

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО “НАУКОВИЙ ЦЕНТР ПРЕВЕНТИВНОЇ  
ТОКСИКОЛОГІЇ, ХАРЧОВОЇ ТА ХІМІЧНОЇ БЕЗПЕКИ ІМЕНІ АКАДЕМІКА  
Л.І. МЕДВЕДЯ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ”

**РАШКІВСЬКА ІННА ОЛЕКСАНДРІВНА**

УДК: 615.917:632.95:[591.48.044:591.366

**НЕЙРОТОКСИЧНА ДІЯ ЗЕТА-ЦИПЕРМЕТРИНУ НА ЩУРІВ ЗА УМОВ  
ЙОГО ВПЛИВУ В ПРЕ- І ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДАХ**

14.03.06 – токсикологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Державному підприємстві “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор,  
член-кореспондент НАМН України

**ПРОДАНЧУК Микола Георгійович,**

ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”, директор

**Офіційні опоненти:**

доктор біологічних наук, професор

**КОВАЛЕНКО Валентина Миколаївна,**

ДУ “Інститут фармакології та токсикології НАМН України”,  
завідувач відділу токсикології

кандидат медичних наук, старший науковий співробітник

**КІРСЕНКО Віктор Володимирович,**

ДУ “Інститут медицини праці імені Ю.І. Кундієва НАМН України», старший науковий співробітник лабораторії токсикології пестицидів та гігієни праці при їх застосуванні

Захист відбудеться “21” травня 2019 р. о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.630.01 ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”, за адресою: 03127, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 6.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”, за адресою: 03127, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 6.

Автореферат розісланий “17” квітня 2019 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат медичних наук

Г.І. Петрашенко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми досліджень.** Щороку у світі й Україні в сільському господарстві, промисловості та побуті зростають масштаби застосування різних інсектицидних препаратів, зокрема піретроїдного ряду. Синтетичні піретроїди (СП) є четвертою генерацією інсектицидів, що прийшли на зміну карбаматам, фосфорорганічним і хлорорганічним сполукам. У зв'язку з широким застосуванням СП прями й опосередковані наслідки їх впливу становлять значну загрозу для довкілля та здоров'я населення (Gajendiran A., 2018; Burns C.J., 2018).

Особливе занепокоєння викликає вплив СП на організм у періоди вагітності та лактації. Відомо, що нервова система плоду в процесі онтогенезу є однією з найбільш вразливих до впливу різних хімічних сполук, зокрема пестицидів. Накопичені епідеміологічні дані свідчать, що діти, які підпадали під вплив пестицидів, зокрема СП, під час пренатального та раннього постнатального періодів розвитку надалі страждали від різних неврологічних порушень. Вони включали аутизм, зміни поведінкових реакцій, гіперактивність, нездатність до навчання та різноманітні емоційні проблеми (Rice D., 2000; Garry V.F., 2004; Vjorling-Poulsen M., 2008; Кирилова Л.Г., 2010; Антипкін Ю. Г., 2015; Van Naarden B.K., 2015; Posar A., 2017). Через складність епідеміологічної ідентифікації хімічного фактора як нейротоксиканта основну інформацію можливо отримати в результаті проведення досліджень на лабораторних тваринах.

Одним з досліджень, що спрямоване на виявлення несприятливих ефектів на стадії розвитку та початку функціонування нервової системи в постнатальному періоді, є OECD guideline 426 (OECD Guideline for Testing of Chemicals; Guideline 426: Developmental Neurotoxicity Study, 2007). Дослідження, проведені відповідно до міжнародних методичних рекомендацій OECD guideline 426, дозволяють одержати відомості щодо нейротоксичного впливу хімічних речовин на нервову систему потомства, визначити характер і особливості їх токсичної дії, максимально переносимі та недіючі дози (Aoyama H., 2015).

Серед СП важливу роль відіграє група циперметринів (циперметрин, альфа-циперметрин, бета-циперметрин, зета-циперметрин). Циперметрин і його ізомери достатньо добре вивчені в токсикологічному плані на різних біологічних моделях, зокрема проведені дослідження щодо вивчення їх нейротоксичних властивостей на дорослих і молодих лабораторних тваринах (WHO. Cypermethrin., 1989; WHO. Alpha-cypermethrin., 1992; Wolansky M.J., 2008). Проте існує проблема, що пов'язана з відсутністю даних щодо впливу представників групи циперметринів, зокрема зета-циперметрину, в пре- та постнатальному періодах. У цьому контексті дослідження впливу зета-циперметрину – одного з відносно нових представників СП – на функціональний стан нервової системи і розвиток потомства є цілком обґрунтованим і доцільним.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з основним планом науково-дослідних робіт ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я 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 і 0112U001133). Автор була співвиконавцем вказаних тем.

**Мета роботи.** Ідентифікація та характеристика небезпечності нейротоксичної дії зета-циперметрину на потомство щурів за умов його впливу в ембріональному та ранньому постнатальному періодах онтогенезу.

**Завдання дослідження:**

1. З'ясувати токсичний вплив зета-циперметрину на організм вагітних і лактуючих самиць щурів P<sub>0</sub> покоління.
2. Дослідити вплив зета-циперметрину на фізичний і статевий розвиток, а також функціональний стан нервової системи потомства щурів F<sub>1</sub> покоління в постнатальному періоді.
3. Визначити характер впливу зета-циперметрину на функціональний стан нервової системи щурят F<sub>1</sub> покоління залежно від діючої дози.
4. Оцінити статеву чутливість потомства F<sub>1</sub> покоління до дії зета-циперметрину.
5. Вивчити токсичний вплив циперметрину на організм вагітних і лактуючих самиць P<sub>0</sub> покоління та функціональний стан нервової системи їхнього потомства F<sub>1</sub> у постнатальному періоді.
6. Провести порівняльний аналіз впливу зета-циперметрину та циперметрину на організм вагітних і лактуючих самиць P<sub>0</sub> покоління та функціональний стан нервової системи їхнього потомства F<sub>1</sub> покоління.
7. Обґрунтувати рівень недіючої дози (NOEL) зета-циперметрину за нейротоксичним ефектом для потомства F<sub>1</sub> покоління.

*Об'єкт дослідження:* зета-циперметрин, циперметрин, вагітні та лактуючі самиці Wistar Hannover і їхнє потомство.

*Предмет дослідження:* нейротоксичні властивості зета-циперметрину та циперметрину.

**Методи дослідження:** аналітичні, токсикологічні, нейрофізіологічні, морфометричні, статистичні методи досліджень.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше проведено ідентифікацію та характеристику небезпеки нейротоксичного ефекту зета-циперметрину на розвиток нервової системи щурів у періоди ембріогенезу та лактації.

Вперше встановлено, що синтетичний піретроїд зета-циперметрин у дозах 35 мг/кг і 70 мг/кг маси тіла за умов пре- та постнатальної експозиції впливає на фізичний і статевий розвиток потомства, а також функціональний стан їх нервової системи, спричиняючи затримку швидкості формування рухових рефлексів і змін у поведінкових реакціях у ранньому постнатальному розвитку.

Вперше виявлено, що в постнатальному періоді спостерігалися статеві відмінності в потомства до впливу зета-циперметрину. Затримка фізичного розвитку, швидкості формування рухових рефлексів і пригнічення поведінкових реакцій були більш виражені в самців, ніж у самиць щурят.

Вперше доведено вибіркочу вікову чутливість до впливу зета-циперметрину – потомство було більш чутливим до дії речовини, ніж вагітні та лактуючі самиці шурів.

Вперше продемонстровано, що зета-циперметрин виявляє більш виражений нейротоксичний вплив на потомство порівняно з циперметрином.

За результатами досліджень вперше науково обґрунтовано недіючий рівень зета-циперметрину за нейротоксичним ефектом для потомства.

**Практичне значення отриманих результатів.** Вперше в Україні в лабораторну практику впроваджено міжнародні підходи щодо вивчення нейротоксичного впливу пестицидів на організм, що знаходиться на стадії розвитку (OECD guideline 426 Developmental Neurotoxicity Study). Впровадження guideline 426 дозволить більш поглиблено досліджувати вплив нейротоксикантів на потомство за умов пре- та постнатальної експозиції (Акт впровадження від 20.12.2017 р.).

Вперше надано характеристику потенційної небезпеки впливу зета-циперметрину за нейротоксичним ефектом для потомства в пре- та постнатальному періодах, що враховано при розробці токсиколого-гігієнічної оцінки і регламентації умов безпечного застосування інсектициду та враховано під час державної санітарно-епідеміологічної експертизи реєстраційних матеріалів, за результатами якої інсектицид на основі зета-циперметрину “Ньюстар КЕ” включено до «Переліку пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні» зі статусом «постійна реєстрація» (Висновок №602-123-20-6/34136 від 26.10.2017 р.).

Рекомендовано не застосовувати в побуті, де перебувають вагітні жінки та діти, препарати на основі синтетичних піретроїдів, що дасть можливість уникнути їх впливу на організм і мінімізувати дію на плід та новонародженого.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний матеріал програми спеціалізації за спеціальністю “Токсикологія” кафедри військової токсикології, радіології та медичного захисту Української військово-медичної академії (Акт впровадження від 17.07.2018 р.), курсів “Професійні хвороби”, модуль 4 “Захворювання, викликані дією хімічних речовин з переважним ураженням нервової системи” кафедри загальної практики – сімейної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (Акт впровадження від 14.08.2018 р.), в наукову роботу Науково-дослідного інституту гігієни праці та профзахворювань Харківського національного медичного університету (Акт впровадження від 05.09.2018 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто проаналізовано вітчизняну та закордонну літературу, узагальнено отримані дані з обраної проблеми. Разом з науковим керівником сформульовано тему дисертаційної роботи, мету та задачі, обрано методи досліджень. Автором відпрацьовано методи досліджень, проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку та систематизацію отриманих даних. За консультативною допомогою к. біол. н. Н.О. Корнути здійснено експериментальну частину дослідження та підготовлено публікації за матеріалами дисертації. Експеримент з дослідження поведінкових реакцій потомства проведено за консультативною допомогою к. біол. н. М.Л.

Зінов'євої, м. н. с. Я.В. Колянчук. Обговорення результатів досліджень, формулювання висновків здійснено разом з науковим керівником. Оформлення дисертаційної роботи й автореферату виконано здобувачем самостійно.

**Апробація матеріалів дисертації.** Результати досліджень, викладені в дисертації, оприлюднені на: засіданнях Вченої ради ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України” (2015-2018 рр.), V хорватському конгресі з токсикології “CROTOX-2016” (м. Пореч, Хорватія, 9-12 жовтня 2016 р.); 53-му з’їзді Європейського товариства з токсикології “EUROTOX-2017” (м. Братислава, Словаччина, 10-13 вересня 2017 р.); регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції “Єдине здоров’я” та семінарі з рецензування та відбору наукових робіт (м. Київ, 24-28 квітня 2017 р.); регіональному науковому симпозиумі в рамках концепції “Єдине здоров’я” та семінарі з рецензування та відбору наукових робіт (м. Київ, 16-20 квітня 2018 р.); 54-му з’їзді Європейського товариства з токсикології “EUROTOX-2018” (м. Брюссель, Бельгія, 2-5 вересня 2018 р.).

**Публікації.** За результатами дисертації опубліковано 11 наукових робіт: 6 статей (2 одноосібні), з яких 6 у наукових фахових виданнях, включених до затвердженого Міністерством освіти і науки України переліку, 5 з яких входять до міжнародних наукометричних баз даних (Google Scholar, CrossRef, Ulrich’s Periodicals Directory, Index Copernicus, BASE (Bielefeld Academic Search Engine), Russian Science Citation Index, PИИЦ, Cyberleninka); 5 робіт у матеріалах з’їздів, наукових симпозиумів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертацію викладено українською мовою на 140 сторінках комп’ютерного тексту. Робота складається з анотації, вступу, огляду літературних джерел, матеріалів та методів дослідження, 2 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертація ілюстрована 14 рисунками, 30 таблицями. Список використаної літератури містить 133 джерела, зокрема 24 – кирилицею, 109 – латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У розділі «Огляд літератури» висвітлено сучасні уявлення про нейротоксичну дію СП, зокрема групи циперметринів, на цільові (комахи-шкідники) та нецільові організми. Наведено дані наукових робіт щодо вивчення механізму нейротоксичної дії цих сполук на різних біологічних моделях. Показано, що організм на стадії розвитку є найбільш чутливим до впливу СП. Значну увагу приділено проблемі важливості проведення досліджень впливу хімічних сполук у пре- та постнатальному періодах на функціональний стан нервової системи і розвиток потомства відповідно до вимог OECD guideline 426. Обґрунтовано доцільність вивчення нейротоксичної дії зета-циперметрину на потомство щурів за умов його впливу в пре- та постнатальному періодах згідно з OECD guideline 426 і вимогами GLP (Good Laboratory Practice).

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження виконано в ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка

Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України”, лабораторії експериментальної токсикології та мутагенезу. Експерименти проведено на 58 самицях щурів ( $P_0$  покоління) Wistar Hannover вагою 200-220 г і їхньому потомстві ( $F_1$  покоління).

Дослідження проведено відповідно до принципів GLP (Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004) та рекомендацій OECD guideline 426. Усі експерименти з тваринами здійснювали, дотримуючись Європейської конвенції “Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей” від 18.03.1986 р. (Страсбург, Франція), Закону України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” (2006). Комісією з питань етики медичних та біологічних досліджень ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України” (протокол № 120 від 29.08.2018 р.) не виявлено порушень морально-етичних норм під час проведення дослідів з тваринами.

Самиці  $P_0$  покоління були отримані з SPF розплідника ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України” та переміщені в конвенційний віварій бар'єрного типу лабораторії експериментальної токсикології та мутагенезу. Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та корму.

По завершенні періоду адаптації  $P_0$  самиці спарювалися з інтактними самцями. Після встановлення факту запліднення вагітні самиці були розділені відповідно до доз тестових субстанцій. Зета-циперметрин: 1 група – 0 мг/кг (контроль; дистильована вода з емульгатором ОП-10); 2 – 5 мг/кг; 3 – 12,5 мг/кг; 4 – 35 мг/кг; 5 – 70 мг/кг маси тіла. Циперметрин: 1 група – 0 мг/кг; 2 – 17,5 мг/кг; 3 – 35 мг/кг; 4 – 70 мг/кг маси тіла. У фаховій літературі відсутні дані щодо проведення дослідження впливу представників групи циперметринів у пре- та постнатальному періоді на функціональний стан нервової системи і розвиток потомства щурів у відповідності до вимог OECD guideline 426, тому вибір доз здійснювали на основі результатів досліджень з вивчення тератогенного та ембріотоксичного впливу зета-циперметрину та літературних даних по дослідженню нейротоксичних властивостей циперметрину на дорослих тваринах.

Експозиція самиць  $P_0$  покоління тривала з 6-го дня вагітності по 21-й день лактації. Впродовж експерименту оцінювали клінічний стан і зміни маси тіла  $P_0$  самиць на 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 дні вагітності та 0, 4, 13, 21 дні лактації.

Для дослідження функціонального стану нервової системи і розвитку потомства  $F_1$  покоління ділили на 5 когорт: у 1 когорті досліджували фізичний та статевий розвиток; 2 – швидкість формування рухових рефлексів; 3 – поведінкові реакції; 4 – статеву поведінку; 5 – пам'ять. У потомства щоденно відмічали загальний стан.

Після народження в кожному приплоді досліджували зміни маси тіла (на 0, 1, 4 дні після народження (ДПН)), визначали стать, оцінювали розмір приплоду, кількість живих і мертвих новонароджених. На 4 ДПН в кожному приплоді залишали рівну кількість самиць та самців щурят  $F_1$  покоління. Для оцінки

фізичного та статевого розвитку потомства ( $n=20$ ) вивчали динаміку відлипання вушних раковин (з 1 по 4 ДПН), появи первинного волосяного покриву (з 4 по 6 ДПН), прорізування різців (з 5 по 9 ДПН), відкриття очей (з 12 по 14 ДПН), опускання сім'яників (з 21 по 23 ДПН) та відкривання піхви (з 28 по 35 ДПН) (Стефанов О.В., 2001). Індивідуальні зміни маси тіла щурят оцінювали на 5, 7, 11, 13, 17, 21, 35, 45, 60 ДПН.

Швидкість формування рухових рефлексів у  $F_1$  щурят ( $n=15$ ) досліджували в наступних фізіологічних тестах: “Перевертання на площині” (з 4 по 6 ДПН) за методом J. Adams (1986), “Негативний геотаксис” (з 6 по 10 ДПН) за методом S. Alder і співавт. (1977), “Утримання на циліндрі, що обертається” (на 21 ДПН) за методом R.J. Hamt і співавт. (1994), “М’язова сила” (на 21 ДПН) за методом, описаним Д.С. Лисицьким (2015).

Поведінкові реакції потомства  $F_1$  покоління ( $n=26$ ) вивчали в тесті “відкритого поля” за методом C.S. Hall (1936) на 13, 17, 21 і 60 ДПН. Після оцінки поведінкових реакцій на 21 і 60 ДПН в щурів ( $n=13$ ) досліджували морфометричні показники мозку.

Оскільки для циперметрину нейротоксичний вплив на функціональний стан нервової системи потомства в постембріональному періоді не вивчений, для порівняльної характеристики впливу зета-циперметрину та циперметрину було проведене дослідження поведінкових реакцій щурят ( $n=16$ ) у тесті “відкритого поля” за методом C.S. Hall (1936) на 13 і 21 ДПН. Виходячи з принципів біоетики, дослідження, які проводилися раніше, не повторювалися.

Пам’ять  $F_1$  щурів ( $n=10$ ) вивчали в тесті “Т-лабіринт” за методом R.M.J. Deason (2006) на 60 ДПН. Статеву поведінку потомства (здатність до спарювання та тривалість прекоїтального інтервалу;  $n=10$ ) досліджували на 61 ДПН.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою 2-way ANOVA. Результати вважали вірогідно різними при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Ідентифікація та характеристика небезпеки нейротоксичного впливу зета-циперметрину на потомство за дії на вагітних і лактуючих самиць.** Самиці  $P_0$  покоління. Зета-циперметрин у дозах 5; 12,5 та 35 мг/кг маси тіла за його введення з 6 дня вагітності по 21 день лактації не впливав на загальний стан, перебіг і тривалість вагітності, зміни маси тіла у вагітних і лактуючих самиць  $P_0$  покоління. За дії зета-циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла у вагітних і лактуючих самиць були виявлені клінічні ознаки токсичного ефекту, що проявлялися у вигляді салівації (в одній самиці з 17 дня вагітності по 21 день лактації) та кров’янистих виділень з носа (в одній самиці з 20 дня вагітності по 21 день лактації); зниження приросту маси тіла в періоди вагітності (на 25,5 % ( $P \leq 0,01$ ) з 18 по 21 день) і лактації (на 60,8 % ( $P \leq 0,05$ ) з 0 по 21 день; на 49,9 % ( $P \leq 0,05$ ) у період з 0 по 4 день; на 70,9 % ( $P \leq 0,05$ ) у період з 4 по 13 день; на 71,4 % у період з 13 по 21 день). Отримані дані підтверджують, що зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняє токсичну дію на організм  $P_0$  самиць.



Потомство  $F_1$  покоління. Після народження серед приплодів усіх груп не виявлено мертвонароджених і щурят із зовнішніми аномаліями розвитку. Показники статевого співвідношення в контрольній та експериментальних групах тварин знаходилися в межах фізіологічних норм: самців народжувалося більше, ніж самиць. На 1 ДПН відмічалися випадки смертності новонароджених: у контролі – 1♀ та по 1♂ в усіх експериментальних групах. На 4 ДПН спостерігали смертність 1♂ лише в 5 групі. При дослідженні приросту середньої маси приплодів тільки в 5 групі відмічали зміни: в період з 1 по 4 ДПН спостерігали зниження приросту маси на 12,5 % ( $P \leq 0,05$ ). Загальний стан новонароджених щурят усіх піддослідних груп (їхні поведінка та зовнішній вигляд) не відрізнявся від контрольної.

Фізичний розвиток є одним з інтегративних показників стану організму, біологічної зрілості всіх його систем. Порушення фізичного розвитку може в подальшому призводити до непередбачуваних наслідків, зокрема функціональних змін в організмі (Garry V.F., 2004; Іванько О.Г., 2013; Ткаченко В.М., 2017). У наших дослідженнях вплив зета-циперметрину в дозах 5 мг/кг і 12,5 мг/кг маси тіла не спричиняв змін у фізичному розвитку потомства. За дії зета-циперметрину в дозах 35 мг/кг і 70 мг/кг маси тіла у  $F_1$  щурят була виявлена затримка фізичного розвитку, що характеризувалася зниженням приросту маси тіла в експозиційний період (у самиць 5 групи на 19,5 % ( $P \leq 0,01$ ); у самців 5 групи на 20,7 % ( $P \leq 0,01$ ), 4 групи на 14,9 % ( $P \leq 0,05$ ) у порівнянні с даними контролю).

Водночас відмічали затримку термінів інших параметрів фізичного та статевого розвитку в групах потомства, які отримували зета-циперметрин у дозах 35 і 70 мг/кг маси тіла. У  $F_1$  самиць і самців 5 групи відмічали затримку у відлипанні вушних раковин. На 2 ДПН у 85 % контрольних  $F_1$  самиць відбулося відлипання вушних раковин, тоді як у 5 групі лише в 35 % тварин. Завершення терміну відлипання вушних раковин у самиць відмічали на 3 ДПН (контроль – у 15 %; 5 група – 65 %). Відлипання вушних раковин на 2 ДПН відбулося у 95 % самців контрольної групи, 55 % – 5 групи. Завершення терміну відлипання вушних раковин на 3 ДПН спостерігали в 5 % самців контрольної групи, 35 % – 5 групи, на 4 ДПН – тільки у 10 % самців (рис. 1).

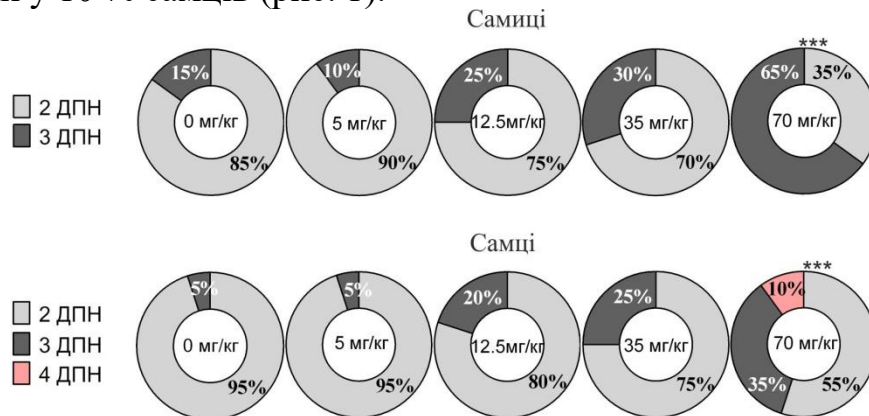


Рис. 1. Динаміка відлипання вушних раковин у самиць і самців щурят.  $n=20$ .  
\*\*\* –  $P \leq 0,001$  порівняно з контрольною групою.

У потомства обох статей усіх експериментальних груп не відмічали вірогідних змін у термінах появи первинного волосяного покриву порівняно з контрольною групою.

При дослідженні динаміки прорізування різців у  $F_1$  самиць 5 групи та  $F_1$  самців 4 та 5 груп спостерігали затримку в термінах. У 40 % контрольних самиць на 6 ДПН відмічали прорізування різців, тоді як завершення терміну їх прорізування відбулося на 8 ДПН. Лише у 10 % самиць, які підпадали під вплив зета-циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла на 6 ДПН спостерігали прорізування різців, а завершення терміну – на 9 ДПН. Отже, прорізування різців у самиць 5 групи було подовжене на одну добу. У 50 % самців контрольної групи на 6 ДПН відбулося прорізування різців, тоді як у 4 групі – у 25 %, а в 5 групі – тільки в 10 %. Повне прорізування різців у самців контрольної групи відмічали на 8 ДПН. Як і в самиць, у самців, які отримували зета-циперметрин у вищих дозах, спостерігали затримку термінів у їх прорізуванні на одну добу (рис. 2).

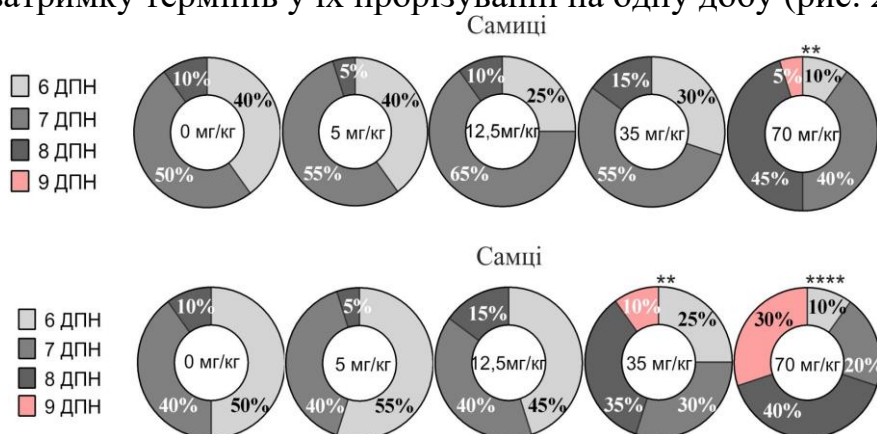


Рис. 2. Динаміка прорізування різців у самиць і самців щурят.  $n=20$ . \*\* –  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*\* –  $P \leq 0,0001$  порівняно з контрольною групою.

При дослідженні динаміки відкриття очей у самиць  $F_1$  покоління всіх експериментальних груп порівняно з контрольною не відмічали вірогідної різниці в термінах. У  $F_1$  самців спостерігали відставання термінів їх відкриття тільки в 4 та 5 групах. У контрольних самців відкриття очей починалося на 13 ДПН та закінчувалося на 14 ДПН (13 ДПН – 30 %; 14 ДПН – 70 %). Тоді як у групах самців, які отримували зета-циперметрин у дозах 35 і 70 мг/кг маси тіла, початок і завершення їх відкриття спостерігали тільки на 14 ДПН.

До фізичного розвитку потомства відносять параметр, як статеве дозрівання. Процеси фізичного і статевого розвитку взаємопов'язані та відображають загальні закономірності росту і розвитку організму (Garry V.F., 2004; Іванько О.Г., 2013). Для самиць – це відкривання піхви, самців – опускання сім'яників. Затримку термінів статевого дозрівання відмічали лише в щурят, які отримували зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла. У самиць контрольної та 2-4 груп початок відкривання піхви спостерігали на 31 ДПН, завершення – 34 ДПН. У 5 групі початок відкривання піхви відмічали тільки на 33 ДПН, завершення – 35 ДПН. У 75 % контрольних самців на 22 ДПН відбулося опускання сім'яників, тоді як у 5 групі їх опускання спостерігали в 25 % щурят (рис. 3).

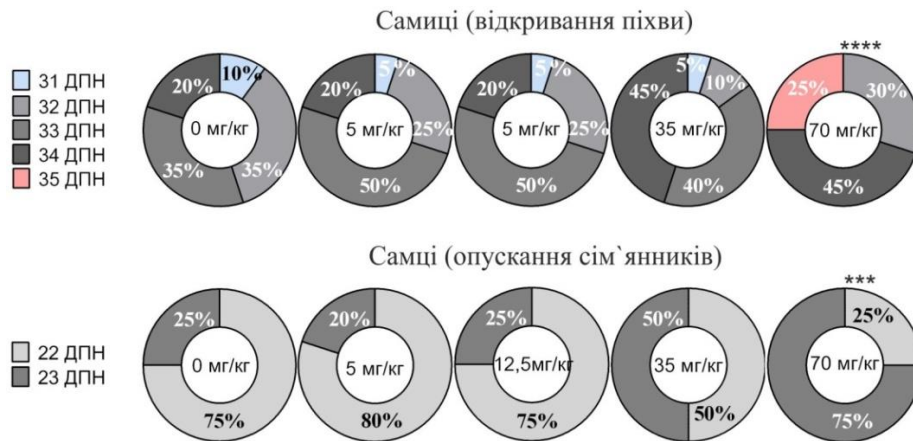


Рис. 3. Динаміка статевого дозрівання потомства.  $n=20$ . \*\*\* –  $P \leq 0,001$ ; \*\*\*\* –  $P \leq 0,0001$  порівняно з контрольною групою.

Отже, отримані дані показують, що зета-циперметрин у дозах 35 мг/кг і 70 мг/кг маси тіла спричиняє затримку фізичного та статевого розвитку у  $F_1$  потомства.

З фізичним розвитком організму тісно пов'язаний руховий розвиток, а саме здатність керувати своїм тілом. Руховий розвиток також залежить від стану нервової системи, тому при вивченні її функціонального розвитку важливим етапом є дослідження формування рухових рефлексів (Millan M., 2003; Nguyen A.T., 2017). У проведених дослідженнях було встановлено, що в самців, які отримували зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла, спостерігалася затримка у формуванні рухових рефлексів у тестах “перевертання на площині” та “негативний геотаксис”. За даними наукової літератури (Alder S., 1977; Adams J., 1986) відомо, що період формування рефлексу в тесті “перевертання на площині” відбувається з 4 по 6 ДПН, в тесті “негативний геотаксис” – з 6 по 9 ДПН. У тесті “перевертання на площині” у  $F_1$  потомства всіх груп рефлекс повністю сформувався на 9 ДПН (рис. 4).

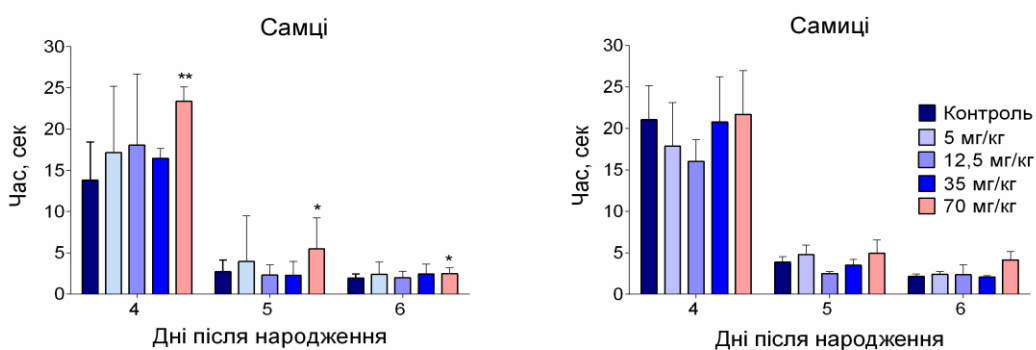


Рис. 4. Час, який щурята витрачали на виконання тесту “перевертання на площині” в період лактації.  $M \pm m$ ,  $n=15$ . \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$  порівняно з контрольною групою.

У самців 5 групи спостерігали збільшення часу, необхідного для виконання рефлексу в усі терміни дослідження (на 4 ДПН на 69,2 % ( $P \leq 0,01$ ), 5 ДПН на 101,5 % ( $P \leq 0,05$ ), 6 ДПН на 29,2 % ( $P \leq 0,05$ )).

У тесті “негативний геотаксис” у самців вже спостерігали не тільки

збільшення часу (на 7 ДПН на 35,2 % ( $P \leq 0,01$ ); 8 ДПН на 41,7 % ( $P \leq 0,05$ ); 9 ДПН на 59,2 % ( $P \leq 0,05$ ); 10 ДПН на 77,7 % ( $P \leq 0,05$ )), а й затримку формування рефлексу (контроль – 9 ДПН; 5 група – 10 ДПН) (рис. 5).

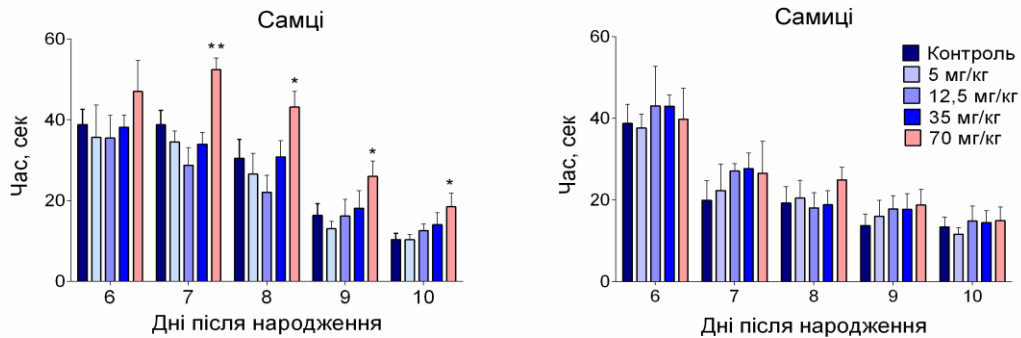


Рис. 5. Час, який самці щурят витрачали на виконання тесту “негативний геотаксис” у період лактації.  $M \pm m$ ,  $n=15$ . \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$  порівняно з контрольною групою.

Динамічні тести рухового розвитку “перевертання на площині” та “негативний геотаксис”, відображають стан функціонального розвитку мозочка та вестибулярного апарату (Millan M., 2003; Nguyen A.T., 2017). Для з’ясування ролі порушення стану вестибулярного апарату та м’язової сили щурят були проведені тести “утримання на циліндрі, що обертається” та “м’язова сила” наприкінці лактаційного періоду (21 ДПН). У тесті “утримання на циліндрі, що обертається” не було зареєстровано змін як у самиць, так і самців щурят. У тесті з оцінки “м’язової сили” в самиць усіх експериментальних груп і самців 2-4 груп не відмічали змін досліджуваного показника порівняно з даними контролю. У самців 5 групи спостерігали вірогідне зниження показників сили захоплення передніми лапами металевої сітки на 24,3 % ( $P \leq 0,05$ ) порівняно з контролем.

Оскільки стан рухових рефлексів у новонароджених є відображенням нормального чи патологічного дозрівання мозку, дані дослідження можуть свідчити про те, що затримка формування рухових рефлексів у самців, ймовірно, була пов’язана з токсичним впливом зета-циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла на мозочок тварин, що відповідає за нейромоторну функцію щурят. Результати, отримані в батареї функціональних тестів, показали, що зета-циперметрин у дозах 5; 12,5 та 35 мг/кг маси тіла не спричиняв змін у формуванні рухових рефлексів у самців і самиць  $F_1$  покоління.

Поведінкові реакції є чутливим показником, що дозволяє визначити наявність, характер і ступінь токсичного ураження нервової системи тварин. Тест «відкритого поля» є найпоширенішим серед токсикологічних досліджень при вивченні особливостей діяльності вищої нервової діяльності щурів, а саме їх поведінкових реакцій. У науковців не існує єдиної думки відносно мотивів, які визначають поведінку щурів в умовах «відкритого поля». Більшість вважають, що факторами, які визначають цю поведінку, є дослідницька мотивація і так звана емоційна реактивність, або емоційність. При цьому під емоційністю розуміють високий рівень емоційного дискомфорту, який виникає у щурів у відповідь на незнайоме оточення. Виходячи з цього, принцип тесту «відкритого поля» полягає в

дослідженні активності тварин у незвичному середовищі (Hall C.S., 1936; Gould T.D., 2009; Майоров О.Ю., 2011). У результаті проведених досліджень було встановлено, що зміни поведінкових реакцій потомства  $F_1$  покоління в умовах “відкритого поля” відбувалися в період лактації (13, 17 і 21 ДПН). У самиць 5 групи ці зміни характеризувалися порушенням психоемоційного стану (за показниками збільшення фризінгу на 13, 17, 21 ДПН та збільшення активів дефекацій на 46,7 % ( $P \leq 0,05$ ) і зменшення сумарної тривалості грумінгу на 29,7 % ( $P \leq 0,05$ ) на 21 ДПН), пригніченням рухової діяльності (зменшення перетнутих квадратів на 31,4 % ( $P \leq 0,01$ ) на 21 ДПН). У самців 5 групи відмічали порушення психоемоційного стану (за показниками збільшення фризінгу на 13, 17, 21 ДПН та збільшення активів дефекацій на 34,2 % ( $P \leq 0,05$ ) і зменшення сумарної кількості грумінгу на 43,2 % ( $P \leq 0,01$ ) на 21 ДПН), пригнічення рухової та пізнавальної діяльності (зменшення перетнутих квадратів (13, 17, 21 ДПН) і стійок на 46,8 % ( $P \leq 0,01$ ) на 21 ДПН), зниження адаптаційних властивостей (збільшення латентного періоду першого руху на 17 і 21 ДПН). У самців у дозі 35 мг/кг спостерігали порушення психоемоційного стану (збільшення фризінгу (17, 21 ДПН) та зменшення грумінгу на 30,6 % ( $P \leq 0,05$ ) на 21 ДПН).

Для оцінки відновлення поведінкових реакцій проводили дослідження в умовах “відкритого поля” на 60 ДПН. Було виявлено, що в період відсутності впливу зета-циперметрину (з 21 по 60 ДПН) спостерігалось відновлення емоційної складової, рухової активності й адаптаційних властивостей  $F_1$  самиць і самців щурів у всіх досліджуваних дозах.

На сьогодні дуже важливою й актуальною проблемою є з’ясування можливих механізмів, що лежать в основі різних проявів поведінкових реакцій у щурів, які піддавалися дії хімічних факторів у періоди вагітності та лактації. Відомо, що ціановмістимі СП, до яких відноситься і зета-циперметрин, можуть взаємодіяти з рецепторами гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) в синапсах мозку, викликати порушення в функціонуванні екстрапірамідної системи та спінальних проміжних нейронів. Вплив СП призводить до порушення процесів збудження та гальмування не тільки в периферійній, але й у центральній нервовій системі (Soderlund D.M., 2012; Patel M., 2016; Field L.M., 2017). Порушення процесів збудження та гальмування у нервовій системі спостерігали в проведених дослідженнях за умов впливу зета-циперметрину в дозах 35 мг/кг і 70 мг/кг маси тіла протягом 13, 17 та 21 ДПН в тесті “відкритого поля”. При відсутності надходження зета-циперметрину протягом 39 днів у щурів може відбуватися відновлення продукування ГАМК в нейронах хвостового ядра. Як наслідок, відновлюються їхні поведінкові реакції.

Оскільки виявлено пошкоджуючу дію зета-циперметрину на поведінкові реакції потомства  $F_1$  покоління в тесті “відкритого поля”, було важливо оцінити його потенційний вплив на статеву поведінку щурят.

Відомо, що статева функція є найважливішим компонентом репродуктивної системи організму. Статева диференціація мозку тварин відбувається відповідно до генетичної програми індивідуального розвитку. У щурів критичний період статевої диференціації мозку припадає на останні дні внутрішньоутробного розвитку та на перші дні після народження. У цей період ГАМК-ергічні механізми приймають



участь у пренатальному програмуванні нейроендокринної системи, відповідальної за ініціацію і завершення пубертатного процесу (Hull E.M., 2007; Solati J., 2010; Heijkoop R., 2017). У нашому дослідженні була встановлена відсутність впливу зета-циперметрину в усіх вивчених дозах на статеву поведінку потомства. Проте, зета-циперметрин в дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняв затримку термінів статевого дозрівання потомства (опускання сім'яників та відкриття піхви). Відомо, що зета-циперметрин може зв'язуватись з ГАМК. Можна припустити, що за дії зета-циперметрину в пре- і постнатальному періодах у дозі 70 мг/кг маси тіла в щурят виникало порушення продукування ГАМК, що негативно впливало на їх статево програмування. Цей негативний вплив і спричинив затримку термінів статевого дозрівання як у самців, так і у самиць F<sub>1</sub> покоління. У період з 35 по 60 ДПН в організмі щурів, ймовірно, відбувалося відновлення продукування ГАМК і в результаті відновлювалися ГАМК-ергічні механізми, що приймали участь у статевій поведінці тварин. Тому, на 60 ДПН ми не спостерігали змін у статевій поведінці F<sub>1</sub> щурів.

Пам'ять відіграє величезну роль у розумовому розвитку, аналізі отриманої інформації, освоєнні нових знань і навичок, виробленні пристосувальних реакцій індивідуума (Futter J.E., 2006). У результаті досліджень було встановлено, що зета-циперметрин не впливає на пам'ять самиць у всіх експериментальних групах. Натомість у самців, які отримували зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла, було виявлене збільшення часу, який тварини витрачали на виконання умов тесту, на 137,6 % (P≤0,05). Відсоток самців цієї групи, які правильно виконували умови тесту, не відрізнявся від даних контрольної групи (контроль – 70,0 % щурів; 5 група – 60,0 %). Проте, під час тестування самці 5 групи виглядали менш впевненими при виборі лівого чи правого рукава лабіринту. Така поведінка піддослідних тварин має деяку схожість з поведінкою хворих з діагнозом Паркінсона. Люди з цією хворобою мають складнощі при запуску рухових команд. Складність виконання рухових команд пов'язана з відсутністю дофаміну в смугастому тілі, що призводить до гальмування функції кори головного мозку (Giorgi O., 1987). Іншою ймовірною причиною збільшення часу вибору рукавів у самців 5 групи може бути вплив зета-циперметрину на пошукову активність тварин, що й спостерігали в проведених дослідженнях у тесті “відкритого поля” в самців щурят цієї групи. Відомо, що в основі поведінки тварини в лабіринті лежать його увага, реакція на нове навколишнє середовище та рухово-пошукова активність. Усі ці фактори впливають на прояв когнітивних здібностей у тварин (Conde S., 2000; Dudchenko P.A., 2004; Deacon R.M.J., 2006). За дії зета-циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла в самців щурів, ймовірно, знижується пошукова активність і, як наслідок, втрачається можливість до пізнання незнайомого оточення.

Підсумовуючи отримані результати, можна стверджувати, що нейротоксичний вплив зета-циперметрину в пре- та постнатальному періодах мав різноспрямований характер змін. Він супроводжувався порушенням фізичного розвитку (у дозі 70 мг/кг у самиць і самців; у дозі 35 мг/кг у самців), рухових рефлексів (у дозі 70 мг/кг у самців) і поведінкових реакцій (у дозі 70 мг/кг у самиць і самців; у дозі 35 мг/кг у самців). Слід зауважити, що зміни відмічалися в самиць і самців щурят тільки в період лактації, коли

зета-циперметрин продовжував надходити до організму потомства з молоком  $P_0$  самиць. Зміни, що відбувалися в організмі щурят у період надходження хімічних речовин, узгоджуються з точкою зору А.Г. Резникова (2007). Автор вважає, що вплив хімічних речовин у періоді вагітності викликає синдром пренатального стресу. Він може перешкоджати нормальному функціональному розвитку головного мозку, викликаючи неврологічні порушення в пізньому постнатальному періоді. Синдром пренатального стресу має широку симптоматику. Деякі симптоми, такі як психоемоційне напруження, можуть підлягати відновленню, що спостерігали при дослідженні поведінкових реакцій у тесті “відкритого поля” на 60 ДПН. А симптоми, такі як зниження пошукової активності, можуть тільки частково відновлюватися. Зменшення пошукової активності відмічали в самців, які отримували зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла, у тесті “Т-лабіринт” на 60 ДПН.

У результаті проведених досліджень була встановлена вибіркова вікова чутливість зета-циперметрину: потомство  $F_1$  покоління було більш чутливим, ніж вагітні та лактуючі самиці  $P_0$  покоління. Як тільки СП досягають нервової системи в достатній концентрації в пре- та постнатальному періодах, вони можуть спричиняти негативні нейротоксичні ефекти за відсутності токсичності для материнського організму. У зв'язку з цим викликає занепокоєння можливість токсичного впливу представників СП, а саме зета-циперметрину та циперметрину, на групу ризику, куди входять вагітні жінки, новонароджені та діти. Ми рекомендуємо жінкам, за можливості, уникати впливу інсектицидів піретроїдного ряду в період вагітності для мінімізації впливу на плід і в період лактації для мінімізації впливу на новонародженого через грудне молоко.

**Ідентифікація та характеристика небезпеки нейротоксичного впливу циперметрину на потомство за дії на вагітних і лактуючих самиць.** Для порівняння отриманих результатів було проведене дослідження впливу головного представника групи циперметринів (циперметрину) на організм  $P_0$  вагітних і лактуючих самиць у дозах 0; 17,5; 35 і 70 мг/кг маси тіла.

Самиці  $P_0$  покоління. Було встановлено, що експозиція циперметрином з 6 дня вагітності по 21 день лактації в дозах 17,5 мг/кг і 35 мг/кг маси тіла не впливала на загальний стан, перебіг і тривалість вагітності та зміни маси тіла у вагітних і лактуючих самиць. Надходження циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняло у вагітних і лактуючих самиць зниження приросту маси тіла: у періоді вагітності (з 18 по 21 день) на 34,7 % ( $P \leq 0,01$ ) і лактації (з 0 по 21 день) на 70,8 % ( $P \leq 0,01$ ), з 4 по 13 день на 71,4 % ( $P \leq 0,05$ ).

Потомство  $F_1$  покоління. Зважаючи на те, що поведінка тварин є загальноприйнятим маркерним показником пошкоджуючого впливу нейротоксикантів (Stanford S.C., 2007; Gould T.D., 2009), було проведене визначення дії циперметрину на поведінкові реакції щурят в умовах “відкритого поля”. Встановлено, що зміни поведінкових реакцій відбувалися тільки в самців щурів, що отримували препарат в дозі 70 мг/кг маси тіла. Зміни супроводжувалися пригніченням рухової діяльності (зменшення перетнутих квадратів на 13 і 21 ДПН) та зниженням адаптаційних властивостей (збільшення латентного періоду першого руху на 13 і 21 ДПН). Циперметрин не впливав на дослідницьку й емоційну активність тварин.

Отримані результати дозволили провести порівняльну характеристику нейротоксичних властивостей тестових субстанцій (зета-циперметрину та циперметрину).

На 13 ДПН за дії циперметрину в самців 5 групи відмічали збільшення латентного періоду першого руху на 38,0 % ( $P \leq 0,05$ ), що характеризувало зниження адаптаційних властивостей тварин (Майоров О.Ю., 2011) і зменшення їхньої рухової активності (кількості перетнутих квадратів) на 26,9 % ( $P \leq 0,05$ ) порівняно з контрольною групою. Зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняв зменшення рухової активності самців на 27,2 % ( $P \leq 0,05$ ). Циперметрин і зета-циперметрин не впливали на поведінкові реакції  $F_1$  самиць 5 групи.

На 21 ДПН при впливі циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла у  $F_1$  самців 5 групи спостерігали збільшення латентного періоду першого руху на 50,0 % ( $P \leq 0,01$ ) та зменшення рухової активності тварин на 32,2 % ( $P \leq 0,05$ ) відносно контролю. Зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняв зменшення рухової активності тварин на 27,3 % ( $P \leq 0,05$ ). Крім того, на 21 ДПН за дії зета-циперметрину у  $F_1$  самців 5 групи було зареєстроване зниження адаптаційних властивостей на 19,0 % ( $P \leq 0,05$ ), дослідницької активності щурят (кількості стійок) на 46,4 % ( $P \leq 0,01$ ) і сумарної тривалості грумінгу на 43,2 % ( $P \leq 0,05$ ), що є маркером тривожного стану тварин (Kaluff A.V., 2002). Слід зазначити, що в самців 4 групи також відмічали зменшення сумарної тривалості грумінгу на 30,6 % ( $P \leq 0,05$ ). Зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняв у  $F_1$  самиць зниження сумарної кількості грумінгу на 29,7 % ( $P \leq 0,05$ ) та рухової активності на 31,4 % ( $P \leq 0,01$ ) порівняно з контрольною групою.

У результаті проведеного порівняльного аналізу впливу циперметрину та зета-циперметрину на поведінкові реакції потомства в тесті “відкритого поля” було встановлено, що циперметрин у дозах 17,5 мг/кг і 35 мг/кг маси тіла не спричиняв порушень поведінкових реакцій щурят у період постнатального розвитку. Експозиція циперметрином в дозі 70 мг/кг у пре- та постнатальному періодах впливала на рухову активність та адаптаційні властивості  $F_1$  самців (за показниками збільшення латентного періоду першого руху та зменшення кількості перетнутих квадратів). Циперметрин не впливав на дослідницьку й емоційну активність тварин у всіх вивчених дозах.

За умов дії зета-циперметрину в дозі 12,5 мг/кг маси тіла у потомства  $F_1$  покоління не спостерігали порушень поведінкових реакцій. При впливі зета-циперметрину в самців 4 групи відмічали посилення тривожного стану (зменшення сумарної тривалості грумінгу). Зета-циперметрин у дозі 70 мг/кг спричиняв у потомства обох статей порушення психоемоційного стану ( $\sigma$ ♀ – зменшення показників грумінгу), пригнічення моторної та пізнавальної діяльності ( $\sigma$  – зниження кількості перетнутих квадратів і стійок, ♀ – зменшення кількості перетнутих квадратів), зниження адаптаційних властивостей ( $\sigma$  – збільшення латентного періоду першого руху).

Отже, підсумовуючи отримані результати порівняльної характеристики зета-циперметрину та циперметрину, можна відмітити, що більш виражений нейротоксичний ефект спостерігався в потомства, що підпадало під вплив зета-циперметрину. Цей ефект, ймовірно, можна пов'язати із залежністю “структура-



ефект”, що підтверджується кількісним співвідношенням між ізомерами цих речовин. Відомо, що циперметрин у своїй структурі вміщує 4 cis- і 4 trans-ізомери, їх співвідношення 50:50. Ці ізомери розрізняються за фізико-хімічними властивостями та біологічною активністю. Зі свого боку зета-циперметрин містить 4 найбільш активні ізомери циперметрину зі співвідношенням 45:55:55:45 з S-конфігурацією ціаногрупи (WHO. Cypermethrin, 1989; European Food Safety. Zeta-cypermethrin, 2008).

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведені нові експериментальні дані щодо нейротоксичного впливу синтетичного піретроїду зета-циперметрину на потомство в пре- та постнатальному періодах. З’ясований характер порушень функціонального стану нервової системи, встановлена вибіркова та статева чутливість до впливу наданої речовини.

1. Токсична дія зета-циперметрину для вагітних і лактуючих самиць  $F_0$  покоління за його введення з 6 дня вагітності по 21 день лактації в дозі 70 мг/кг маси тіла характеризувалася клінічними ознаками інтоксикації та вірогідним зниженням приросту маси тіла в період вагітності на 25,5 % ( $P \leq 0,01$ ) з 18 по 21 день і в період лактації на 60,8 % ( $P \leq 0,05$ ) з 0 по 21 день.

2. Встановлений дозозалежний характер впливу зета-циперметрину на функціональний стан нервової системи потомства щурів. Вплив зета-циперметрину в дозі 70 мг/кг маси тіла призводив до затримки фізичного розвитку, швидкості формування рухових рефлексів і змін поведінкових реакцій у щурят обох статей. Зета-циперметрин не спричиняв нейротоксичного ефекту в самиць  $F_1$  покоління у дозах 5; 12,5 і 35 мг/кг маси тіла; у самців  $F_1$  покоління – 5 мг/кг та 12,5 мг/кг маси тіла.

3. При впливі зета-циперметрину в пре- та постнатальному періодах виявлена статева чутливість у потомства  $F_1$  покоління. Самці були більш чутливі, ніж самиці, до дії зета-циперметрину.

4. Виявлена вибіркова вікова чутливість до токсичного впливу зета-циперметрину: потомство  $F_1$  покоління було більш чутливе до дії речовини, ніж вагітні та лактуючі самиці  $P_0$  покоління.

5. Токсична дія зета-циперметрину для вагітних і лактуючих самиць за його введення з 6 дня вагітності по 21 день лактації в дозі 70 мг/кг маси тіла характеризувалася вірогідним зниженням приросту маси тіла в період вагітності на 34,7 % ( $P \leq 0,01$ ) з 18 по 21 день і в період лактації на 17,1 % ( $P \leq 0,01$ ) з 0 по 21 день. Циперметрин у дозі 70 мг/кг маси тіла спричиняв зміни функціонального стану нервової системи потомства самців, що супроводжувалося змінами їхніх поведінкових реакцій.

6. Виявлений більш виражений вплив зета-циперметрину на функціональний стан нервової системи потомства, ніж циперметрину.

7. У результаті аналізу проведених досліджень науково обґрунтовані рівні недіючої дози зета-циперметрину за нейротоксичним ефектом для  $F_1$  потомства: для самиць – 35 мг/кг маси тіла; самців – 12,5 мг/кг маси тіла.

## СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### *Статті у наукових фахових виданнях України:*

1. Вплив генеричного циперметрину на поведінкові реакції щурів Wistar Hannover у період пре- і постнатального розвитку / **І.О. Рашківська**, М.Г. Проданчук, Н.О. Корнута, М.Л. Зінов'єва // Сучас. проблеми токсикології, харч. та хім. безпеки. – 2017. – № 4. – С. 12–17. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовлено статтю до друку)*
2. **Рашківська І.О.** Оцінка нейротоксичного впливу синтетичних піретроїдів: порівняльна характеристика нейротоксичної дії циперметрину та зета-циперметрину у пре- та постнатальному періоді / **І.О. Рашківська** // Сучас. проблеми токсикології, харч. та хім. безпеки. – 2018. – № 2/3. – С. 34–41.

### *Статті у фахових вітчизняних виданнях з міжнародним цитуванням:*

1. **Рашківська І.О.** Дослідження поведінкових реакцій щурят при дії зета-циперметрину у пре- та постнатальному періоді / **І.О. Рашківська**, М.Г. Проданчук, Н.О. Корнута // Вісн. проблем біології і медицини. – 2018. – Вип. 1, т. 2. – С. 65–72. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовлено статтю до друку)*
2. **Рашківська І.О.** Дослідження впливу зета-циперметрину в пре- та постнатальному періоді на фізичний розвиток щурят / **І.О. Рашківська**, Н.О. Корнута // Вісн. проблем біології і медицини. – 2018. – Вип. 2. – С. 90–95. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовлено статтю до друку)*
3. **Рашківська І.О.** Формування рухових рефлексів у щурят при дії зета-циперметрину у пре- та постнатальному періоді / **І.О. Рашківська**, Н.О. Корнута // Акт. проблеми транспорт. медицини. – 2018. – № 1. – С. 121–127. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовлено статтю до друку)*
4. **Рашківська І.О.** Проблема оцінки нейротоксичності пестицидів для організму, що розвивається / **І.О. Рашківська** // Мед. та клін. хімія. – 2018. – № 2. – С. 117–122.

### *Тези та матеріали конференцій:*

1. **Rashkivska I.** Wistar Hannover rat reproductive parameters / **I. Rashkivska**, Y. Kolyanchuk // Arh. Hig. Rada Toksikol. – 2016. – Vol. 67, Suppl. 1. – P. 36. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, представлено матеріали на конференції у вигляді стендової доповіді)*

2. **Rashkivska I.** Pre-and postnatal cypermethrin exposure in rats causes persistent behavioral alterations / I. Rashkivska, M. Prodanchuk, N. Kornuta, M. Zinovieva // *Toxicol. Lett.* – 2017. – Vol. 280, Suppl. 1. – P. S149. – Abstracts of the 53rd Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) Bratislava, Slovakia, 10-13 Sept. 2017. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, представлено матеріали на конференції у вигляді стендової доповіді)*
3. **Рашківська І.О.** Сучасні наукові підходи до досліджень нейротоксичності синтетичних піретроїдів у щурів в пре- та постнатальному періоді / І.О. Рашківська, М.Г. Проданчук, Н.О. Корнута, М.Л. Зінов'єва // СВЕР Ukraine Regional One Health Research Symposium and Peer Review Session. – 24-28 квітня 2017. – С. 180. *(Здобувачем проведено аналіз наукової літератури, представлено матеріали на конференції у вигляді стендової доповіді)*
4. **Рашківська І.О.** Використання тесту “відкритого поля” при оцінці нейротоксичних ефектів у щурят при впливі пестицидів / І.О. Рашківська, Н.О. Корнута, Я.В. Колянчук, М.Г. Проданчук // Збірник тез Третього щорічного регіонального наукового симпозиуму в рамках концепції «Єдине здоров'я» – 16-20 квітня 2018. – С. 168. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, представлено матеріали на конференції у вигляді стендової доповіді)*
5. Nedopytanska N. Developmental neurotoxicity study of zeta-cypermethrin / N. Nedopytanska, M. Prodanchuk, N. Kornuta, Y. Kolianchuk, T. Usenko, **I. Rashkivska** // *Toxicol. Lett.* – 2018. – Vol. 295, Suppl. 1. – P. S260. – Abstracts of the 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX), Belgium, Brussels, 2-5 Sept. 2018. *(Здобувачем заплановано, підготовлено та проведено експериментальне дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовлено тези)*

## АНОТАЦІЯ

**Рашківська І.О. Нейротоксична дія зета-циперметрину на щурів за умов його впливу в пре- і постнатальному періодах.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.06 – токсикологія. – Державне підприємство “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України”, Київ, 2019.

Дисертація присвячена дослідженню нейротоксичного впливу зета-циперметрину на нервову систему потомства F<sub>1</sub> покоління самиць щурів, які отримували тестову субстанцію з 6 дня вагітності по 21 день лактації в дозах 0; 5; 12,5; 35 і 70 мг/кг маси тіла. На підставі аналізу отриманих результатів показано, що зета-циперметрин у дозах 35 мг/кг і 70 мг/кг маси тіла спричиняє затримку фізичного розвитку та статевого дозрівання потомства F<sub>1</sub> покоління та впливає на функціональний стан нервової системи щурят у лактаційному періоді за показниками швидкості формування рухових рефлексів і змін поведінкових реакцій. Показано, що в постнатальному періоді спостерігалися статеві відмінності

в чутливості до дії зета-циперметрину на організм потомства: самці були більш чутливі, ніж самиці. Встановлена вибіркова вікова чутливість до загальнотоксичної дії зета-циперметрину:  $F_1$  потомство в лактаційному періоді було більш чутливе, ніж вагітні та лактуючі  $P_0$  самиці щурів. Для порівняльної оцінки системної та нейротоксичності зета-циперметрину та циперметрину проведені дослідження впливу циперметрину на вагітних і лактуючих самиць щурів і функціональний стан нервової системи їхнього потомства в аналогічних умовах експерименту. Продемонстровано, що зета-циперметрин виявляє більш виражений загальнотоксичний і нейротоксичний ефект порівняно з циперметрином.

За результатами досліджень науково обґрунтований недіючий рівень зета-циперметрину за нейротоксичним ефектом для потомства щурів в умовах проведених досліджень.

**Ключові слова:** пестициди, синтетичні піретроїди, зета-циперметрин, циперметрин, нервова система, guideline 426, пренатальний розвиток, постнатальний розвиток, фізичний розвиток, рухові рефлексії, поведінкові реакції, статеві поведінка, пам'ять.

## АННОТАЦІЯ

**Рашковская И.А. Нейротоксическое действие зета-циперметрина на крыс в условиях его влияния в пре- и постнатальном периодах. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.06 – токсикология. – Государственное предприятие “Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя Министерства здравоохранения Украины”, Киев, 2019.

Диссертация посвящена исследованию нейротоксического воздействия зета-циперметрина на нервную систему и развитие потомства самок крыс, получавших тестируемое соединение с 6 дня беременности по 21 день лактации в дозах 0; 5; 12,5; 35 и 70 мг/кг массы тела. На основании анализа полученных результатов было показано, что зета-циперметрин в дозах 35 мг/кг и 70 мг/кг массы тела вызывает задержку физического развития и полового созревания потомства  $F_1$  поколения и влияет на функциональное состояние нервной системы крысят в лактационном периоде по показателям скорости формирования двигательных рефлексов и поведенческих реакций. Показано, что в постнатальном периоде наблюдались половые различия в чувствительности к действию зета-циперметрина на организм потомства: самцы были более чувствительны, чем самки. Установлена избирательная возрастная чувствительность к общетоксическому действию зета-циперметрина:  $F_1$  потомство в лактационном периоде было более чувствительно, чем беременные и лактирующие самки  $P_0$  крыс. Для сравнительной оценки системной токсичности и нейротоксичности зета-циперметрина с циперметрином проведены исследования влияния циперметрина на беременных и лактирующих самок крыс  $P_0$  поколения и функциональное состояние нервной системы их потомства в тождественных условиях эксперимента. Продемонстрировано, что зета-циперметрин проявляет более выраженный общетоксический и нейротоксический эффект по сравнению с циперметрином.

По результатам исследований научно обоснован недействующий уровень зета-циперметрина по нейротоксическому эффекту для потомства крыс в условиях проведенных исследований.

**Ключевые слова:** пестициды, синтетические пиретроиды, зета-циперметрин, циперметрин, нервная система, guideline 426, пренатальное развитие, постнатальное развитие, физическое развитие, двигательные рефлексы, поведенческие реакции, половое поведение, память.

## ABSTRACT

**Rashkivska I.O. Neurotoxic effect of zeta-cypermethrin on rats under conditions of its influence in pre- and postnatal periods.** – Manuscript.

Dissertation for a scientific degree of candidate of biological sciences (PhD) in specialty 14.03.06 – toxicology. – State Enterprise “L.I. Medved Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health of Ukraine”, Kyiv, 2019.

Usage of different synthetic pyrethroids (SP) compounds in agriculture, industry and household is increasing every year in worldwide and Ukraine. SP are the fourth generation of insecticides that have replaced carbamates, organophosphorus and organochlorine compounds. Zeta-cypermethrin according to the chemical structure belongs to the second type of SP. Due to wide use of this type, their both direct and indirect effects constitute a significant threat to humans and animals.

Fetal nervous system is one of the most vulnerable to the effects of various chemical compounds, including pyrethroid compounds insecticides, during ontogeny periods. The epidemiological data demonstrate that children who were exposed to pesticides, including the SP, during the prenatal and early postnatal developmental periods, subsequently suffered from various neurological disorders. These neurological disorders include autism spectrum disorders, changes in behavioral reactions, attention deficit hyperactivity disorder, learning disabilities disorders and different emotional problems.

The dissertation is devoted to the study of the neurotoxic effects of zeta-cypermethrin on the nervous system of the offspring. Female rats were exposed to the test substance from day 6 of gestation to day 21 of lactation in doses of 0; 5; 12,5; 35 and 70 mg/kg/bw.

Studies were performed on 58 pregnant and lactating female Wistar Hannover rats and their offspring. Studies were conducted in accordance with OECD guideline 426 (Developmental Neurotoxicity Study) and GLP requirements.

During the course of the dissertation research, international methodological approaches to the study of neurotoxic effects of pesticides on the developing organism in accordance with OECD guideline 426 were introduced into the laboratory practice for the first time.

Basis of the analysis of the obtained results, it was shown that zeta-cypermethrin at dose of 70 mg/kg bw caused maternal toxicity of females P<sub>0</sub> generation. Zeta-cypermethrin at doses of 35 mg/kg/bw and 70 mg/kg/bw causes a retardation in physical

and sexual development of F<sub>1</sub> offspring and affected the functional state of the nervous system of rats in the lactation period in terms of the rate of motor reflex formation and behavioral reactions. It was represented that sexual differences in sensitivity to the action of zeta-cypermethrin on the offspring were observed in the postnatal period: males were more sensitive than females. The selective age sensitivity to the general toxic effect of zeta-cypermethrin was established: The F<sub>1</sub> offspring during the lactation period were more sensitive than the pregnant and lactating female rats. In order to assess the systemic toxicity and neurotoxicity of zeta-cypermethrin and cypermethrin, comparative studies of the effect of cypermethrin on pregnant and lactating female rats and on the functional state of the nervous system of their offspring under identical experimental conditions were conducted. Zeta-cypermethrin demonstrated more expressive general toxic and neurotoxic effects comparing with cypermethrin.

According to the obtained results, the no-observed-effect-level (NOEL) for the neurotoxic effect of zeta-cypermethrin for offspring has been scientifically justified for the first time. NOEL for offspring female rats was 35 mg/kg/bw and for the male rats – 12,5 mg/kg/bw.

The recommendation, whenever possible, is not to use synthetic pyrethroid-based agents indoor if pregnant women and children are present, so it will allow them to avoid the effects of these agents on the body and minimize its effects on the fetus and the newborn.

**Key words:** pesticides, synthetic pyrethroids, zeta-cypermethrin, cypermethrin, nervous system, guideline 426, prenatal development, postnatal development, physical development, motor reflexes, behavioral reactions, sexual behavior, memory.