

СТАН НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРЯТ У ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ЗА ВПЛИВУ АЛЬФА-ЦИПЕРМЕТРИНУ НА ВАГІТНИХ САМИЦЬ

*Н.О. Корнута, кандидат біол. наук, В.А. Перехрестенко, кандидат мед. наук,
П.Г. Жмінько, доктор біол. наук*

*ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки
імені академіка Л.І.Медведя Міністерства охорони здоров'я України», м. Київ*

РЕЗЮМЕ. *Мета роботи.* Вивчити стан нервової системи щурят у постнатальному періоді за впливу альфа-циперметрину на вагітних самиць. *Матеріал і методи.* Експеримент виконаний на трьохтижневих і тринадцятиденних щурятах, які в пренатальний період підпадали під вплив альфа-циперметрину в дозах 17,5; 35,0 і 70,0 мг/кг. Поведінкові реакції щурят вивчали за загальноприйнятими методами у токсикології: рухова активність у «відкритому полі» Холла, «нірковий» рефлекс, стан вегетативної системи оцінювали по дефекації, уринації, ґрумінгу.

Результати. В експерименті встановлено, що при введенні вагітним самицям щурів з 6 по 15 день вагітності у дозі 17,5 і 35,0 мг/кг, у народжених від них щурят не відмічалось змін у поведінкових реакціях, тоді як при дозі 70,0 мг/кг спостерігалось пригнічення орієнтовно-дослідницької та емоційної поведінки у піддослідних тварин.

Висновок. Вплив альфа-циперметрину в період активного органогенезу в дозі 70,0 мг/кг викликає гальмування рухової активності та орієнтовно-дослідницької поведінки щурят в різні періоди постнатального розвитку, що, імовірно, пов'язане з порушенням функціонування медіаторних систем мозку та недостатності секреції гама-аміномасляної кислоти.

Ключові слова: пренатальний вплив, альфа-циперметрин, постнатальний період, поведінкові реакції.

Систематичне надходження пестицидів у повітря (атмосферне, робочої зони, повітря житлових приміщень), водойми (відкриті та підземні), ґрунт, а також наявність залишкових кількостей у продуктах харчування сприяє попаданню їх в організм людини і виникненню захворювань хімічної етіології. Експериментальні дослідження на тваринах показали, що багато пестицидів, які широко використовуються в даний час в усьому світі (фосфорорганічні, карбамати, етилен-біс-дитіокарбамати, хлорфеноксі-гербіциди, синтетичні піретроїди, неонікотиноїди), можуть чинити нейротоксичну дію як на дорослих, так і на молодих тварин.

Особливе занепокоєння викликає поява нейротоксичності у молодих тварин, які підпадали під вплив пестицидів в пре- або постнатальний період. Відомо, що мозок на стадії розвитку особливо вразливий до несприятливих ефектів нейротоксичних пестицидів порівняно з мозком дорослих. У пренатальний період (головна фаза нейрогенезу) мозок розвивається з ектодермальних клітин складного організму ембріона, що складається з більйонів клітин, які точно розмішені, високо спеціалізовані та взаємопов'язані. У мозку, що нормально розвивається, нейрони повинні точно рухатися уздовж певних шляхів від пунктів походження до їх призначення, налагоджуючи зв'язок з іншими клітинами. В постнатальний період продовжується розвиток мозку — це головні фази гліогенезу і синаптогенезу. Всі ці процеси відбуваються в межах певного інтервалу часу, кожна стадія чітко спланована і послідовна.

Якщо процес розвитку в мозку зупинений або затримується, є невеликий потенціал для відновлення, але наслідки його можуть бути непередбачувані [1].

У нещодавніх епідеміологічних спостереженнях було показано, що діти, які підпадали під дію пестицидів у пренатальному періоді або в ранньому постнатальному періоді, страждають від різних неврологічних порушень. Вони проявляються нездатністю до навчання, гіперактивністю, порушенням уваги, аутизмом, загальним порушенням розвитку, а також виникненням емоційних і поведінкових реакцій. Епідеміологічні дослідження вказують на зв'язок пестицидів з порушеннями розвитку нервової системи у дітей, але їх складно ідентифікувати. У зв'язку з цим необхідно проводити цілеспрямовані нейротоксикологічні дослідження по вивченню впливу пестицидів у пре- та постнатальний періоди [2-6].

Ми зосередили увагу на інсектициді, що належить до групи синтетичних піретроїдів (аналоги природних піретроїдів) — альфа-циперметрину. Альфа-циперметрин відноситься до ціанопіретроїдів ((R)- α -ціано-N-феноксисибензил(1S,3S)-3-(2,2-дихлорвініл)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат), впливає на нервову систему комах. Вплив на нервову систему відбувається в результаті порушення процесів обміну іонів натрію, що призводить до деполаризації мембран, а порушення обміну іонів кальцію призводить до виділення великої кількості ацетилхоліну при проходженні нервового імпульсу через синаптичну

щілину [7]. При отруєнні людей синтетичними піретроїдами виникають порушення в діяльності центральної та периферичної нервової системи, зокрема порушення координації рухів, м'язового тону, ригідність м'язів, тремор, судоми [8-9]. Відомо, що ціановміщуючі піретроїди можуть взаємодіяти з рецепторами гама-аміномасляної кислоти в синапсах мозку, викликати порушення в функціонуванні екстрапірамідної системи і спінальних проміжних нейронів [10]. Таким чином, можна передбачити, що синтетичні піретроїди можуть впливати на діяльність центральної нервової системи молодих тварин, які в пренатальний період зазнали їх впливу.

Мета даної роботи – вивчити стан нервової системи щурят у постнатальному періоді за впливу альфа-циперметрину на вагітних самиць.

Матеріал та методи дослідження. Для досягнення мети вивчали поведінкові реакції щурят загальноприйнятими методами у токсикології, оскільки поведінкові реакції є індикатором як чистих сенсорних і рухових, так й інтегральних процесів у центральній і периферичній нервовій системі.

Експерименти були виконані на статевозрілих самицях щурів Wistar Han (маса тіла 180-210 г). Вагітні самиці були розподілені відповідно до доз препарату: 1 група – контроль; 2 група – 17,5 мг/кг маси тіла; 3 група – 35,0 мг/кг маси тіла; 4 група – 70,0 мг/кг маси тіла. Водна суспензія альфа-циперметрину готувалась щодня *ex tempore*. Препарат вводили натще зондом внутрішньошлунково з 6 по 15 добу вагітності (період основного органогенезу).

Дослідження поведінкових реакцій використовується для скринінгу різних токсичних речовин з метою визначення їхнього впливу на центральну нервову систему [11-17].

Для оцінки функціонального стану центральної нервової системи з кожної групи народжених щурят за 4 дні до початку експерименту було відібрано по 5 самців і 5 самиць з кожної групи, щурят з пасивним типом поведінки не брали в дослід. Поведінкові реакції оцінювалися за руховою активністю у «відкритому полі» Холла [11] (перетин квадратів, вертикальні стійки як компоненти орієнтовно-дослідницької реакції), рефлекторної діяльності («нірковому» рефлексу) [12]. Стан вегетативної системи оцінювали по дефекації (кількість фекальних болюсів), уринації, вмиванню (грумінг) та ін. [17].

«Відкрите поле» Холла представляє собою квадратну камеру розміром 900x900 мм з пластиковими стінками висотою 400 мм. Підлогою є лист пластику, поділений на 36 квадратів (150x150 мм). Над центром поля на

висоті 60 см підвішена лампа, яка дає рівномірне і яскраве освітлення. Установка знаходиться в затемненому приміщенні. Щурят поміщали в центр поля. Протягом 3-х хвилин візуально реєстрували такі поведінкові показники, як латентний період (ЛП) першого переміщення, кількість пересічених квадратів (горизонтальна активність), кількість підняття на задні лапки з опорою передніми лапами на бортик і без опори (вертикальна активність), кількість актів грумінгу, кількість фекальних болюсів, кількість актів обнюхування, рухів на місці, нерухомість. У ході експериментів реєстрували послідовність і тривалість кожного акту по секундах за допомогою секундоміра і записували дані. Установка для реєстрації «ніркового рефлексу» представляє собою квадратну камеру розміром 600x600 мм, дно якої має 12 нірок. З цих «нірок», 10 є несправжніми, а дві – справжніми, які з'єднуються між собою. Протягом 3-х хвилин реєстрували кількість заглядань у «нірки» і час знаходження тварин у справжній «нірці». Експерименти проводились на щурятах масою 60-80 г (три-тижневого віку) і 125-130 г (13 тиж). Тестування піддослідних тварин проводили ранком в один і той же час протягом експериментальних днів.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою t-критерію Стьюдента у випадку нормального розподілу ознак і критерію Манна-Уїтні у випадку відмінності закону розподілу від нормального (критичний рівень значущості статистичних даних приймали рівним при $p \leq 0,05$). База даних сформована в програмі Microsoft Excel. Розрахунки проведені в програмі Biostat [18].

Дослідження на тваринах проведені відповідно до принципів біоетики і вимог «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються в дослідницьких і наукових роботах» (Страсбург, 1986), постанови Першого національного конгресу з Біоетики (Київ, 2001) і Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», прийнятого 21 лютого 2006 року, а також відповідно до принципів біоетики і вимог Комісії з питань етики медичних та біологічних досліджень ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя МОЗ України».

Результати дослідження та їх обговорення. Відомо, що орієнтовно-дослідницька поведінка як прояв вищої нервової діяльності являє собою один з важливих типів поведінки, завдяки якому тварини отримують знання про довкілля та є суттєвим психологічним механізмом адаптації до змін зовнішніх умов [14-15].

Однією з характеристик орієнтувально-дослідницької поведінки щурят у тесті «відкрите поле» є латентний період (ЛП) першого переміщення піддослідних тварин, що дозволяє оцінити горизонтальну рухову активність. Потрапивши в незнайому обстановку, тварини відчувають напругу, яка зменшує пересування в полі майданчика. Після оцінки безпеки обстановки гризуни можуть вийти до центральних секторів, збільшуючи свою активність. Як видно з наведених даних у тритижневих щурят у групі з дозою 70,0 мг/кг спостерігалася тенденція подовження ЛП на 41,8 %, а через 13 тижнів – вже достовірно подовження ЛП ($p < 0,05$) на 186,76 %. Отже, кількість пересічених квадратів знижувалась: через 3 тижні – на 50,46 %, 13 тижнів – на 34,63 %. Збільшення часу ЛП і зменшення числа кількості пересічених квадратів свідчить про пригнічення орієнтувально-дослідницької поведінки і збільшення рівня дистресу. У щурят з груп 35,0 і 17,5 мг/кг достовірних змін горизонтальної рухової активності не було виявлено в порівнянні з групою контролю.

Відомо, що за показником «вертикальні стійки» оцінюють мотиваційну складову орієнтувально-дослідницької поведінки піддослідних тварин [17]. Приймаючи вертикальне положення, гризуни намагаються увійти в непрямий контакт з предметами, розташованими на відстані (принюхуються). Було виявлено (дані таблиці), що у щурят групи 70,0 мг/кг як тритижневих, так і тринадцятижневих спостерігалось зниження показника вертикальної активності – на 45,65 % і 52,38 % відповідно. Достовірних відмінностей досліджуваних показників у дозах 17,5 і 35,0 мг/кг не виявлено.

Дослідження пасивно-захисного рефлексу щурят та орієнтувально-дослідницької активності їх на відкритій площадці показало, що у піддослідних щурят, які підпадали під дію альфа-циперметрину в найвищій дозі, відмічалось зниження заглядувань у «нірки» (3 тиж. – на 18,46 %; 13 тиж. – 33,33 %) порівняно з рівнем контрольних тварин. Наведені дані можуть свідчити про наростання гальмівних процесів у центральній нервовій системі тварин.

За дії альфа-циперметрину показники емоційної активності знижувались, особливо у щурят 4 групи, а також тритижневих і тринадцятижневих. Причому при розгляданні окремих її компонентів відзначалося достовірне зменшення тривалості грумінгу – на 42,85 % і 68,75 %; зниження дефекації – 67,0 % і 69,92 % відповідно; уринація різко знижувалася, а в окремих особин навіть була відсутня. Це свідчить про порушення стану вегетативної системи піддослідних щурят.

Таким чином, за впливу альфа-циперметрину на вагітних самиць в максимальній дозі (70,0 мг/кг) у період активного органогенезу у щурят в постнатальному періоді розвитку спостерігаються стійкі функціональні порушення центральної та вегетативної нервової системи, що характеризується пригніченням горизонтальної та вертикальної рухової активності, «ніркового» рефлексу, емоційних форм поведінки. Виявлені зміни поведінкових реакцій можуть бути обумовлені негативним впливом альфа-циперметрину в пренатальний період, коли відбувається головна фаза нейрогенезу. Такий негативний вплив потім може відбиватись на функціонуванні медіаторних систем мозку в постнатальному періоді розвитку. Оскільки є відомості про те, що ціановміщуючі піретроїди можуть взаємодіяти з рецепторами гама-аміномасляної кислоти в синапсах мозку дорослих, то можна допустити, що альфа-циперметрин у період розвитку мозку може викликати у плодів щурів порушення розвитку нейронів хвостатого ядра, які продукують гама-аміномасляну кислоту. Недостатність гама-аміномасляної кислоти призводить до порушення процесів збудження та гальмування не тільки в периферійній, але і в центральній нервовій системі, викликаючи стан тривоги і депресії [7, 10, 19].

Висновок. Вплив альфа-циперметрину на вагітних самиць у період активного органогенезу плодів у дозі 70,0 мг/кг викликає гальмування рухової активності, орієнтувально-дослідницької поведінки щурят у різні періоди постнатального розвитку, що, імовірно, пов'язане з порушенням функціонування медіаторних систем мозку та недостатністю секреції гама-аміномасляної кислоти.

ЛІТЕРАТУРА

1. Rice D. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models / D. Rice, S Jr. Barone // *Environ Health Perspect.* – 2000. – № 108 (Suppl 3) – P.511–533.
2. Eskenazi B. Pesticide toxicity and the developing brain / B. Eskenazi, LG Rosas, AR Marks et al. // *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* – 2008. – Vol. 102 (2). – P. 228–236.
3. Jurewicz J. Prenatal and childhood exposure to pesticides and neurobehavioral development: review of epidemiological studies / J. Jurewicz, W. Hanke // *Int J. Occup. Med. Environ. Health.* – 2008. – Vol. 21(2). – P.121–132.
4. Ефимова А.А. Экология и здоровье детей / А.А. Ефимова // *Педиатрия.* – 1995. – №4. – С.49–50.
5. Кузнецова Л.В. Дети с задержкой психического развития (психологические основы, диагностика, коррекционная работа) / Л.В.Кузнецова // *М.:ИЗ-во ун-та Российской академии образования.* – 1995. – 68 с..
6. Афонина Е.В. Заболеваемость детей дошкольного возраста в зависимости от эколого-гигиенических условий / Е.В.Афонина, Нечаева Е.Н. // *Мат.Всеросс.науч.конф.*

- «Экология детства: социальные и медицинские проблемы». – СПб, 1994. – С.97–98.
7. *Narahashi T.* Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids / T.Narahashi // *Neurotoxicology*. – 1985. – V.2, N6. – P.3–22.
 8. *Grey A.J.* Mammalian toxicology of pyrethroids / A.J. Grey, D.M. Soderlund // *Insecticides** ed. by D.H. Hutson and T.R. Robert. – Chichester: John Wiley and Sons, 1985. – V. 5. – P. 207–212.
 9. Клинические проявления, лечение и отдаленные последствия острых отравлений синтетическими пиретроидами / Г.М. Балан, С.И.Иванова, И.В.Юрченко [и др.] // *Суч.проблеми токсикології*. – 2004. – №2. – С.43–46.
 10. *Калуев А.В.* Роль ГАМК в патогенезе тревоги и депрессии – нейрогенетика, нейрохимия и нейрофизиология / А.В. Калуев // *Нейронауки*. – 2006. – Т. 2, №4. – С. 29–41.
 11. *Hall C.S.* The method of open field / C.S.Hall // *J.Comparative Psychology*. – 1934. – №17. – P.89–93.
 12. *Boissier J.R.* L'utilisation d'une reaction de la souris (method de la place a trous) pour l'etude des medicaments psychotropes / J.R. Boissier, P. Simon // *J.Therapie*. – 1964. – Vol.19, №3. – P.571–585.
 13. *Буреш Я.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 385 с.
 14. *Буркацкая Е.Н.* Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования / Е.Н.Буркацкая, Витер В.Ф. – К., 1980. – 47 с.
 15. Методические рекомендации по изучению токсического действия пестицидов на развитие потомства / Л.Н. Бадаева, А.А. Белоусова, Н.В. Кокшарева [и др.] – К., 1989. – 17 с.
 16. К использованию показателей поведенческих реакций в токсикологическом эксперименте / А.Д. Фролова, Э.А. Дворкин, М.Б. Лисман [и др.] // *Гиг. и сан.* – 1980. – №8. – С.53–57.
 17. *Маркель А.А.* Метод комплексной регистрации поведенческих и вегетативных реакций у крыс при проведении теста "открытое поле" / А.А. Маркель, Р.А.Хухайнов // *Высшая нервная деятельность*. – 1976. – №6. – С.1314–1318.
 18. *Лопач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лопач, А.В. Губенко, П.Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.
 19. *Кокшарёва Н.В.* Синтетические пиретроиды: механизм нейротоксического действия, поиск средств лечения острых отравлений / Н.В. Кокшарёва, С.В. Вековщина, Н.А. Шушурина, В.Е. Кривенчук // *Современные проблемы токсикологии*. – 2000. – №3 – С.21–25.

СОСТОЯНИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫСЯТ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПРИ ВЛИЯНИИ АЛЬФА-ЦИПЕРМЕТРИНА НА БЕРЕМЕННЫХ САМОК

Н.А. Корнута, В.А. Перехрестенко, П.Г. Жминько

Резюме. Цель работы. Изучить состояние нервной системы крыс в постнатальном периоде при воздействии альфа-циперметрина на беременных самок.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на трехнедельных и тринадцатинедельных крысятах, которые в пренатальный период подвергались воздействию альфа-циперметрина в дозах 17,5; 35,0 и 70,0 мг / кг. Поведенческие реакции крыс изучали общепринятыми методами в токсикологии: двигательная активность в «открытом поле» Холла, «норковый» рефлекс, состояние вегетативной системы оценивали по дефекации, уринации, грумингу.

Результаты. В эксперименте установлено, что при введении беременным самкам крыс с 6 по 15 день беременности альфа-циперметрина в дозах 17,5 и 35,0 мг/кг, у рожденных от них крысят, не отмечалось изменений в поведенческих реакциях, тогда как при дозе 70,0 мг/кг наблюдалось угнетение ориентировочно-исследовательского и эмоционального поведения у подопытных животных.

Вывод. Влияние альфа-циперметрина в период активного органогенеза в дозе 70,0 мг / кг вызывает торможение двигательной активности и ориентировочно-исследовательского поведения крыс в разные периоды постнатального развития, что, возможно, связано с нарушением функционирования медиаторных систем мозга и недостаточностью секреции гамма-аминомасляной кислоты.

Ключевые слова: пренатальное влияние, альфа-циперметрин, постнатальный период, поведенческие реакции.

THE NERVOUS SYSTEM PUPS IN THE POSTNATAL PERIOD BY THE INFLUENCE OF ALFA-CYPERMETHRIN ON PREGNANT FEMALES

N. Kornuta, V. Perehrestenko, P. Zhminko

Summary. Objective. Examine the condition of the nervous system of rats in the postnatal period for alpha-cypermethrin impact on pregnant females.

Material and methods. The experiment was performed on rats 3-weeks and 13-weeks that in the prenatal period fell under the influence of alpha-cypermethrin in doses of 17.5; 35.0 and 70.0 mg/kg. Behavioral reactions rats conventional methods in toxicology: motor activity in the "open field" Hall, "mink" reflex, the state of the autonomic system was assessed by defecation, urynatsii, grooming.

Results. The experiment found that when administered to pregnant rats from 6 to 15 days of pregnancy by alpha-cypermethrin at a dose of 17.5 and 35.0 mg/kg in rats born to them was noted no change in behavioral reactions, where as at a dose of 70.0 mg/kg was observed inhibition roughly-research behavior in experimental animals.

Conclusion. Effect of alpha-cypermethrin in the period of major organogenesis at a dose of 70.0 mg/kg causes inhibition of motor activity and orienting-exploratory behavior of rats in different periods of postnatal development, possibly due to the violation of funktion mediatornih brain systems and inadequate secretion of gamma-aminobutyric acid.

Key words: prenatal influence, alpha-cypermethrin, postnatal period, behavioral responses.

Надійшла до редакції 11.12.2014 р.