Таблиця 3

Біохімічні показники сироватки крові білих мишей за хронічного отруєння моспіланом (M±m, n=7)

Показник	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Загальний білок, г/л	50,61±1,72	60,19±2,26***
Альбумін, г/л	24,36±0,73	26,97±1,27
Сечовина, ммоль/л	6,03±0,22	3,41±0,16****
Креатинін, ммоль/л	59,20±2,13	55,91±1,41

Функціональний стан печінки можна оцінити за вмістом сечовини у сироватці крові, оскільки печінка є основним місцем синтезу даного метаболіту. Встановлене зниження вмісту сечовини у сироватці крові білих мишей дослідної групи на 43,6 % за статистично вірогідної різниці на фоні практично незмінного вмісту креатиніну вказує на значні порушення синтезувальної функції печінки у тварин при хронічному отруєнні моспіланом.

При цьому визначаючи вагові коефіцієнти органів встановлено тенденцію до зменшення індексу маси печінки у мишей дослідної групи порівняно із тваринами контрольної групи (табл. 4). Встановлена тенденція до зменшення індексу маси селезінки підтверджується та узгоджується із результатами морфологічних досліджень крові мишей – якісні зміни еритроцитів та лімфоцитопенія (табл. 2).

Таблиця 4

Індекси маси внутрішніх органів, %(M±m, n=7)

Орган	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Печінка	6,19±0,48	5,60±0,22
Селезінка	0,80±0,08	0,52±0,08
Легені	0,69±0,03	0,63±0,02
Нирки	1,66±0,13	1,60±0,11
Серце	0,53±0,03	0,55±0,04

Встановлено достовірне підвищення активності усіх досліджуваних індикаторних ферментів – АлАТ, АсАТ, ГГТ, а також зростання коефіцієнта Де Рітиса. Підвищення активності амінотранспептидаз (АлАТ і АсАТ) в сироватці крові є досить важливим діагностичним тестом для встановлення патологій печінки. При цьому специфічність даного тесту залежить від рівня гіперферментемії.

У крові мишей дослідної групи активність АлАТ підвищувалася на 23,2 %, а АсАТ на 181,2 % порівняно із тваринами контрольної гру-

пи за статистично вірогідної різниці (табл. 5). Через суттєву різницю активності обох транспептидаз зростає коефіцієнт Де Рітиса в 2,3 рази. Таким чином, за дії моспілану на організм мишей, судячи із змін активності аспарагінової та аланінової транспептидаз, більш виражені зміни відбуваються у серцевому і скелетних м'язах ніж у печінці. Такий ефект дії моспілану за хронічного отруєння ним білих мишей, ймовірно, пов'язаний із нікотиноподібною дією препарату на відповідні рецептори м'язів.

Таблиця 5

Біохімічні показники сироватки крові мишей за хронічного отруєння моспіланом (M±m, n=7)

Показник	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
АлАТ, О/л	49,91±1,55	61,47±1,72****
АсАТ, О/л	84,67±4,66	238,06±8,37****
ГГТ, Од/л	7,29±0,87	13,30±0,76****
Коефіцієнт Де Рітиса	1,70	3,87

Водночас про гепатотоксичну дію моспілану свідчило і підвищення активності гамма-глутамілтранспептидази у тварин дослідної групи на 82,4 % порівняно з тваринами контрольної гру-

пи. Визначення активності гамма-глутамілтранспептидази використовують для встановлення гепатотоксичності; вона підвищується в 90% випадків захворювань печінки. У більшості

випадків при цьому крові одночасно підвищується активність і трансаміназ. Підвищення активності ГТТП привнесеному підвищенні активності АсАТ та АлАТ є свідченням прояву гепатоцитолізу і ураження гепатобіліарної системи.

Перспективи подальших досліджень: для всебічної токсикологічної оцінки інсектицидного препарату «Моспілан», що належить до групи неонікотиноїдів, доцільним є визначення його токсичності для продуктивних тварин та контролю за його вмістом у продукції.

Висновки. 1. Інсектицид з групи неонікотиноїдів моспілан за перорального уведення упродовж 30 діб білим мишам в дозі 65 мг/кг (1/10 DL₅₀) спричиняє токсичну дію, яка відображається змінами морфологічних та біохімічних показників крові, а також змінами вагових коефіцієнтів внутрішніх органів.

2. За хронічного отруєння білих мишей мо-

спіланом встановлено тромбоцитоз і розвиток нейтрофільного лейкоцитозу (кількість лейкоцитів збільшилася на 16,9 %, а нейтрофілів – на 42,9 %) із зміщенням ядра нейтрофілів вправо та лімфоцитопенію.

3. Дія моспілану в дозі 65 мг/кг на організм білих мишей супроводжується порушення синтезних процесів у печінці, про що свідчить зменшення на 43,6 % рівня сечовини, а також явищами гепатоцитолізу, на що вказує одночасне підвищення активності аланінової і аспарагінової транспептидаз на 23,2 і 181,2 % відповідно, а також гамма-глутамілтранспептидази на 82,4 % за статистично вірогідної різниці.

4. Отримані результати дають підстави стверджувати, що препарат володіє токсичним ефектом при тривалому (протягом місяця) надходженні в організм хоча й належить до класу малотоксичних речовин.

Список використаної літератури:

1. Сравнительная токсикологическая характеристика новых неоникотиноидных инсектицидов / Ермолова Л.В., Проданчук Н.Г., Жминько П.Г., Лепешкин И.В. – Современные проблемы токсикологии. – 2004. – № 2. – С. 4-7. Режим доступа: http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2004/04_2_1.htm
2. Ерёмина О.Ю. Перспективы применения неоникотиноидов в сельском хозяйстве России и сопредельных стран / О.Ю. Ерёмина, Ю.В. Лопатина // Агрехимия. – 2005. – № 6. – С. 87-93.
3. Kimura-Kuroda J. Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats / J. Kimura-Kuroda // PLoS One. – 2012. – V 7(2). Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info> (Accessed 28 February 2013)
4. Ермолова Л.В. Токсиколого-гігієнічна оцінка асортименту нових неонікотиноїдних пестицидів (Огляд) / Л.В. Ермолова, І.В. Лепешкін, І.В. Мудрий // Современные проблемы токсикологии. – 2004. – № 4. – С. 35-37. Режим доступа: http://www.medved.kiev.ua/arhiv_mg/st_2004/04_4_10.htm
5. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [за ред. І. Я. Коцюмба]. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.

Базака Г.Я., Духницький В.Б., Ищенко В.Д. Хроническая токсичность Моспилана для белых мышей

Представлены результаты исследований по определению хронической токсичности инсектицида из группы неоникотиноидов, действующим веществом которого является ацетамиприд. Проявление хронической токсичности оценивали по изменениям показателей клинических, гематологических, биохимических и патоморфологических исследований. Клинические признаки отравления и гибель животных не отмечали. При исследовании морфологического состава крови установлены тромбоцитоз и нейтрофильный лейкоцитоз со смещением ядра нейтрофилов вправо. Наряду с нейтрофилией выявляли лимфоцитопению.

В сыворотке крови животных увеличивается содержание общего белка на 18,9 % за счет увеличения глобулиновой фракции. Установлено снижение содержания мочевины в сыворотке крови белых мышей опытной группы на 43,6 % на фоне неизменённого содержания креатинина и достоверное повышение активности АлАТ, АсАТ, а также увеличение коэффициента Де Ритуса при одновременном повышении активности ГТТП. Это свидетельствует о значительных нарушениях синтетической функции печени у животных с явлениями гепатоцитоліза.

Ключевые слова: инсектициды, неоникотиноиды, моспілан, ацетамиприд, хроническая токсичность, лабораторные мыши, кровь, печень, активность ферментов.

Bazaka G., Dukhnitsky V., Ischenko V. Chronic toxicity of Mospilan for white mice

It is shown the results of investigations to determine the chronic toxicity of the insecticide of neonicotinoid group active substance of which is acetamiprid. Manifestation of chronic toxicity was assessed by changes of clinical, haematological, biochemical and pathological parameters of studies. Clinical manifestation of symptoms of poisoning and death of animals were not observed. In the study of morphological composition of mouse blood were determined thrombocytosis and leukocytosis with a right shift of neutrophil

nuclei. Along with neutrophils lymphocytopenia was registered.

In the blood sera of animals of the experimental group found an increase of the total protein content by 18,9% due to the globulin fraction. Decrease of urea content in blood serum of experimental group of white mice by 43,6% against constant creatinine content. It was established a significant increase in the activity of all indicator enzymes such as ALT, AST, GGTP as well as the rise of the De Ritis ratio. Increasing of GGTP activity at simultaneous increasing of AST and ALT activity indicate a hepatocytolysis and cholestasis.

Keywords: insecticides, neonicotinoides, mospilan, acetamiprid, chronic toxicity, laboratory mice, blood, liver enzyme activity.

Дата надходження до редакції: 31.03.2015 р.

Рецензент: д.вет.н., професор Березовский А.В.