

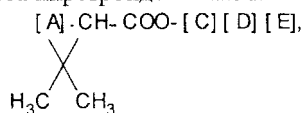
К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПИРЕТРОИДОВ

Л.В. МАКСИМЕНКО

Кафедра гигиены, общественного здоровья и здравоохранения РУДН
Москва, 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.8. Медицинский факультет

В основе механизма действия пиретроидов лежит их нейротоксическое воздействие на нервно-мышечную систему. За счет воздействия на рецепторы ряда нейротрансмиттеров млекопитающих пиретроиды могут снижать адаптивные возможности организма к окружающей среде, воздействовать на уровень неспецифической активности ЦНС и менять поведенческие реакции. При однократном ингаляционном воздействии неопинамина возбудимость нервной системы линейно возрастает с ростом концентрации. Псевдохолинэстеразная активность сыворотки крови зависит от концентрации неопинамина в воздухе и продолжительности воздействия, что может быть свидетельством неспецифических изменений стресс-реакции организма в ответ на хроническое ингаляционное воздействие неопинамина. Изменение состояния нервной системы при многократном воздействии неопинамина носит фазовый характер: на 3-й день – возбуждение, через 2,5 месяца – нормализация, затем – торможение, сопровождаемое ингибированием псевдохолинэстеразной активности. Минимальная концентрация неопинамина в воздухе, при которой наблюдаются выраженные эффекты воздействия на нервную систему, составляет 25 мг/м^3 , далее с ростом концентрации отмечаются идентичные изменения. Неопинамин в концентрации $85,5 \text{ мг/м}^3$ вызывает линейно зависимое изменение активности ацетилхолинэстеразы в крови и печени, видимо, обусловленное модуляцией внутриклеточных метаболических процессов и дисфункцией печени.

Синтетические пиретроиды представляют собой эфиры циклопропанкарбоновых кислот. Структурная формула класса пиретроидов включает основной элемент:



где в качестве заместителей [A] и [B] могут выступать различные группы; [C] – циклопентонилпроизводные; [D] – пятичленные, группы: $-\text{C}=\text{C}-$, мета- или пара-фенил, 2- или 3- пятичлен с двумя двойными связями; [E] – $-\text{CH}_2-$; $-\text{O}-$; $-\text{CO}-$. Для пиретроидов характерна стереоизомерия.

Насекомые. В основе механизма действия пиретроидов на насекомых лежит нейротоксическое воздействие с поражением в первую очередь нервно-мышечной системы [29], при этом повышается возбудимость и наблюдается тремор, блокируется проводимость нервов, что приводит к параличу. Эффект обусловлен нарушением процесса генерации и распространения возбуждения по нерву за счет усиления отрицательного следового потенциала действия нерва, множественных разрядов нерва на одиночный стимул и блокирования нервно-мышечной передачи [16]. Пиретроиды обладают мембранотропностью и действуют через липидную фазу плазматической мембраны [15]. Повреждающий эффект действия пиретроидов обнаружен уже на низких и сверхнизких дозах. В диапазоне концентраций 10^{-7} - 10^{-8} М эффект объясняется неспецифическим связыванием эффектора с рецепторными центрами, регулирующими транспорт ионов кальция и хлора, активность кальций- и магний-АТФ-азы, нейросекреторных клеток и др.; при $2 \cdot 10^{-11}$ - $2 \cdot 10^{-12}$ М – связыванием пиретроидов со специфическими рецепторами, приводящим к необратимой деполяризации мембраны, сопровождающейся постоянным натриевым потоком внутрь аксона, что вызывает блокаду потенциала действия и нервной проводимости; при $2 \cdot 10^{-14}$ - $2 \cdot 10^{-18}$ М – неравновесными или адаптационными процессами; а при чрезвычайно малых концентрациях (вплоть до $2 \cdot 10^{-29}$ М) – информационными свойствами воды, способными сохранять информацию о действующем веществе [8].

Млекопитающие. Нейротоксический эффект пиретроидов может проявляться двояко – вызывать тремор (Т-синдром) и хореоатетозные приступы (СS-синдром), причем для альфа-цианопиретроидов характерен СS-синдром (Отчеты FAO/WHO "Оценка остаточных количеств пестицидов в пище" 1965, 1967, 1971, 1972, 1980, 1981, 1982 и т.к.). Нейротоксическое поражение преобладает при остром отравлении пиретроидами как лабораторных животных [22], так и человека [14].

T.Narahashi [16] со ссылкой на Burt сообщает, что ганглии более чувствительны к пиретроидам, чем нервные волокна. При прямом нанесении на ткань отмечается перевозбуждение и блокада проводимости нерва за счет воздействия на оболочку нерва. Д-транс-тетраметрин и S,S-фенвалерат (10 мкМ) индуцируют медленно возникающие и медленно спадающие токи чувствительных к тетродотоксину Na^+ -каналов изолированных нейронов заднекорешковых ганглиев крыс. В резистентных к тетродотоксину каналах эти инсектициды генерируют пролонгированные токи при реполяризации. Эффект тетраметрина, в отличие от остальных инсектицидов, обратим. Считают, что эти два пиретроида взаимодействуют с различными центрами связывания в структуре Na^+ -канала, для которых характерно взаимное аллостерическое влияние [23]. Децис, суми-альфа и цимбуш в высокой дозе (на уровне ЛД50) вызывают у крыс резкое удлинение абсолютной и относительной рефрактерной фазы сидалищного и хвостового нервов, нарушение мионевральной лабильности (снижение амплитуды потенциалов действия скелетных мышц), иногда – снижение скорости распространения возбуждения по нерву, возникновение множественных разрядов мышцы на одиночное раздражение нерва [3].

Показано, что в нарушение функции нервной системы вовлечены периферические аксоны. Так, фенвалерат и перметрин в токсических дозах вызывают набухание и дегенерацию аксонов, фрагментацию сидалищного нерва (крысы) [13]. Морфологические изменения в нервах крыс под действием других пиретроидов (дельтаметрин, циперметрин) выражены слабо и не зависят от дозы [10]. Дегенерация нервного волокна и развитие парезов в отдаленные сроки не обнаружено на наиболее чувствительном к возникновению невропатий виде животных – курах [21]. Таким образом, морфологические изменения наступают вторично и при высоких дозах близких к ЛД50, что говорит об обратимости нейротоксических эффектов [7].

Пиретроиды могут влиять на ионофорные каналы рецепторов различных нейротрансмиттеров; участвуют в функционировании образующегося в некоторых нейронах базовой ганглии дофамина (катехоламина), который продуцирует ингибиторные постсинаптические потенциалы и отвечает за движение, познавательные процессы и мотивацию [17]. Циперметрин в дозе 1 мг/кг при ежедневном введении в течение 10 дней вызывает нарушения дофаминовых рецепторов у крыс [11].

Механизм нейротоксического эффекта пиретроидов на мышей объясняют связыванием пиретроидов с нейрональными структурами переднего мозга [19], где роль нейромедиатора играет α -глутамат – быстродействующий медиатор синаптической передачи, один из четырех субтипов рецепторов которого объединен с Na^+ -каналами. Именно в нервно-мышечных соединениях насекомых глутамат служит возбуждающим медиатором [1]. У млекопитающих специфические связанные с Ca^{2+} -каналами глутаматные рецепторы (NMDA) обнаружены в гиппокампе, ответственном за долговременную память и ассоциативное мышление [1].

Цианосодержащие пиретроиды могут взаимодействовать с рецепторами гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), что показано в исследованиях *in vitro* на синапсоммах кролика [3]. Глутамат, ГАМК и L-глутаматдекарбоксилаза составляют "шунт ГАМК", играющий существенную роль (около 10%) в энергетическом обмене головного мозга, причем ГАМК представляет собой ингибиторный нейротрансмиттер, действующей через соединенные с Cl^- -каналами рецепторы. Поскольку ГАМК-ергические системы расположены в основном в ЦНС млекопитающих, то (по крайней мере, цианосодержащие) пиретроиды обладают центральным действием, что проявляется в снижении уровня неспецифической активности ЦНС (угнетаются условные и безусловные рефлексы, нарушается ориентировочная исследовательская активность). Carlson G.P. и Schoening G.P. отмечают, что тип нейротоксичности пиретроидов сходен с фенobarбиталом [12], седативные эффекты которого обусловлены действием через ГАМК-А-рецепторы.

Отсюда наряду с экстрапирамидальной системой, мозжечком, нейронами спинного мозга в патогенезе отравления пиретроидами могут участвовать также структуры мозгового ствола, таламус и гиппокамп [3].

Обнаружено высокое сродство пиретроидов к никотиновым ацетилхолиновым рецепторам [13], в частности дозозависимое блокирование ацетилхолиновых рецепторов обнаружено на нейронах улитки. По данным Н.В.Кошкаревой, выявленная антихолинэстеразная активность, характеризующая скорость распада ацетилхолина и в конечном счете функциональное состояние холинергической системы, пиретроидов не носит специфический характер, поскольку незначительное число пиретроидов (в том числе суми-альфа) и в высокой дозе (на уровне ЛД50) проявляют данную активность [2]. Кроме того, ингибирование холинэстеразы отмечено при первичном, но не вторичном нанесении пиретроида на кожу [4]. Блокирование ацетилхолиновых рецепторов и антихолинэстеразная активность внешнего фактора ведет не только к нарушению медиаторной функции ацетилхолина, но может, видимо, модулировать внутриклеточные метаболические процессы и неспецифические реакции, характерные для стрессового состояния. По данным С.Х.Хайдарлиу холин- и ГАМК-ергические системы прямо или косвенно участвуют в формировании стресс-реакции организма на факторы окружающей среды [9]. Отсюда можно предполагать, что пиретроиды могут изменять не только функции нервной системы, но и неблагоприятно влиять на адаптивные возможности организма к окружающей среде.

Кроме того, исследуя влияние дельтаметрина и цистометрина на нервную возбудимость крыс, М. Takahashi и Р. Meequesne обнаружили изменения возбудимости, не сопровождавшиеся неврологической симптоматикой [20].

Материалы и методы. Порог нервно-мышечной возбудимости (ПНМВ), активность плазменной псевдохолинэстеразы (ПХЭ) и ацетилхолинэстеразы печени (АХЭ) определяли у крыс после однократного 4-часового (группы - контроль, 120, 180, 440 мг/м³) и многократного (ежедневно по 4 часа в течение 4-х месяцев) (группы - контроль, 8,9; 24,9 и 85,5 мг/м³) ингаляционного воздействия аэрозоля неопинамина на крыс, выполненного по стандартной методике [6] в соответствии с принципами ВОЗ [7].

Результаты исследования. Установленный сразу по окончании острого воздействия неопинамина, ПНМВ крыс линейно снижается с ростом концентрации [ПНМВ = $-0,11 \cdot C - 0,13$ ($R^2=0,9995$)] (рис.1) и достигает достоверного отличия от контроля: при 180 мг/м³ $p<0,05$ и при 440 мг/м³ $p<0,01$.

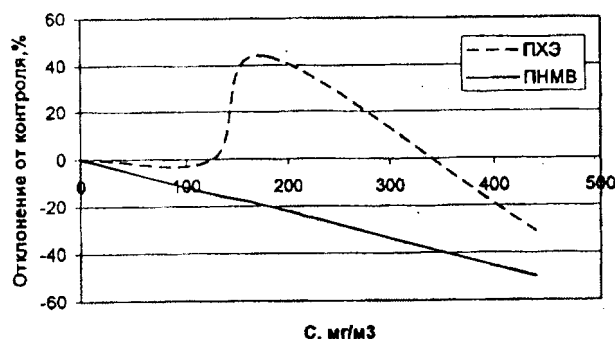


Рис. 1. Зависимость порога нервно-мышечной возбудимости и активности псевдохолинэстеразы в плазме крови крыс от концентрации неопинамина после острого ингаляционного воздействия

Вариабельность (V, %) ПНМВ с ростом концентрации (С) также линейно возрастает от 3% в норме до 40% в группе 440 мг/м³ [$V_{\text{ПНМВ}} = 0,09 \cdot C - 0,05$ ($R^2=0,95$)]. Активность ПХЭ увеличивается на 44% ($p<0,01$) при 150-200 мг/м³, а затем с ростом концентрации

неопинамина в воздухе снижается относительно контроля и достигает достовного уровня снижения ($p < 0,01$) при практически постоянной вариабельности признака $V = 9,9 \pm 3,5\%$.

Достоверные отличия от контроля ПНМВ и ПХЭ отмечаются при концентрации 180 мг/м^3 , однако очевидно, что возбуждающее воздействие на нервную систему по показателю ПНМВ носит дозозависимый характер, а достоверное ингибирование псевдохолинэстеразной активности в плазме крови фиксируется только при 440 мг/м^3 .

На рис. 2, 3, 4 представлена динамика изменения ПНМВ, ПХЭ и АХЭ при многодневном ингаляционном воздействии неопинамина. Как видно, нейротоксические эффекты неопинамина в данном случае зависят не только от его концентрации, но от продолжительности воздействия. На 3-й день опыта ПНМВ при 10 мг/м^3 неопинамина (рис. 2) снижается на 18%, а при более высоких концентрациях постепенно нормализуется.

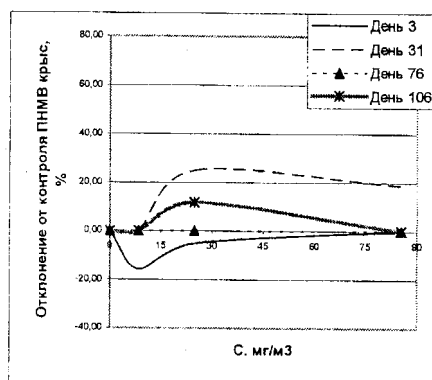


Рис. 2. Динамика изменения порога нервно-мышечной возбудимости крыс с ростом концентрации неопинамина в хроническом эксперименте

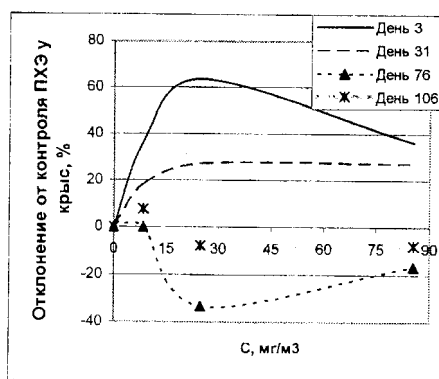


Рис. 3. Динамика изменения активности псевдохолинэстеразы крыс с ростом концентрации неопинамина в хроническом эксперименте

На 31-й и 106-й день затравки ПНМВ при $24,9 \text{ мг/м}^3$ неопинамина превышает контрольный уровень ($p < 0,01$), при $85,5 \text{ мг/м}^3$ ПНМВ через месяц воздействия превышает норму на 19% ($p < 0,05$). На 76-й день ПНМВ нормальный независимо от концентрации неопинамина. Отсюда видно, что при ежедневном ингаляционном воздействии процессы торможения передачи нервного сигнала неопинамином проявляются после трехдневного воздействия, а 2,5 месяца являются периодом нормализации показателя, после чего процессы торможения опять возрастают.

Активность ПХЭ (рис.3) на 3-й и 31-й день повышается на 64 и 25% ($p>0,05$).

Более длительная экспозиция неопинамином ведет в целом к ингибированию ПХЭ при тенденции к увеличению активности на малых концентрациях. В литературе имеются данные о повышении активности ПХЭ на 3-й день с последующей нормализацией при хроническом воздействии различных стрессовых факторов (у крыс при гипоксии, у людей при физической нагрузке, гипокинезии), причем в последнем случае отмечено значительное снижение активности ПХЭ относительно контрольного уровня к 90-у дню адаптации (у нас при воздействии неопинамина снижение отмечено к 76-у дню воздействия). Подобные тенденции в изменении активности ПХЭ трактуются как признак активации неспецифических механизмов адаптации к стрессовым факторам [10].

В печени активность АХЭ (рис.4) повышена в начале и конце затравочного периода, причем с ростом концентрации неопинамина после пика отмечается ее снижение. Наиболее выраженное ингибирование активности АХЭ в печени фиксируется через месяц при концентрациях до 15 и выше 80 мг/м^3 .

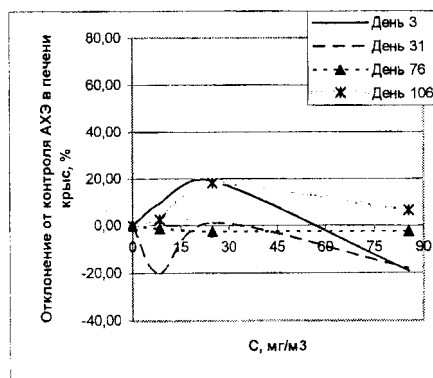


Рис. 4. Динамика изменения активности холинэстеразы печени крыс с ростом концентрации неопинамина в хроническом эксперименте

На 76-й день активность АХЭ печени (подобно ПНМВ) в норме.

Сильная отрицательная корреляция ($r = -0,89$, $p=0,018$) между изменением ПХЭ и АХЭ в динамике выявлена при 85,5 мг/м^3 [$\text{ПХЭ} = -5,96 - 1,85 \cdot \text{АХЭ}$] и отражает, видимо, вызванную значительной концентрацией неопинамина дисфункцию печени, поскольку «в нормальных условиях ПХЭ синтезируется преимущественно в печени, а затем переносится в сыворотку крови; а при заболеваниях печени снижение ПХЭ обусловлено изменением белоксинтезирующей способности клеток печени» [5].

Месячный период наблюдения после прекращения опыта характеризуется полным восстановлением ПНМВ и ПХЭ. АХЭ-азная активность печени не восстанавливается, динамика отклонений практически совпадают с таковой на 4-й месяц токсического воздействия.

Выводы.

1. Пиретроиды за счет воздействия на рецепторы ряда нейротрансмиттеров (дофамина, глутамата, ГАМК и ацетилхолина) могут снижать адаптивные возможности организма к окружающей среде и воздействовать на уровень неспецифической активности ЦНС.

2. При однократном ингаляционном воздействии неопинамина возбудимость нервной системы линейно возрастает с ростом концентрации.

3. Псевдохолинэстеразная активность сыворотки крови зависит от концентрации неопинамина и продолжительности воздействия, что может быть свидетельством неспецифических изменений стресс-реакции организма в ответ на многократное токсическое

воздействие неопинамина.

4. Изменение состояния нервной системы при многократном воздействии неопинамина позволяет выделить несколько фаз: на 3-й день – возбуждение, через 2,5 месяца – нормализация, затем – торможение. Концентрация, при которой наблюдается наиболее выраженные эффекты воздействия неопинамина на нервную систему, составляет 25 мг/м², далее с ростом концентрации отмечаются идентичные изменения.

5. Неопинамин в концентрации 85,5 мг/м³ вызывает линейно зависимое изменение активности ацетилхолинэстеразы в крови и печени, видимо, обусловленное модуляцией внутриклеточных метаболических процессов и дисфункцией печени.

Литература

1. Альбертс Б., Брэй Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки, 3. – М.: Мир, 1994. – С.317
2. Вековишина С.В. Функциональное состояние ацетилхолин-зависимых ионных каналов при раздельном и комбинированном воздействии дециса и белофоса на нейроны *Helix pomatia* L // Современные проблемы токсикологии. – 1999. – №1. – С.43-46.
3. Вековишина С.В. Комбінована дія фосфорорганічних пестицидів та синтетичних піретроїдів на функціональний стан периферичної нервової системи // Журн. АМН України. – 1995. – 1, №2. – С.373-378.
4. Казан Ю.С., Паньшина Т.Н., Сисанович Л.М. Биохимические эффекты токсического действия синтетических пиретроидов // Гигиена и санитария, 1986. – №1. – С.7-12.
5. Комаров Ф.И., Коровки Б.Ф. Биохимические показатели в клинике внутренних болезней: Справочник. – М.: МЕЛпресс, 1999. – 232 с.
6. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов/ Сост. Е.А.Антонович, Е.И.Спыну и др. – Киев, 1988. – 212 с.
7. Принципы токсикологической оценки остаточных количеств пестицидов в пище. – Женева: ВОЗ, 1992. – 141 с.
8. Ратушняк А.А., Андреева М.Г., Махнин В.Г. Эффект действия малых и сверхмалых доз пиретроидов на *Daphnia magna* // Токс. Вестник. – 2000. – №2. – С.17-23
9. Хайдаралу С.Х. Функциональная биохимия адаптации/ Отв. Ред. Ф.И.Фурдуй. – Кишинев, 1984. – 272 с.
10. Aldridge W.N. Toxicology of pyrethroids.// Pestic. Chem.: Hum. Welfare and Environ. Pros.: 5th intern. Congr. – Kyoto, 29 aug.-4 sept. 1982. – N3. p. 485-490.
11. Cantalamessa F., Barili P., Cavagna R., Sabbatini M., Tenore G., Valla L.P. Sensitivity of renal dopamine receptor to neonatal treatment with cypermethrin: a pyrethroid insecticide.// Clin. and Exp. Hypertens. – 1997. – 19, № 1-2. – С. 229.
12. Carlson G.P., Scoenig G.P. Induction of Liver Microsomal NADPH Cytochrome C (Reductase) and Cytochrome 450 by some new Synthetic Pyrethroids // Toxicology and Appl. Pharmac., 1980. – 52, N3. – P.507-512.
13. Gray A.J., Soderlund D.M. Mammalian toxicology of pyrethroids// Insecticides/ Ed. by D.H. Huston, N.R.Roberts. – Chichester: John Wiley and Sons, 1985. – N5. – P.207.
14. He F., Wang S., Liu W. et al. Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning // Arch. Toxicol. 1989. – 64. – P.54-58.
15. Moyaquiles M.R., Munozdelgado E., Vidal C.J. Effects of the piretroids insecticide permethrin on membrane fluidity // Chem. Physics of lipids, 1996. – 79, N1. – p.21-28
16. Narahashi T. Nerve membrane ionic cannals as the primary target of pyrethroids// Neurotoxicology. – 1985. – 2, N6. – P. 3-22.
17. Neuroscience of psychoactive substance use and dependence. – Geneva: WHO, 2004. – 264 p.
18. Song Jin-Ho, Nagata Keiichi, Tatebayashi Hideharu, Narahashi Toshio. Interactions of tetramethrin, fenvalerate and DDT at the sodium channel in rat dorsal root ganglion neurons // Brain Res. – 1996. – 708, № 1-2. – С. 29-37.
19. Staatz C.G., Bloom A.S., Lech J.J. Effect of Pyrethroids on [³H]-kainic Acid binding to Mouse Forebrain Membranes // Toxicol. And Appl. Pharmacol., 1982. – 64, N3. – P.566-569.
20. Takahashi M., Meequesne P. The Effects of the Pyrethroids deltamethrin and cismethrin on nerve excitability in Rats // J. Neurology and Psychiatry, 1982. – 45, N11. – P. 1005-1011.
21. Tkachenko I.I., Kokshareva N.V., Vekovshina S.V. et al. Delayed neurotoxic effects of combinations of organophosphorus and pyrethroid pesticides// Health, safety and ergonomic aspects in use of chemicals in agriculture and forestry // Ed. by Y. Kundiev, Kiev: Institute for occupational health. – P.180-183.
22. Wright C.D.P., Forshaw P.J., Ray D.E. Classification of the Actions of 10 Pyrethroid Insecticides in the Rat, using the trigeminal Reflex and skeletal Muscle as Test Systems // Pestic. Biochem. And Physiol., 1988. – 30, N1. – P.79-86.

TO MECHANISM OF PYRETHROIDS'S NEUROTOXIC ACTION

L.V.MAXIMENKO

Department of hygiene, public health and health service RPFU
Moscow, 117198, Miklukho-Maklay str., 8. Medical faculty

Neurotoxic action on nerves-muscular system is a base of pyrethroids's mechanism of action. Pyrethroids may decrease adaptive possibilities of an organism to environment, change CNS nonspecific activity level and behavioral reactions due to action on neurotransmitter's receptors functionability. Nerves system's excitation is linearly increasing at concentration increase at acute neopinamine inhalational exposure. Pseudocholinesterase activity of blood serum depends of neopinamine concentration in air and duration of exposure that may testify nonspecific changes of stress-reaction of organism to chronic neopinamine inhalational exposure. At chronic inhalational exposure by neopinamine nerves system state changes has phases: excitation is on 3-rd day, normalization – on 2,5 months, then – inhibition accompanied by pseudocholinesterase activity inhibition. Minimal neopinamine concentration in air at that expressed effects on nerves system are fixed is 25 mg/m^3 ; at greater concentration similar changes are marked. Neopinamine concentration $85,5 \text{ mg/m}^3$ evokes linear depended changes of athetylcholinesterase activity in blood and liver probably caused by intracellular metabolic process modulation and dysfunction of liver.