

АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ

На правах рукопису

УДК 615.9;632.95;616.8.

ВЕКОВШИНІНА Світлана Віталіївна

**Нейротоксичність піретроїдів та їх комбінацій з
фосфорорганічними пестицидами**

14.03.11. - Токсикологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового
ступеня кандидата біологічних наук

Київ - 1998



00760160 (К)

дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Інституті здоров'я ім. Л.І. Медведя
МОЗ України.

Наукові керівники: доктор біологічних наук
Кокшарьова Наталія Володимирівна.
член-кореспондент НАН і АМН України,
професор Каган Юрій Соломонович

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Громов Леонід Олександрович

доктор біологічних наук, професор
Романенко Олександр Вікторович

Провідна організація: Інститут медицини праці

Захист відбудеться "11" квітня 1996 р. о год. на
засіданні спеціалізованої Вченої ради Д.01.44.01 при Інституті
фармакології та токсикології АМН України.

(252057, м. Київ-57, вул. Ежена Потье, 14).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотечі Інституту
фармакології та токсикології АМН України.

Автореферат розісланий " "1996 р.

Вчений секретар спеціалізованої ради,
доктор медичних наук

П.І. Серета

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Синтетичні піретроїди (СП) відносяться до групи штучно створених інсектицидних препаратів. Пизькі норми витрат (десятки і сотні грамів на га) у поєднанні зі здатністю піретроїдів до швидкої біодеградації дозволили значно поширити їх використання (одна третина кількості застосованих у світі інсектицидів) для захисту від шкідників сільськогосподарських культур, а також у побуті (Babu S.I., 1985).

Сьогодні велика кількість піретроїдів застосовується разом з фосфорорганічними пестицидами. Комбіноване використання зазначених препаратів пов'язане з тим, що при їх сумісній дії у 100 і більше разів посилюється інсектицидний ефект (Sawicki P.M., 1985).

Тим часом в умовах невиконання захисних засобів або порушення норм витрат, застосування СП та їх комбінацій з ФОС може призвести до виникнення гострих отруєнь, про що свідчить близько 500 зафіксованих випадків (He F. та інш., 1989).

В зв'язку з тим, що механізм дії СП та їх комбінації з ФОС залишається нез'ясованим, у клінічній практиці відсутні специфічні тести для виявлення отруєнь, які викликаються піретроїдами та їх комбінаціями з фосфорорганічними пестицидами, а лікування при цьому має лише симптоматичний характер.

Попередні дослідження на ссавцях довели, що при сумісній дії СП і ФОС спостерігається потенціювання їх токсичного ефекту (Каган Ю.С., Леоненко О.Б., Сасинович Л.М., 1993).

Враховуючи те, що піретроїди та ФОС відносяться до нейротоксикантів і деяким ФОС властива віддалена нейротоксична дія (ВНД), ще на стадії експериментального дослідження необхідно виявити характер комбінованого впливу зазначених сполук на нервову систему з тим, щоб запобігти, чи максимально знизити негативну дію досліджуваних препаратів на здоров'я людей.

Мета роботи. Визначення характеру нейротоксичної дії піретроїдів та їх комбінацій з ФОС для обґрунтування критеріїв оцінки їх небезпеки.

Завдання дослідження:

- вивчити вплив СП та їх комбінацій з ФОС на функціональний стан периферичної та центральної нервової системи щурів;
- визначити активність холінестерази у головному мозку та крові щурів при дії СП та їх комбінацій з ФОС;
- виявити характер дії досліджуваних препаратів та їх комбінацій на ацетилхолінові рецептори постсинаптичної нейрональної мембрани (на нейронах виноградного слимака);
- вивчити, як впливають СП на розвиток віддаленого нейротоксичного ефекту ФОС.

Наукова новизна роботи. Вперше показано, що:

- комбінована дія СП і ФОС на функціональний стан периферичної та центральної нервової системи щурів характеризується посиленням нейротоксичного ефекту;
- при комбінованій дії СП і ФОС порушується проникливість пре- і постсинаптичної мембрани;
- СП не впливають на розвиток віддаленого нейротоксичного ефекту ФОС.

Теоретичне значення роботи.

1. Доведено, що механізм токсичної дії піретроїдів пов'язаний зі зниженням збудливості центральної та периферичної нервових систем: порушенням орієнтувально-дослідного рефлексу, збільшенням рефрактерності периферичних аксонів, пригніченням міоневральної лабільності.

2. На нейронах слимака показано, що піретроїди (децис) викликають неспецифічне дозозалежне блокування ацетил-холінових рецепторів постсинаптичної мембрани.

3. Встановлено, що токсичний ефект при комбінованій дії СП і ФОС обумовлений збільшенням проникливості пресинаптичної мембрани та пригніченням ацетилхолін-залежного іонного струму у холінергічному синапсі.

4. Показано, що СП не спроможні викликати парези у відалені строки і не посилюють віддаленого нейротоксичного ефекту ФОС.

Практична цінність роботи. Виявлено, що важливими критеріями оцінки небезпеки нейротоксичної дії СП та їх комбінацій з ФОС у експерименті є: пригнічення орієнтувально-дослідної діяльності тварин, збільшення відносної та абсолютної рефрактерних фаз периферичних нервових волокон, порушення нервовом'язової передачі. Отримані результати довели, що спільне використання СП і ФОС не викликає посилення віддаленого нейротоксичного ефекту останніх.

Нові дані щодо механізму нейротоксичної дії СП були використані для розробки двох Інформаційних листів: "Лікування гострих отруєнь синтетичними піретроїдами в токсикогенній стадії" (підстава: Рішення ЕК "Фармакологія", протокол № 4 від 01.12.95) та "Спосіб прогнозування віддаленої нейротоксичної дії хімічних речовин" (підстава: Рішення ПК "Гігієна праці і профзахворювання", протокол № 13 від 22.09.95). Матеріали дисертаційної роботи використовуються у програмі лекцій післядипломної підготовки лікарів (Акт впровадження від 03.11.95) на кафедрі загальної та комунальної гігієни КДІУЛ (зав. каф. проф. М.О. Попович).

Апробація роботи. Матеріали дисертації доповідались на конференціях молодих учених і спеціалістів у НДІ ГП і ПЗ (Київ, 1990-1991), ВВДПНШТОКС (Київ, 1990); на IV пленумі Правління Воснно-медичної академії (Ленінград, 1990); на XII об'єднаному симпозиумі SIGR та IAA MRH, IUFRO (Київ, 1993), на Вченій Раді інституту здоров'я ім. Л.Л. Медведя (Київ, 1994), на 34-ому Європейському Конгресі по токсикології EUROTOX-95 (Прага, 1995).

Публікації. Матеріали дисертації відображені у 20 друкованих працях, з них 5 - написані самостійно.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 135 сторінках машинопису, має 16 таблиць і 25 малюнків. Вона складається з таких розділів: вступ, огляд літератури, завдання та методи дослідження, власні дослідження (7 розділів), обговорення результатів, висновки, список використаних джерел (192 джерела, з них 143 іноземних), додаток.

Положення, що виносяться на захист.

1. Піретроїди (децис, цимбуш, сумі-альфа) в токсичних дозах викликають порушення функціонального стану центральної та периферичної нервових систем щурів, що підтверджується пригніченням орієнтувально-дослідної діяльності, збільшенням рефрактерності периферичних нервових волокон, зниженням міоневральної лабільності, доза-залежним блокуванням ацетил-холінових рецепторів (на нейронах слимака).

2. При комбінованій дії низки СП і ФОС (децис і білофос; сумі-альфа і фозалон) у дозах 0,1 - 1 ЛД₅₀ підсилюється їх нейротоксичний ефект, що проявляється у більш виразному зниженні дослідної активності, пригніченні проведення імпульсу у нервовом'язових синапсах щурів, блокуванні АХ-рецепторів постсинаптичної нейрональної мембрани слимака в порівнянні з окремим застосуванням препаратів.

3. СП і ФОС (децис та білофос) виявляють односпрямований вплив на проникливість пре- і постсинаптичної нейрональної мембрани, що може використовуватися у скринінгу комбінацій даних препаратів на нейротоксичність.

4. Препарати з групи синтетичних піретроїдів (суміцидин, цимбуш, децис) не виявляють віддалений нейротоксичний ефект і не посилюють нейропаралітичну дію ФОС (ТОКФ, карбофос, хлорофос).

Особистий внесок дисертанта у розробку наукових результатів.
Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, виконав

всі токсикологічні, біохімічні, електрофізіологічні, поведінкові дослідження, статистичну обробку і аналіз результатів експериментів. Гістохімічні та морфологічні дослідження виконані під керівництвом д.м.н., проф. Л.М. Бадаєвої. Електрофізіологічні дослідження на нейронах слимака виконані разом з к.б.н. О.А. Осипенко. Обсяг досліджень, виконаних самостійно складає 80 %.

ЗМІСТ РОБОТИ.

Матеріали та методи досліджень. В дослідях використані білі щури обох статей (600 особин), курки (75 особин) та виноградні слимаки.

Вивчалась нейротоксична дія СП: дедиса (2,5 % к.е., 100 % х/ч), суміцидина (20 % к.е.), сумі-альфа (5,2 % к.е., 96,5 % паста), цимбуша (25 % к.е.), а також їх комбінації з ФОС: білофосом (50 % к.е.), карбофосом (50 % к.е.), хлорофосом (20 % плав), фозалоном (30 % см.п.) і триортокрезилфосфатом (ТОКФ). Препарати вводили одноразово перорально у вигляді водних емульсій або розчинів на соняшниковій олії.

В роботі застосовані токсикологічні, біохімічні, електрофізіологічні, поведінкові методи. Гістохімічні, гістологічні та морфологічні дослідження виконані під керівництвом д.м.н., проф. Л.М. Бадаєвої.

Активність холінестерази (ХЕ) у біосубстратах щурів (головної мозок, кров) визначали методом Ellman (1961) через одну, чотири та 24 години після введення сумі-альфа (1 ЛД₅₀) та його комбінації з фозалоном (0,2 ЛД₅₀).

Вплив СП та їх комбінацій з ФОС на функціональний стан периферичної нервової системи визначали за допомогою електрофізіологічного методу (Ковтун С.Д., Кокшарьова П.В., 1980). Вимірювали швидкість розповсюдження збудження (ШРЗ) по хвостовому (n. caudalis) та сідничному (n. ischiadicus) нервах щурів, тривалість абсолютної та відносної рефрактерних фаз (АРФ, ВРФ), викликані потенціали дії латерального (m. lateralis) та литкового

(m. gastrocnemius) м'язів на непряме подразнення нервів імпульсами високої (200-100 Гц) та низької (50-30 Гц) частот. Стан первовом'язової передачі оцінювали по зниженню амплітуди потенціалу дії м'яза. Дози препаратів складали 0,1-1 ЛД₅₀.

Вивчення активності синаптичної ХЕ проводилось у моторних кінцівках сідничного нерву щурів методом Жеребцова через 24 години після введення білофосу і децису у дозі 0,1 і 0,2 ЛД₅₀ (Копонский А.И., 1976).

Центральна дія СП та їх комбінацій з ФОС вивчалась за допомогою методу виробки орієнтувально-дослідного рефлексу щурів у відкритому полі (Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П., 1991). Реєстрували латентний період (ЛП) початку руху, горизонтальну активність (ГА) і вертикальну активність (ВА) на протязі 3-х хвилин. Фонові показники обчислювались як середні з 3-х вимірів. Показники реєстрували через 4, 24, 48 годин після дії сумі-альфа (0,2 ЛД₅₀), а також комбінацій сумі-альфа і фозалону та білофосу і децису (0,02-0,1 ЛД₅₀).

Для вивчення впливу вказаних препаратів на функціональний стан хемозбуджених іонних каналів використовувався електрофізіологічний метод фіксації напруги на мембрані (Kiss T., Osipenko O., 1991). Досліди виконані на базі Інституту фізіології ім О.О. Богомольця НАН України. Об'єктами дослідження були нейрони В6 виноградного слимака (*Helix pomatia* L.). Вивчали роздільну та комбіновану дію децису та білофосу на величину ацетилхолін-залежного (АХ-залежного) іонного струму (при нарузі на мембрані від -30 до -60 мВ). Коефіцієнт Хілла визначали як тангенс кута нахилу графічного малюнка залежності "доза-ефект". Константа дисоціації (Кд) визначала концентрацію препарату, що викликає 50 % ефект. Концентрації вказаних препаратів складали 0,1; 1; 10; 100 та 1000 мкМ.

Можливість впливу СП на розвиток віддалених нейропатій ФОС вивчалась на курах і щурах. На протязі 28 діб дослідження спостерігалась клінічна картина прояву інтоксикації, зміни ШРЗ по гілці малогомілкового нерву (n. fibularis) курки. Активність

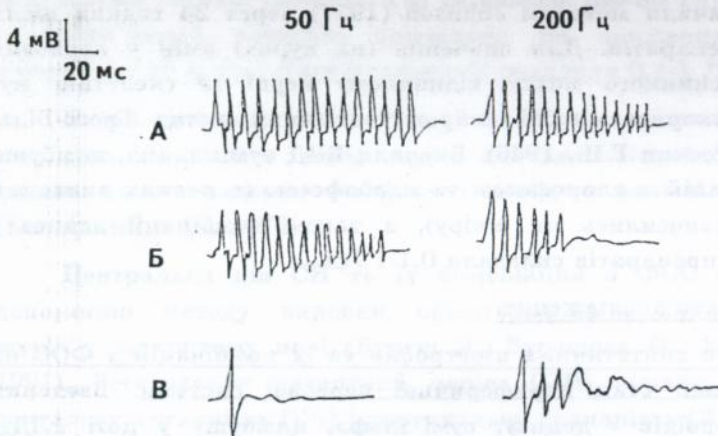
нейротоксичної естерази (НТЕ) в головному мозку підослідних тварин визначали методом Johnson (1977) через 24 години після введення препаратів. Для вивчення (на курах) змін у нервових структурах спинного мозку, сідничному нерві та скелетній мускулатурі використовували нейрогістологічний метод Гросс-Більшовського (Роскин Г.И., 1946). Вивчали ВНД суміцидина, цимбуша та їх комбінацій з хлорофосом та карбофосом (в деяких випадках препарати наносились на шкіру), а також комбінації дециса і ТОКФ. Дози препаратів складали 0,1-1 ЛД₅₀.

Результати дослідження.

1. Вплив синтетичних піретроїдів та їх комбінацій з ФОС на функціональний стан периферичної нервової системи. Введення шурам піретроїдів - децису, сумі-альфа, цимбушу у дозі 1ЛД₅₀ викликало різке (на 50-200 %) подовження АРФ та ВРФ як сідничного, так і хвостового нервів, порушення міоневральної лабільності (зниження амплітуди потенціалів дії скелетних м'язів) при подразненнях нервів імпульсами - 50 - 100 Гц. В деяких випадках (децис, сумі-альфа) спостерігали зниження ШРЗ, виникнення декількох (3-4) спонтанних розрядів м'яза на поодинокое подразнення нерва.

При комбінованій дії білофосу і децису та фозалону і сумі-альфа на функціональний стан периферичної нервової системи шурів у широкому діапазоні доз 0,1-1 ЛД₅₀ зміни рефрактерності суттєво не відрізнялись від змін при окремому введенні препаратів. Тим часом стан нервовом'язового синапсу значно погіршувався, про що свідчить значне зниження амплітуди потенціалу дії м'яза при частоті 30-50 Гц та його блокування на більшій частоті - 100-200 Гц (Мал. 1). Зміна нервовом'язового проведення спостерігалась навіть при використанні таких доз, дія яких за іншими електрофізіологічними показниками була підпороговою (0,02-0,04 ЛД₅₀).

Морфологічне дослідження підтвердило виразніші деструктивні процеси у периферичних нервах та скелетних м'язах шурів при сумісній дії білофосу і децису у низьких дозах (0,1-0,2 ЛД₅₀).



Мал. 1. Потенціали дії литкового м'язу щура на ритмічне подразнення нерву через 4 години після сумісного введення СП та ФОС: а - контроль; б - білофос+децис (0,1+0,1 ЛД₅₀); в - білофос+децис (0,2+0,2 ЛД₅₀).

Спостерігалось набухання пресинаптичних бляшок, звивистість міофібрил, гомогенізація саркоплазми. Однак, при цьому активність синаптичної ХЕ не змінювалась в порівнянні з дією одного ФОС (білофос).

Проведене дослідження показало, що механізм токсичної дії СП пов'язаний з їх впливом на периферичні аксони. При сумісному введенні СП та ФОС спостерігається посилення їх токсичної дії на нервовом'язовий синапс.

2. Орієнтувально-дослідна діяльність тварин при дії піретроїдів та їх комбінації з ФОС. Клінічна картина інтоксикацій при введенні сумі-альфа (0,2 ЛД₅₀) характеризувалась збудженням М- і Н-холинореактивних систем (тремор, гіперсаливація, порушення координації руху). Дослідження орієнтувально-дослідної активності

виявило (через чотири години після введення СП) значне подовження (у чотири рази) ЛШ; зниження (на 50 %) ВА та ГА. Збільшення ЛШ зберігалось на протязі 24 годин після дії сумі-альфа, що свідчить про сповільнене формування габітуації до умов відкритого поля.

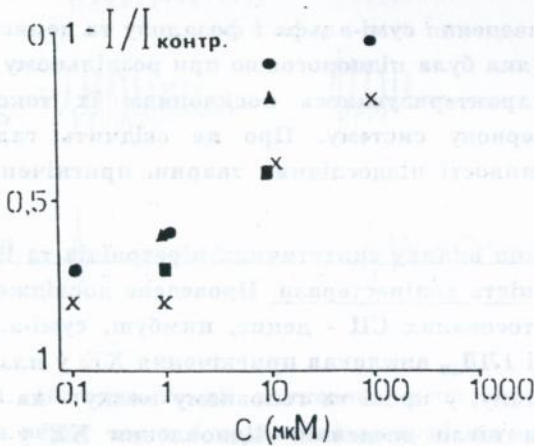
Спільне введення сумі-альфа і фозалону та децису і білофосу у дозі 0,1 ЛД₅₀ (яка була підпороговою при роздільному використанні препаратів) характеризувалось посиленням їх токсичної дії на центральну нервову систему. Про це свідчить гальмування та зниження чутливості піддослідних тварин, пригнічення ВА та ГА (на 20-50 %).

3. Вивчення впливу синтетичних піретроїдів та їх комбінації з ФОС на активність холінерази. Проведене дослідження свідчить, що з усіх застосованих СП - децис, цимбуш, сумі-альфа - тільки останній у дозі 1ЛД₅₀ викликав пригнічення ХЕ: у плазмі - на 40 % через одну годину, у крові та головному мозку - на 60-80% через чотири години після введення. Відновлення ХЕ у біосубстратах помічали у цільній крові через 24, а у мозку - через 48 годин.

Вивчення комбінованої дії сумі-альфа і фозалону у дозі 0,2 ЛД₅₀ на активність ХЕ виявило таке саме пригнічення ферменту, як і при введенні фозалону (на 40-60 %), що свідчить про нездатність СП підсилювати антихолінеразний ефект ФОС.

4. Вплив піретроїдів та їх комбінацій з ФОС на холіно-рецептори нейрональних мембран. Показана односпрямована дія СП (децис) та ФОС (білофос) на функцію АХ-рецепторів. При цьому аплікація вказаних пестицидів у концентраціях 1-1000 мкМ виявила зниження (на 30-60 %) амплітуди потенціалу дії нейронів. Проте ефективність блокування АХ-залежного іонного струму під впливом білофосу була на порядок вища. Залежність "доза-ефект" та величина коефіцієнту Хілла (<1) свідчили про відсутність специфічності та кооперативності при зв'язуванні СП та ФОС з АХ-рецепторами.

При комбінованій дії децису і білофосу спостерігалось посилення їх ефекту, про що свідчить більше зниження амплітуди АХ-залежного іонного струму у порівнянні з окремою аплікацією препаратів (Мал. 2). Визначена величина коефіцієнту Хілла та



Мал. 2. Залежність величини АХ-залежного іонного струму від концентрації дециса і ФОС при їх сумісній та окремій аплікації: x - децис; ■ - білофос; ▲, ● - децис+білофос.

характер комбінованої дії (за методом Фіні на основі константи дисоціації) свідчать про те, що в цьому разі має місце неповна сумарність (або частковий антагонізм).

5. Вплив синтетичних піретроїдів на віддалений нейротоксичний ефект ФОС. На моделі отруєння курей суміцидином і цимбушем доведено, що СП не мають властивостей викликати ВНД. Спостереження за піддослідними птахами після введення токсичних доз (1 ЛД₅₀) СП показало, що атаксія, парези і паралічі на протязі 30-ти діб не виникали. Ознаки клінічних проявів інтоксикації (діарея, малорухливість) зберігались лише в перші три доби. При вивченні функціонального стану периферичної нервової системи на

7-ий і 21-ий день дослідження спостерігалось деяке (на 20-30 %) зниження ШРЗ по периферичних нервах курей, яке в подальшому (на 30-ту добу) приходило до норми. Активність НТЕ в головному мозку тварин (70-80 % до контролю) також суттєво не змінювалась.

Для з'ясування ролі СП в розвитку віддалених нейропатій ФОС курам вводили ТОКФ у дозі 100 мг/кг (1/5-1/7 від нейропаралітичної дози) разом з децисом у дозі 0,2 ЛД₅₀. Після введення ТОКФ у курей спостерігалась лише атаксія. При сумісній дії ТОКФ та децису клінічна картина практично не змінювалась в порівнянні з дією одного ФОС, і характеризувалась відсутністю парезів і паралічів на протязі експерименту. При цьому ШРЗ по периферичним нервам птахів практично не відрізнялась від контролю. Активність НТЕ (40 % від контролю) була приблизно така ж, як і при введенні одного ТОКФ.

Відомо, що нейротоксична дія значно посилюється при нанесенні препаратів на шкіру. В наших дослідях нанесення курам на шкіру комбінацій суміцидин+димбуш+карбофос (I) та суміцидин+димбуш+хлорофос (II) у дозі 0,1 ЛД₅₀ (кожного) викликало порушення ходи (атаксію) на 14-21 добу. В цей час ШРЗ по периферичному нерву курей знижувалася на 30 %. Однак зміни були зворотними, і на 28-му добу у всіх піддослідних групах відмічалась нормалізація ШРЗ. Застосування комбінації пестицидів у дозі 0,2 ЛД₅₀ не викликало суттєвих змін активності НТЕ в головному мозку шурів.

Нейрогістологічне дослідження не виявило розвитку процесу демієлінізації у курей на 21-шу - 25-ту добу після нанесення 1-ої комбінації. При цьому в передніх рогах спинного мозку відмічали - перицелюлярний набряк нейронів, в скелетних м'язах - набухання та дрібновогнищеві крововиливи, в сідничному нерві - набухання аксоплазми товстих миєлінових волокон, вогнищеву дезагрегацію миєліну. При нанесенні на шкіру 2-ої комбінації спостерігались лише реактивні, зворотні зміни нервових структур. Таким чином, було доведено, що СП не мають властивостей

викликати ВВД і не впливають на розвиток цієї патології при комбінованій дії з ФОС.

Обговорення результатів дослідження.

Отримані нами дані про вплив піретроїдів на функціональний стан периферичної та центральної нервових систем щурів пояснюються здатністю цих речовин посилювати активацію вхідного На-струму у період генерації потенціалу дії нейронів, внаслідок чого підвищується період незбудженості (рефрактерності) нервового волокна, порушується генерація імпульсу у перехватах Ранв'є (падіння ШРЗ). Чисельні спонтанні розряди, які виникають у м'язі, свідчать про здатність цих речовин підвищувати деполяризацію пресинаптичних закінчень, що веде до збільшення реалізації АХ, порушення міоневральної лабільності. Властивість СП змінювати трансмембранні іонні процеси призводить до зниження загальної неспецифічної активації мозку, яка має місце під час орієнтувально-дослідної діяльності (Котляр Б.И., 1986). Це проявляється змінами поведінкової активності піддослідних тварин у відкритому полі, повільності формування умовного рефлексу звикання (габітуації).

Одним з найважливіших показників функціонального стану нервової системи є активність холінестераз, дія яких спрямована на розщеплювання ацетилхоліну (Lepage J., 1985). Дані літератури щодо здатності піретроїдів пригнічувати холінестеразну активність суперечливі (Hollinger Н. та інш., 1983; Каган Ю.С., Паньшина Т.Н., Сасинович Л.М., 1986). У наших дослідженнях тільки один піретроїд - сумі-альфа у високій дозі - 1ЛД₅₀ викликав антихолінестеразний ефект, що свідчить про другорядність цього ефекту в системі нейротоксичної дії піретроїдів. Результати дослідження на нейронах слимака показали, що піретроїди викликають доза-залежне блокування АХ-рецепторів. Високу спорідненість піретроїдів при зв'язуванні з нікотинними АХ-рецепторами також спостерігали інші автори (Eldefrawi M.E., Abbassy M.A., Eldefrawi A.T., 1984). Одержані нами дані підтверджують здатність

піретроїдів викликати функціональні зміни постсинаптичної мембрани. Неспецифічний і некооперативний характер зв'язування СП з АХ-рецепторами свідчить про дію даних препаратів на хемозбудженні іонні канали. Здатність піретроїдів пригнічувати функцію пре- і постсинаптичної мембрани пояснює факт порушення нервовом'язової передачі при дії цих речовин.

При комбінованій дії піретроїдів і ФОС спостерігалось посилення нейротоксичних ефектів, що проявлялося виразнішими порушеннями нервовом'язової передачі, пригніченням постсинаптичних АХ-рецепторів, зниженням дослідної активності тварин у порівнянні з дією кожного з препаратів окремо. Найбільші порушення міоневральної лабільності спостерігались при спільному введенні білофосу та децису. Морфологічне дослідження підтвердило наявність деструктивних процесів (набухання пресинаптичних бляшок, звивистість міофібрил) у периферичних нервах та м'язах при дії зазначених препаратів. При цьому активність синаптичної ХЕ не змінювалась по відношенню до дії одного білофосу. Відомо, що білофос полегшує викид квантів АХ пресинаптичною мембраною нервових закінчень (Фудель-Осипова С.Н. та інш., 1981). Отримані результати можна пояснити наслідком односпрямованої дії білофосу та децису на про-никливість пресинаптичної мембрани, що призводить до більш виразних порушень нервовом'язової передачі.

Дослідження комбінованої дії децису та білофосу на функціональний стан АХ-рецепторів переконливо довело, що пригнічення АХ-залежного іонного струму було помітнішим при сумісній аплікації препаратів. Неспецифічний і некооперативний характер взаємодії досліджуваних СП та ФОС з АХ-рецепторами за типом неповної сумарності їх токсичних ефектів свідчить про здатність цих речовин конкурувати між собою за місця зв'язування з білками хемозбуджених іонних каналів.

Посилення токсичного ефекту піретроїдів та ФОС на центральну нервову систему проявлялося у пригніченні тільки дослідного компонента поведінкової реакції, що може бути пов'язане з

посиленням процесів внутрішнього гальмування і сповільненням формування тимчасових зв'язків вторинних коркових зон аналізаторів з ретикулярною формацією та таламусом, які відповідають за здійснення даного типу поведінки.

Характер змін поведінкової діяльності під впливом ФОС пояснюється зниженням активності ХЕ, порушенням метаболізму АХ та його дією на синаптичні утворення (Каган Ю.С., 1981). Біохімічне дослідження довело, що механізм комбінованої дії СП та ФОС не пов'язаний з пригніченням ХЕ. Тому можна припустити, що посилення центрального нейротоксичного ефекту є наслідком односпрямованого впливу СП та ФОС на функцію пре- і постсинаптичної нейрональної мембрани.

Відомо, що ряд ФОС (ТОКФ, лептофос, хлорофос, ДЕФ та інші) мають властивість викликати парези та паралічі у віддалені після отруєння строки (Hayes W.J., 1982). Для з'ясування ролі СП у розвитку нейропатій нами використовувався ТОКФ у дозі 100 мг/кг, яка викликає лише слабкі прояви клінічної картини ВНД. Введення ТОКФ з децисом (0,2 ЛД₅₀) не призводило до посилення нейротоксичної дії ФОС.

На моделі отруєння птахів іншими ФОС (карбофос і хлорофос) разом з цимбушем та суміцидином також не було виявлено проявів ВНД. Разом з тим, у цьому випадку було деяке оборотне зниження ШРЗ. Нейрогістологічне дослідження підтвердило відсутність процесу демієлінізації і виявило лише реактивно-деструктивні зміни у нервових і м'язових волокнах курей.

Дослідження властивості піретроїдів викликати віддалену нейротоксичну дію дало негативний результат, що підтверджується літературою (Supermethrin; Environmental health criteria-82, 1982). Деяке зниження ШРЗ по периферичному нерву курей, можливо, є наслідком порушення метаболічних процесів під впливом піретроїдів (збільшення активності відновлювальних ферментів в дистальних відділах периферичних нервів), яке спостерігали деякі автори (Rose G.P., Dewar A.J., 1983).

ВИСНОВКИ

1. Синтетичні піретроїди (децис, цимбуш, сумі-альфа) у дозах 0,2 - 1 ЛД₅₀ мають виразний нейротоксичний ефект, що виявляється у пригніченні орієнтувально-дослідної діяльності щурів, збільшенні рефрактерності, порушенні проведення імпульсу по периферичним нервам, зниженні міоневральної лабільності.

2. Піретроїди - децис та цимбуш у дозі 1 ЛД₅₀ не впливають на активність холінестерази у крові та головному мозку щурів. Антихолінестеразний ефект сумі-альфа (найбільш токсичного з усіх відомих піретроїдів) спостерігається тільки на рівні дози 1 ЛД₅₀, що свідчить про неспецифічний характер даної реакції.

3. У механізмі нейротоксичної дії піретроїдів важливу роль грає блокування ацетилхолінових рецепторів постсинаптичної мембрани, що підтверджується здатністю децису пригнічувати ацетилхолін-залежний іонний струм у дослідах на нейронах вищогоградного слимака. Вплив піретроїдів на ацетилхолін-рецепторний комплекс має неспецифічний характер, про що свідчить величина коефіцієнту Хілла < 1.

4. Комбінована дія піретроїдів і фосфорорганічних сполук (децису і білофосу, сумі-альфа і фозалону) у дозах 0,1 - 1 ЛД₅₀ на нервову систему щурів характеризується посиленням нейротоксичних ефектів, які викликаються кожним препаратом окремо, що виявляється у зниженні дослідної активності та порушенні нервово-язової передачі.

5. Більш виразний синергізм при дії децису та білофосу на нервово-язове з'єднання пов'язаний з односпрямованим впливом даних препаратів на функцію пре- і постсинаптичної мембрани, що підтверджується морфологічними та електрофізіологічними даними (набуханням пресинаптичних бляшок, блокуванням ацетилхолін-залежного іонного струму). Порушення синаптичної передачі є важливим критерієм оцінки небезпеки комбінованої дії піретроїдів та фосфорорганічних пестицидів на організм ссавців.

6. На моделі отруєння курей класичним нейропаралітичним агентом - триортокресилфосфатом, а також карбофосом і хлорофосом показано, що піретроїди (цимбуш, суміцидин, децис) не впливають на розвиток віддаленого нейротоксичного ефекту фосфорорганічних сполук (не посилюють пригнічення активності нейротоксичної естерази в головному мозку, а також клінічних ознак віддаленої нейротоксичної дії).

Список робіт, опублікованих по темі дисертації.

1. Комбінована дія фосфорорганічних пестицидів та синтетичних піретроїдів на функціональний стан периферичної нервової системи// Журн. АМН України.- 1995.- т.1, № 2.- с. 373-378.

2. Обережно з пестицидами//Журн. "Будьмо здорові".-1995.-№ 7.- с. 24-25.

3. A study of the delayed neurotoxic effect of a new organophosphorous fungicide 0,0-diphenyl-I-acetoxy-2,2,2-trichlor-ethylphosphonate (aphos) Communication 1. Clinical manifestations and neurotoxic esterase inhibition // Fresenius Envir. Bull.- N1. - 1992. - p. 571-576 / Coauthors: Tkachenko I.L., Kokshareva N.V., Kagan Y.S./.

4. A study of the delayed neurotoxic effect of a new organophosphorous fungicide 0,0 - diphenyl-I-acetoxy-2,2,2-trichlore-thylphosphonate (aphos) Communication 2. Electrophysiological and morphological investigations // Fresenius Envir. Bull.- N2.- 1993.- p. 131-136 / Coauthors: Tkachenko I.L., Kokshareva N.V., Kagan Y.S., Badaeva L.N./.

5. Delayed neurotoxic effects of combinations of organophosphorous and pyrethroid pesticides // Health, safety and ergonomic aspects in use of chemicals in agriculture and forestry/Ed. by Y. Kundiev.- 1994.- Kiev: Institute for Occupational Health. - p.180-183./ Coauthors: Kokshareva N.V.,Tkachenko I.L., Kagan Y.S./.

6. Исследование отдаленного нейротоксического действия карбофоса // Журн. АМН України. - 1995. - 1, N1. - с. 172-177 /Соавт.: Кокшарева Н.В., Ткаченко И.И., Грабовой А.Н., Шушурина Н.А., Каган Ю.С./.

7. Некоторые стороны механизма нейротоксического действия пиретроидов // Сб. материалов научной конференции молодых ученых и специалистов "Гигиена применения, токсикология пестицидов и полимерных материалов и охрана здоровья населения в условиях химизации народного хозяйства", Киев, 25-26 дек. 1990. - Киев: ВНИИГИНТОКС, 1990. - с. 21.

8. Функциональное состояние холинэргических синапсов при комбинированном действии пиретроидов и фосфорорганических соединений // Сб. материалов научной конференции "Школа академика О.И. Черкеса: идеи, развитие, перспективы", Киев, 3-5 мая, 1994. - Киев: КНИИФТ, 1994. - с. 148-149.

9. The functional state of acetylcholine-operated ionic channels during separate and combined effect of pesticides: deltamethrin and pirimiphos-methyl // "Archives of toxicology, kinetics and xenobiotic metabolism" Int. Meet. "Toxicology of pesticides", Krusevac, 12-14 oct., 1995. - 3, N 3. - p. 343.

10. О механизме нейротоксического действия пестицидов // Сб. ВНИИГИНТОКС. - Киев: ВНИИГИНТОКС, 1990. - с. 5 /Соавторы: Кокшарева Н.В., Перехрестенко В.А./.

11. Механизм нейротоксического действия пестицидов группы синтетических пиретроидов // Сб. материалов IV пленума правления ВПОТ "Медицинские аспекты экологической токсикологии", Л, 12-14 дек., 1990. - Л: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 1990. - с. 85-87 / Соавторы: Кокшарева Н.В., Ткаченко И.И., Бадаева Л.Н., Белоусова А.А., Шушурина Н.А., Якушко В.Е./.

12. Деякі функціонально-морфологічні зміни в центральній та периферичній нервових системах під впливом ліндану // Зб. матеріалів XIII з'їзду Укр. фізіол. тов. ім. І.П. Павлова, Харків, 17-

21 вересня, 1990. - Київ: Інститут Фізіології ім. О.О. Богомольця, 1990. - с. 25. / Співавтори: Кокшарьова Н.В., Перехрестенко В.А., Бадаєва Л.Н., Зінов'єва М.Л., Ткаченко Л.Л./

13. Проблема ОНД ФОС в свете предупреждения экологических катастроф // Токсикологические проблемы химических катастроф. - Л.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 1991. - с. 50 / Соавторы: Каган Ю.С., Кокшарева Н.В., Ткаченко И.И. /

14. О механизме нейротоксического действия фосфорорганических и пиретроидных пестицидов // Сб. материалов конференции АН УССР и ВА ПВО СВ "Проблемы экологии и пути их решения", Киев, 1991. - Киев: ВА ПВО СВ, 1991. - с. 60-61. / Соавторы: Ткаченко И.И., Кокшарева Н.В. /

15. Search for anticonvulsants against pyrethroid-produced convulsions // EAVPT 6-th Int. Congr., Edinburg, 8-10 aug., 1994. - London: Royal Veterinary College, 1994. - p. 43 / Coauthors: Shushurina N.A., Krivenchuk V.E., Kagan Yu. S., Jakushko V.E./

16. Investigation of organophosphorous and synthetic pyrethroid pesticides combined effect // Int. Symposium over Fytopharmacie en Fytiatrie, Gent, may 9, 1995. - Gent: Universitet Gent, p. 133 / Coauthors: Kokshareva N.V., Shushurina N.A., Tkachenko L.L. /

17. Neurotoxicity of synthetic pyrethroids and organophosphorus pesticides combinations // "Book of abstracts-EUROTOX-95/Toxicology letters supplement" 34-th European Congr. of toxicol. - EUROTOX'95, Praga, 27-29 aug. 1995. - N 1/78, p. 88/ Coauthors: Kokshareva N.V., Tkachenko L.L., Shushurina N.A./

18. Фармакологічна корекція експериментальної віддаленої нейротоксичної дії фосфорорганічних сполук тіогідроксимовими ефірами // Зб. матеріалів I національного з'їзду фармакологів України "Сучасні проблеми фармакології", Полтава, 27-29 вересня, 1995. - Київ: ІФТ АМН України, 1995. - с. 78 / Співавтори: Кокшарьова Н.В., Ткаченко Л.Л., Шушуріна Н.О., Кривенчук В.Е./

19. Новые аспекты отдаленного нейротоксического действия фосфорорганических соединений // Токсикологическая конференция, С.-Петербург, ноябрь, 1995, С.-Птб.: / Соавторы: Кокшарева Н. В., Жминько П.Г., Ткаченко И.И., Шушурин Н.А., Кagan Ю.С./.

20. Prognostication of the organophosphate delayed polyneuropathy (OPIDP) and its correction // "Horizonts in toxicology preparing for the 21-st century", abstracts of the VII Int. Congr. of toxicol., Seattle, July 2, 1995.- Seattle: Wellington Group, 1995. -p. 22-p-11 /Coauthors: Kokshareva N.V., Tkachenko I.I., Zminko P.G., Shushurina N.A., Kagan J.S./.

ВЕКОВШИНИНА С.В. Нейротоксичность пиретроидов и их комбинаций с фосфорорганическими пестицидами.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.11.- "токсикология"; Институт здоровья им. акад. Л.И. Медведя, Киев, 1996.

Защищается научная работа, которая содержит данные о нейротоксическом действии синтетических пиретроидов (СП) и их комбинаций с фосфорорганическими пестицидами (ФОС). Показано, что СП блокируют ацетилхолиновые рецепторы и вызывают нарушение функционального состояния центральной и периферических нервных систем млекопитающих. При введении ряда комбинаций СП и ФОС происходит усиление токсического эффекта, что выражается в снижении поведенческой активности и изменении нервно-мышечной передачи. Это связано с воздействием СП и ФОС на пре- и постсинаптические мембраны. Доказано, что СП не влияют на отдаленный нейротоксический эффект ФОС. Критериями опасности для СП и их комбинаций с ФОС являются изменение поведенческой деятельности, удлинение рефрактерных периодов нерва, нарушение нервно-мышечной передачи.

VEKOVSHININA S.V. Neurotoxicity of pyrethroids and their combinations with organophosphorus pesticides.

Dissertation is the manuscript for the Degree of Candidate of Science (Biology) on speciality 14.03.11. - "toxicology", Academics Medved Institute of Health, Ukraine, Kiev, 1996.

It is defending the scientific work which contains data about neurotoxic action of synthetic pyrethroids (SP) and their combinations with organophosphorus pesticides (OPS). It was shown that SP bloked the acetylcholine receptors and caused the functional disturbances in central and peripheral mammalian nervous system. The combined effect of SP and OPS is characterized by strengthening of neurotoxic effects caused by each separate preparation which is manifested in the decrease of behavioural activity and alteration of neuro-muscular transmission. This is connected with the action of SP and OPS on pre- and postsynaptic membranes. It was proved that SP didn't influence on the delayed neurotoxic effect's OPS. The dangerous criterions for SP and their combinations with OPS are the alterations of behavioural activity, elongation the refractory periods of nerves, disturbance of neuro-muscular transmission.

Ключові слова: піретроїди, фосфорорганічні пестициди, функціональний стан нервової системи, холінергічний механізм, критерії небезпеки.

Здано в набір 7.3.96 р. Підписано до друку 7.3.96 р.
Тираж 100 примірників

Надруковано в Інституті здоров'я ім.Л.І.Медведя
252127, м.Київ, вул.Героїв Оборони, 6

445414

