

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

ННЦ «Інститут біології та медицини»
Кафедра екології та зоології

В.о завідувача кафедри
к.б.н. Анатолій ПОДОБАЙЛО
Протокол №____ засідання кафедри
від “____” _____ 20__ р.

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕГЕНОТОКСИЧНИХ КАНЦЕРОГЕНІВ ЗА
ДОПОМОГОЮ ПРИСКОРЕНИХ ТЕСТІВ НА ПРИКЛАДІ
БІФЕНТРИНУ**

Кваліфікаційна робота бакалавра
денної форми навчання
за спеціальністю «Екологія»
Ворончук Софії Сергіївни
Науковий керівник від кафедри
д.б.н., професор Гарманчук Л.В.

Робота виконана в науковому центрі превентивної токсикології, харчової
та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України
під керівництвом кандидата біологічних наук Лісовської Вікторії
Семенівни

Оцінка захисту роботи

Київ – 2025 р.

ЗМІСТ

СПИСОК ТЕРМІНІВ І СКОРОЧЕНЬ.....	
ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. БІФЕНТРИН ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ КАНЦЕРОГЕН.....	6
1.1 Фармакологічна характеристика біфентрину	6
1.2 Аналіз літератури щодо результатів мікроядерного тесту на кістковому мозку та печінці мишей	10
1.3 Порівняння біфентрину з іншими подібними пестицидами.....	17
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ	22
2.1 Мікроядерний тест як метод визначення генотоксичності.....	22
2.2 Матеріали та методи	
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	32
ВИСНОВКИ	
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	39

СПИСОК ТЕРМІНІВ ТА СКОРОЧЕНЬ

NOAEL - Найвища доза, при якій не спостерігалось токсичного або несприятливого ефекту.

Мікроядерний тест - швидкий і чутливий цитогенетичний метод скринінгу, виявлення генотоксичності речовин, тобто їх здатності пошкоджувати генетичний матеріал клітин.

ВММ-тест - це метод виявлення генотоксичності речовин шляхом підрахунку мікроядер у поліхроматофільних еритроцитах кісткового мозку тварин.

РВ-тест - це метод виявлення генотоксичності шляхом підрахунку мікроядер у еритроцитах периферичної крові, зазвичай у мишей або щурів.

СУР-ферменти - це велика група ферментів, що беруть участь у метаболізмі ксенобіотиків (ліків, токсинів, пестицидів) та ендогенних сполук. Вони відіграють ключову роль у детоксикації та біотрансформації речовин у печінці.

Біфентрин - це синтетичний піретроїдний інсектицид широкого спектра дії, який застосовують у сільському господарстві та побуті для боротьби з комахами.

DEN - це потужний хімічний канцероген, що використовується в експериментальній токсикології для індукції пухлин, особливо печінки, у лабораторних тварин.

Recommended protocols for the liver micronucleus test: Report of the IWGT working group - Рекомендації IWGT щодо тесту на мікроядра в печінці спрямовані на стандартизацію методики виявлення хромосомних пошкоджень у гепатоцитах, з урахуванням дозування, часу відбору, підготовки зразків та критеріїв оцінки.

N-Нітрозодіетиламін (НДЕА) - це високотоксична нітрозосполука, яка має виражену канцерогенну, мутагенну та гепатотоксичну дію.

ВСТУП

Актуальність дослідження: Широке використання піретроїдних інсектицидів, особливо біфентрину, у сільському господарстві та побуті викликає занепокоєння щодо їх потенційного впливу на здоров'я людини. Особливу увагу слід приділяти вивченню генеричних форм препарату, токсикологічні властивості яких можуть відрізнятися від властивостей оригінального препарату. Це вимагає подальших досліджень, зокрема використання мікронуклеарних тестів, які можуть виявити пошкодження генетичного матеріалу на ранній стадії. Оцінка потенційного канцерогенного ризику дженерика біфентрину зумовлена його широким використанням у сільському господарстві та побуті, а також недостатньою вивченістю віддаленого впливу речовини на організм людини та тварин. Зважаючи на зростання частоти пухлинних патологій і збільшення кількості контактів з хімічними речовинами на людину, вивчення генотоксичної дії біфентрину є надзвичайно важливим для сучасної токсикології, гігієни та охорони здоров'я.

Метою дипломної роботи є визначення потенційних генотоксичних ефектів генеричного біфентрину оцінені за допомогою аналізу на основі мікроядерного тесту в кістковому мозку та гепатоцитах мишей.

Основні завдання роботи включають:

- Визначити наявність/відсутність генотоксичного ефекту біфентрину у дозах, що застосовуються в сільському господарстві
- Визначити вплив біфентрину на проліферацію гепатоцитів у експерименті з частковою гепатоктемією;
- Визначити NOAEL та встановити наявність або відсутність генотоксичного ефекту.

- Визначити чи є дженеричний біфентрин за дослідженим ефектом біоеквівалентним біфентринам виробництва інших компаній, що мають реєстрацію в Україні.

Вперше генотоксичні ефекти дженерика біфентрину були оцінені шляхом порівняння результатів мікроядерного тесту в двох тканинах мишей: кістковому мозку та печінці. Отримані дані доповнюють сучасні уявлення про канцерогенний потенціал цього препарату.

Результати можуть бути використані для з'ясування токсикологічних характеристик біфентрину, формулювання рекомендацій щодо його регламентованого застосування та підвищення екологічної безпеки та безпеки для здоров'я людини при використанні в сільському господарстві.

РОЗДІЛ 1. БІФЕНТРИН ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ КАНЦЕРОГЕН

1.1. Фармакологічна характеристика біфентрину

Біфентрин є синтетичним піретроїдним інсектицидом широкого спектра дії, що активно використовується в аграрному секторі для боротьби з різноманітними шкідниками сільськогосподарських культур. Цей інсектицид, синтезований у кінці ХХ століття, став популярним завдяки високій ефективності при відносно низьких дозах застосування, що дозволяє знизити витрати та забезпечити захист урожаю на тривалій період. Структура біфентрину базується на принципах піретроїдної групи сполук, які діють на нервову систему комах, блокуючи передачу нервових імпульсів. Препарат ефективно впливає на центральну нервову систему шкідників, спричиняючи параліч і подальшу загибель. Особливість біфентрину полягає в його стабільності на поверхнях, що дозволяє йому зберігати активність на рослинах протягом кількох тижнів після обробки [3, с.18].

Проте, разом із позитивними властивостями, пов'язаними з ефективністю, біфентрин має й потенційні ризики для екології та здоров'я людини. Деякі дослідження показують, що біфентрин здатен накопичуватися у ґрунті та водних екосистемах, що може призвести до забруднення навколишнього середовища та потрапляння його залишків до харчового ланцюга. Дослідники зазначають, що біфентрин може мати генотоксичну дію на організми, включаючи риб і безхребетних, що підкреслює необхідність подальшого вивчення його біодеградації та тривалості впливу на екосистеми. Експериментальні дослідження на тваринах показали, що цей пестицид може викликати стійкі зміни на клітинному рівні, зокрема зростання вільних радикалів, що потенційно призводить до окисного стресу та порушень в органах і тканинах [7, с.34].

У людини, при гострому та тривалому впливі біфентрину, можуть виникати симптоми інтоксикації, такі як запаморочення, головний біль, нудота та інші ознаки ураження центральної нервової системи. У деяких випадках також можливі алергічні реакції на шкірі, особливо при прямому контакті з інсектицидом. Експериментальні дослідження свідчать про можливий нейротоксичний ефект біфентрину, що викликає занепокоєння щодо його безпечності для робітників, які постійно контактують із цим препаратом. У токсикологічних дослідженнях на тваринах встановлено, що біфентрин здатен впливати на поведінкові реакції, пригнічуючи нейрональну активність, а також викликає зниження когнітивних функцій, особливо при тривалому впливі [15, с.22].

Деякі дослідники зазначають, що біфентрин може мати генотоксичний ефект, оскільки він здатний викликати пошкодження ДНК та сприяти розвитку онкогенних клітин у лабораторних умовах. Використання мікроядерного тесту дозволило виявити зміни на рівні геному, що підсилює побоювання щодо його впливу на людський організм, особливо в умовах тривалого впливу або через можливе потрапляння його залишків у продукти харчування. Більшість експериментів проводилися на тваринах, що дало змогу побачити можливі механізми впливу біфентрину на різні органи та системи, проте питання його впливу на людей залишається недостатньо дослідженим і потребує подальшого аналізу [20, с.40].

Іншою особливістю біфентрину є його здатність до біоаккумуляції, що означає накопичення речовини в тканинах живих організмів. Це може призвести до довготривалих токсичних ефектів у тварин, а також потенційно загрожує здоров'ю людей, які можуть контактувати з цим інсектицидом або вживати їжу, де залишки біфентрину залишаються після обробки. Це підкреслює необхідність подальших досліджень, спрямованих на розуміння тривалого впливу біфентрину на організм людини та розробку нових методів зменшення його присутності в екосистемах і продуктах [26, с.27].

Завдяки своїм хімічним властивостям, біфентрин характеризується високою липофільністю, що дозволяє йому зв'язуватися з клітинними мембранами та проникати в тканини. Це зумовлює його високий ступінь абсорбції при потраплянні на шкіру або при вдиханні. Подальші дослідження показали, що біфентрин метаболізується переважно в печінці та виводиться з організму в основному через сечу, однак залишки речовини можуть зберігатися у тканинах протягом тривалого часу. Це може бути особливо небезпечним у випадках, коли біфентрин накопичується у високих концентраціях, що збільшує ризик токсичних ефектів на організм [30, с.13].

Біфентрин, як представник піретроїдів, привертає значну увагу науковців через його високу ефективність і низькі дози для досягнення бажаних результатів у боротьбі зі шкідниками. Він є частиною хімічного класу, що вражає нервову систему комах, спричиняючи швидку паралізацію та загибель шкідників. Завдяки цій властивості біфентрин широко використовується для обробки різних видів культур, забезпечуючи їх захист від комах-шкідників протягом тривалого часу. Проте, завдяки своїй стабільності, біфентрин може зберігатися у ґрунті та залишатися на поверхнях рослин, що підвищує ймовірність його потрапляння у доквілля і продукти харчування [18, с.10].

Дослідження показують, що біфентрин має виражену стійкість у ґрунті та може повільно розкладатися, що підвищує ймовірність його накопичення у харчових ланцюгах. Через здатність біфентрину до тривалого збереження в ґрунтових і водних екосистемах його залишки можуть впливати на флору і фауну, а також створювати ризики для здоров'я людей. При потраплянні біфентрину в організм він переважно накопичується в жирових тканинах, звідки поступово вивільняється, підвищуючи ризик хронічного впливу. Подальші дослідження підтверджують, що біфентрин має тенденцію до накопичення, особливо у водних організмах, де його токсичність може призводити до значних екологічних наслідків.

У токсикологічних дослідженнях на лабораторних тваринах було встановлено, що біфентрин здатен викликати ознаки нейротоксичності. Симптоми, такі як м'язові судоми, зміни в поведінці, порушення координації рухів, свідчать про його вплив на центральну нервову систему. За результатами ряду експериментів було визначено, що біфентрин може стимулювати окисний стрес, підвищуючи рівень вільних радикалів у клітинах та порушуючи роботу антиоксидантної системи організму. Деякі дослідники відзначають, що тривалий вплив біфентрину може призвести до зниження когнітивних функцій у тварин, що є сигналом можливої загрози для людей [24, с.23].

Також слід зазначити, що біфентрин впливає на ендокринну систему. Виявлено, що пестицид може змінювати гормональний баланс у організмі, що може мати негативні наслідки для репродуктивного здоров'я як тварин, так і людей. Було проведено ряд досліджень, які показали, що біфентрин здатний впливати на рівень статевих гормонів, порушуючи процеси відтворення та розвиток ембріонів. Такі ефекти, пов'язані з впливом піретроїдів, підтверджують необхідність додаткових досліджень, щоб уникнути негативного впливу цього інсектициду на майбутні покоління [28, с.15].

Генотоксичний потенціал біфентрину є одним із найбільш досліджуваних аспектів його впливу на здоров'я. Використання мікроядерного тесту показало, що біфентрин здатний викликати зміни у структурі ДНК, що може слугувати сигналом ризику канцерогенності. У лабораторних умовах було підтверджено, що під впливом біфентрину спостерігається пошкодження ДНК у клітинах печінки, що може бути провісником розвитку злоякісних пухлин. Науковці закликають до обережного використання біфентрину, особливо в аграрних районах, де його вплив на ґрунтові та водні ресурси може мати далекосяжні наслідки [30, с.11].

На додаток до генотоксичних ефектів, біфентрин викликає також імунотоксичні реакції, що може ослаблювати захисні функції організму.

Дослідження показують, що при тривалому впливі біфентрин пригнічує активність лейкоцитів і знижує ефективність імунної відповіді, що може робити організм вразливим до інфекцій та інших захворювань. Вплив біфентрину на імунну систему, особливо при його тривалому накопиченні в тканинах, є додатковим фактором ризику, який підкреслює необхідність зниження рівня його використання або пошуку безпечніших альтернатив.

Таким чином, фармакологічна характеристика біфентрину підкреслює як його ефективність у захисті рослин, так і потенційні ризики для здоров'я людини та довкілля, що вимагає ретельного контролю використання та подальших досліджень щодо безпеки цього інсектициду.

1.2. Аналіз літератури щодо результатів мікроядерного тесту на кістковому мозку та печінці мишей

Аналіз літератури щодо результатів мікроядерного тесту на кістковому мозку та печінці мишей вказує на широкий спектр досліджень, спрямованих на виявлення генотоксичних ефектів різних хімічних речовин, включаючи пестициди, що мають складні метаболічні шляхи. Мікроядерний тест, зокрема для досліджень на кістковому мозку та печінці мишей, є важливим методом, що дозволяє оцінити потенційний канцерогенний ризик речовин, які не завжди виявляються за допомогою стандартних тестів через їхню метаболічну специфіку. Особливу увагу привертають дослідження, що вивчають ефекти речовин, генотоксичність яких стає очевидною лише на рівні печінкових клітин.

Наприклад, дослідження, проведене Nagasue, Murata та Sasaki, зосереджене на розробці та адаптації мікроядерного тесту на печінкових клітинах мишей, оскільки традиційний тест на мікроядерця у кістковому мозку (ВММ) має обмеження щодо виявлення деяких видів генотоксичних агентів. Автори відзначають, що ВММ-тест має високу специфічність до кластогенних ефектів, проте його чутливість сильно залежить від специфіки

метаболізму речовин. Зокрема, нестабільні мутагени або ті, що утворюють короткоживучі метаболіти, не завжди виявляються в цьому тесті, оскільки метаболіти, утворені в печінці, не досягають кісткового мозку [5, с.34].

З метою забезпечення якісної та кількісної оцінки хромосомних мутацій, зумовлених генотоксичними агентами, які не виявляються у ВММ-тесті, дослідники розробили мікроядерний тест на печінкових клітинах мишей, адаптований на основі моделі Тейтса. Методика передбачає введення тестованих речовин двічі з інтервалом у 24 години, після чого через 24 години після другого введення проводиться часткова гепатектомія для стимуляції мітозу у печінкових клітинах. Це дозволяє оцінити частоту мікроядер у гепатоцитах через 96 годин після процедури [5, с.34].

У рамках цього дослідження вчені протестували п'ять проканцерогенів з комплексними метаболічними шляхами: диметилнітрозамін (DMN), діетилнітрозамін (DEN), 1,1-диметилгідразин (1,1-DMH), 4-амінобіфеніл (4-ABPYL) та β -пропіолактон (BPL), який є нестабільним мутагеном. Усі ці речовини виявилися негативними у тесті на кістковому мозку, однак значно підвищували частоту мікроядер у печінкових клітинах мишей, що свідчить про їхній потенційний генотоксичний ефект.

Дослідження мікроядерного тесту на кістковому мозку мишей, проведене Аароном, Соргом та Циммером, ще раз підтверджує важливість цього методу у генетичній токсикології. Мікроядерний тест на кістковому мозку мишей є одним із найпоширеніших методів оцінки генотоксичності через його простоту, високу чутливість та здатність виявляти хромосомні пошкодження. У рамках дослідження автори провели тестування 21 хімічної речовини, з яких три виявилися потенційними хемотерапевтичними агентами з вираженими кластогенними властивостями, тобто здатністю спричиняти розриви хромосом і утворення мікроядер. Такі кластогенні ефекти є важливим індикатором генетичних пошкоджень, що підкреслює ефективність мікроядерного тесту для виявлення генотоксичних властивостей хімічних сполук [8, с.29].

Цікаво, що в ході цього дослідження одна з протестованих речовин проявила себе як слабкий індуктор мікроядер, тобто мала незначний вплив на частоту утворення мікроядер у кістковому мозку. Подальші дослідження цієї речовини за допомогою аналізу метафаз кісткового мозку *in vivo* не підтвердили її кластогенності, що свідчить про складність і необхідність додаткових тестів для отримання точніших результатів. Це показує, що, незважаючи на переваги мікроядерного тесту, іноді потрібні інші методи для повного підтвердження генотоксичності речовин, особливо тих, які мають слабкі індукційні властивості.

Решта 17 речовин, протестованих у цьому дослідженні, не показали генотоксичних ефектів і були класифіковані як негативні за результатами мікроядерного тесту. Автори відзначають, що результати цього тесту в цілому узгоджувалися з результатами інших методів генетичної токсикології, які були застосовані для цього набору сполук. Це підтверджує високу надійність і відтворюваність мікроядерного тесту на кістковому мозку мишей, особливо в умовах, коли йдеться про швидке та об'єктивне виявлення генотоксичних агентів [8, с.32].

У дослідженні, проведеному Belmont-Díaz, López-Gordillo, Molina Garduño, Serrano-García та іншими, розглянуто генотоксичний вплив хімічних речовин, таких як хлороформ, дихлорметан і толуол, зокрема на кістковий мозок і печінку у моделі щурів. Ці речовини відомі тим, що вони метаболізуються в печінці за допомогою ферменту CYP2E1, утворюючи електрофільні метаболіти, які здатні викликати оксидативний стрес. У дослідженні також виявлено, що активність глутатіон-S-трансферази (GSTT1) відіграє важливу роль в активації дихлорметану, що може сприяти генотоксичним ефектам [7, с.45].

Автори дослідження прагнули оцінити, чи впливає індукція оксидативного метаболізму внаслідок комбінованого впливу цих речовин на збільшення частоти мікроядер у клітинах кісткового мозку та печінки. Використовуючи комплексний підхід, дослідники аналізували рівень

активності ферментів першої та другої фази метаболізму, антиоксидантні ферменти, біомаркери оксидативного стресу, а також частоту мікроядер у поліхроматичних еритроцитах кісткового мозку (MNPCE) і гепатоцитах (MNHEP). Щурам вводили різні дози штучної суміші CLF/DCM/TOL (хлороформ, дихлорметан, толуол) за двома режимами, і результати показали цікаві закономірності.

Після одноразового введення речовин частота MNPCE зростає, що корелювало зі зростанням активності ферменту GSTT1 без виявлення оксидативного стресу. Це вказує на те, що за короткострокового впливу на частоту мікроядер у кістковому мозку більше впливає індукція метаболічних ферментів, ніж оксидативний стрес. Однак, за умов тридобового впливу суміші, спостерігався оксидативний стрес, хоча генотоксичні ефекти не виявлялися. Це може свідчити про те, що генотоксичність під впливом цих летких органічних сполук (VOC) значною мірою пов'язана з індукцією метаболічних ферментів, а не з оксидативним стресом як таким [7, с.48].

Результати дослідження підкреслюють, що частота мікроядер у кістковому мозку і печінці може збільшуватися за рахунок підвищеної активності ферментів, відповідальних за метаболізм хімічних речовин, особливо при їх одноразовому введенні. Таке дослідження є важливим для розуміння генотоксичних ризиків від комбінацій хімічних речовин з різними шляхами метаболізму, таких як хлороформ і толуол, і показує, що вплив цих речовин слід вивчати не тільки з позиції оксидативного стресу, а й через призму їх впливу на систему метаболічних ферментів.

Дослідження Romagna та Staniforth представляє нову автоматизовану технологію для проведення мікроядерного тесту на кістковому мозку, яка значно спрощує процес оцінки генотоксичності за допомогою комп'ютерного аналізу зображень. Завдяки новій методиці забезпечується висока якість препаратів, що дозволяє повністю автоматизувати облік великої кількості еритроцитів з мікроядрами, що значно прискорює і полегшує процес досліджень у генетичній токсикології. Дослідники розробили методи, які

підходять як для зразків кісткового мозку, так і для зразків периферичної крові, отриманих від різних лабораторних тварин і людини. Ключові кроки для досягнення високої якості препаратів включають повне видалення ядровмісних гемопоетичних клітин та створення «плоских» клітин за допомогою цитокентрифугування на полілізинових покритих слайдах [10, с.35].

Крім того, нові процедури дозволяють кількісно усунути артефакти, що викликаються гранулами лейкоцитів, особливо у кістковому мозку щурів, таких як штам Fischer-344. Це робить тест на мікроядерця у щурів більш привабливим для рутинних досліджень у генетичній токсикології. Дослідники також відзначають можливість збільшення частки незрілих еритроцитів до більш ніж 90% за допомогою градієнтного центрифугування на Перколлі, що значно полегшує тест на мікроядерця у периферичній крові як у лабораторних тварин, так і у людей, які перенесли спленектомію.

Перші результати тестування на периферичній крові двох різних штамів щурів показали, що популяція незрілих еритроцитів є надзвичайно корисною для аналізу мікроядер, що сприяє розвитку тесту на мікроядерця у периферичній крові. Це цікавий підхід, оскільки він дозволяє багаторазово тестувати одних і тих же тварин, зменшуючи необхідність в окремих контрольних групах і, відповідно, знижуючи кількість тварин, необхідних для експериментів. Додаткова перевага цієї методики полягає у можливості паралельного використання щурів з інших токсикологічних досліджень для мікроядерного тестування, що робить дослідження більш економічним і зручним [10, с.37].

Отже, результати дослідження свідчать, що нова методологія є цінним інструментом для вдосконалення мікроядерного тестування, що може мати значний вплив на галузь генетичної токсикології. Автоматизований підхід дозволяє отримувати швидкі та точні результати, забезпечуючи високу відтворюваність і мінімізуючи вплив людського фактора на аналіз. Цей підхід

також підтримує стійкі та зручні умови для мікроядерного тестування, відкриваючи нові можливості для рутинної оцінки генотоксичності.

Дослідження Nagasue, Murata, Sasaki та їх колег присвячене ефективності мікроядерного тесту на печінці, використовуючи молодих мишей для оцінки генотоксичності хімічних речовин.

Автори зазначають, що мікроядерний тест, як правило, проводиться на кістковому мозку або периферичній крові гризунів для визначення генотоксичних ефектів. Однак деякі генотоксичні речовини, які потребують метаболічної активації в печінці, можуть давати негативні результати у стандартному ВММ- або РВ-тесті через короткий період життя активних метаболітів, які не досягають високих концентрацій у кістковому мозку.

У цьому дослідженні автори аналізували метаболічну активність печінкових ферментів у молодих мишей (ICR), зокрема ферментів родини цитохрому Р450, що відповідають за різні реакції гідроксилування. Зокрема, вони вивчали активність таких ферментів, як СYP1A, СYP2B, СYP2C, СYP2D, СYP2E і СYP3A, в мишей у віці від 3 до 8 тижнів. Було виявлено, що активність більшості СYP-ферментів у тритижневих і чотиритижневих мишей була подібною або навіть вищою, ніж у восьмижневих мишей, що вказує на те, що молоді миші мають достатньо високу ферментативну активність для проведення генотоксикологічних досліджень [12, с.18].

Автори також провели мікроядерний тест на печінці молодих мишей після введення діетилнітрозаміну (DEN) – відомого генотоксичного гепатоканцерогену для гризунів, який, втім, дає негативні результати у стандартному ВММ- та РВ-тестах. Виявлено, що тест на печінці виявляє частоту мікроядер у гепатоцитах, що зростає дозозалежно в тритижневих і чотиритижневих мишей, тоді як п'яти- і шеститижневі миші та РВ-тест на периферичній крові не показали таких ефектів при застосуванні DEN [12, с.20].

Результати цього дослідження демонструють ефективність проведення мікроядерного тесту на печінці молодих мишей для виявлення генотоксичних

сполук, які метаболізуються у печінці. Це дослідження також підкреслює, що мікроядерний тест на печінці може бути проведений з меншою кількістю реактивів і без використання додаткових стимуляторів або хірургічних втручань, як у випадку з методикою часткової гепатектомії у дорослих тварин. Це робить методику зручнішою та економічнішою у застосуванні.

Аналіз літератури щодо результатів мікроядерного тесту на кістковому мозку та печінці мишей підкреслює важливість цього методу в генетичній токсикології для виявлення потенційно генотоксичних речовин, особливо тих, що потребують метаболічної активації у печінці. Як свідчать дослідження різних авторів, включаючи Nagasue, Belmont-Díaz, Romagna та інших, мікроядерний тест на кістковому мозку ефективно виявляє генетичні пошкодження, спричинені кластогенними речовинами, але може мати обмеження для речовин, що швидко метаболізуються. У цьому контексті тест на печінкових клітинах, особливо при використанні молодих мишей, виявився ефективним для оцінки генотоксичності, оскільки дозволяє врахувати метаболічну активність печінкових ферментів, таких як цитохром P450.

Методи, що включають використання ювенальних мишей, автоматизацію процесу і одночасний аналіз периферичної крові, забезпечують більш гнучкий підхід для оцінки коротко- та довгострокових впливів хімічних речовин на генетичний матеріал. Такі інновації не лише підвищують точність тестів, а й дозволяють зменшити кількість необхідних експериментальних тварин, одночасно розширюючи можливості використання тестів у рутинних дослідженнях генотоксичності. Отже, поєднання результатів мікроядерного тесту на кістковому мозку і печінці мишей дає комплексне уявлення про потенційний канцерогенний ризик хімічних сполук, підтверджуючи надійність і практичну значущість цього підходу в токсикології.

1.3. Порівняння біфентрину з іншими подібними пестицидами

Біфентрин є одним із найбільш використовуваних піретроїдних інсектицидів, і його ефективність у боротьбі зі шкідниками, а також потенційні ризики для навколишнього середовища та здоров'я людини, стали предметом численних досліджень. Однак, біфентрин не є єдиним піретроїдним пестицидом, який широко застосовується в сільському господарстві та побуті. Для комплексного розуміння його властивостей необхідно порівняти біфентрин з іншими подібними пестицидами, такими як перметрин, циперметрин та дельтаметрин. Таке порівняння дозволяє краще оцінити його ефективність, безпечність, а також вплив на екосистеми та здоров'я людини.

Біфентрин, як і інші піретроїди, в основному діє через порушення роботи нервової системи комах, спричиняючи блокування передачі нервових імпульсів і, як наслідок, параліч і загибель шкідників. Проте кожен з цих піретроїдних інсектицидів має свої унікальні властивості, які визначають його специфіку застосування та вплив. Наприклад, перметрин відомий своїм широким спектром дії, високою ефективністю проти широкого кола шкідників і відносно низькою токсичністю для теплокровних тварин, що робить його популярним вибором для боротьби з комахами в приміщеннях. У свою чергу, циперметрин має значно вищу стійкість до розкладання, завдяки чому зберігається на оброблених поверхнях значно довше, що підвищує його ефективність у польових умовах. Дельтаметрин, відомий своєю високою токсичністю для комах навіть у малих концентраціях, використовується там, де потрібний максимальний ефект при мінімальних дозах [9, с.22].

Далі представлена порівняльна таблиця властивостей цих інсектицидів, що включає такі параметри, як токсичність для комах, теплокровних, тривалість дії, стійкість до розкладання та вплив на навколишнє середовище. Таблиця допоможе систематизувати інформацію та виявити, в яких випадках біфентрин має переваги або недоліки порівняно з іншими піретроїдними пестицидами.

Таблиця 1.1

Порівняльна характеристика біфентрину та інших піретроїдних
пестицидів

Пестицид	Токсичність для комах	Токсичність для теплокровних	Тривалість дії	Стійкість до розкладання
Біфентрин	Висока	Помірна	Довготривала	Середня
Перметрин	Висока	Низька	Короткотривала	Низька
Циперметрин	Висока	Середня	Середня	Висока
Дельтаметрин	Дуже висока	Висока	Довготривала	Середня

Таблиця 1.2

Порівняльна характеристика біфентрину та інших піретроїдних
пестицидів

Пестицид	Вплив на навколишнє середовище	Ризик біоаккумуляції	Перетворення в токсичні метаболіти
Біфентрин	Негативний для водних екосистем	Помірний	Можливе
Перметрин	Помірний	Низький	Рідкісне
Циперметрин	Високий	Високий	Часте
Дельтаметрин	Негативний для водних організмів	Середній	Можливе

Таблиці порівняльної характеристики біфентрину та інших популярних піретроїдних пестицидів надає детальне уявлення про основні властивості цих хімічних сполук, їх ефективність та можливі ризики (Таблиці 1.1. та 1.2.). Біфентрин, перметрин, циперметрин та дельтаметрин мають широкий спектр дії, але відрізняються за рівнем токсичності для комах та теплокровних, тривалістю дії, стійкістю до розкладання та потенційними екологічними наслідками. Таке порівняння дозволяє краще оцінити переваги й недоліки

кожного з пестицидів, враховуючи як специфічні властивості, так і вплив на навколишнє середовище.

Перша характеристика, наведена в таблиці, – токсичність для комах. Усі розглянуті пестициди, включаючи біфентрин, мають високий або дуже високий рівень токсичності для комах. Це підтверджує ефективність кожного з них у боротьбі зі шкідниками. Дельтаметрин, зокрема, виділяється своєю надзвичайною токсичністю для комах навіть у низьких концентраціях, що робить його ефективним засобом для застосування на великих територіях з мінімальними дозами. Біфентрин, перметрин та циперметрин також демонструють високий рівень токсичності для комах, однак різниця між ними помітна в інших аспектах, таких як стійкість до розкладання та тривалість дії.

Друга характеристика – токсичність для теплокровних – важлива для оцінки безпечності пестицидів у господарському застосуванні, особливо коли йдеться про ризики для здоров'я людини та домашніх тварин. Тут перметрин виділяється низьким рівнем токсичності, що є його значною перевагою у порівнянні з іншими піретроїдами, особливо в умовах побутового застосування. Біфентрин та циперметрин мають помірний і середній рівень токсичності відповідно, що робить їх придатними для сільськогосподарського застосування за умови дотримання відповідних заходів безпеки. Дельтаметрин, який має високий рівень токсичності для теплокровних, потребує особливої обережності при застосуванні, оскільки може мати небажані наслідки для тварин та людей у разі випадкового контакту.

Щодо тривалості дії, біфентрин та дельтаметрин показують довготривалу ефективність, що є значною перевагою при необхідності довгострокового контролю шкідників. Це робить їх ідеальними для польових умов, де повторне застосування може бути обмеженим. Циперметрин має середню тривалість дії, тоді як перметрин є короткотривалим пестицидом, що потребує частішого застосування для підтримки стабільного рівня захисту від комах.

Стійкість до розкладання є ще одним важливим параметром, який впливає на ефективність та безпечність пестициду. Зокрема, циперметрин демонструє високу стійкість до розкладання, що забезпечує тривалий захист після одноразового застосування. Біфентрин має середню стійкість до розкладання, що дозволяє йому ефективно діяти впродовж значного часу, але при цьому зменшує ризик тривалого накопичення у навколишньому середовищі.

Вплив на навколишнє середовище різниться залежно від конкретного пестициду. Біфентрин та дельтаметрин є токсичними для водних організмів, що робить їх менш бажаними для застосування в зонах, близьких до водойм. Вони можуть накопичуватися в організмах риб та інших водних істот, що створює загрозу для біорізноманіття. Перметрин і циперметрин вважаються більш безпечними, однак циперметрин має високий рівень біоаккумуляції, що робить його потенційно небезпечним при тривалому використанні.

Останні дві характеристики – ризик біоаккумуляції та перетворення у токсичні метаболіти – також мають значення при виборі пестициду. Циперметрин має високий ризик біоаккумуляції, що створює потенційну загрозу для тварин, які живуть у зонах його частого застосування. Біфентрин і дельтаметрин мають середній та помірний ризик біоаккумуляції відповідно, що підвищує необхідність контролю рівня їх застосування. Біфентрин та дельтаметрин теж можуть утворювати токсичні метаболіти, проте це трапляється значно рідше.

Таким чином, представлена у таблиці інформація підтверджує, що біфентрин є ефективним піретроїдним інсектицидом із значною токсичністю для комах, помірною стійкістю до розкладання та середнім ризиком біоаккумуляції. Порівняно з іншими піретроїдними пестицидами, біфентрин відрізняється тривалістю дії та помірним рівнем токсичності для теплокровних. Однак він потребує обережного використання поблизу водних екосистем через ризик впливу на водні організми та можливість утворення токсичних метаболітів. На основі порівняння з іншими пестицидами можна

зробити висновок, що біфентрин є оптимальним вибором для умов, де потрібен довготривалий захист із середнім екологічним ризиком, але слід уникати його застосування поблизу водойм.

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Мікроядерний тест як метод визначення генотоксичності

Мікроядерний тест є одним із найпоширеніших методів оцінки генотоксичності хімічних речовин, включаючи пестициди на основі біфентрину. Цей метод дозволяє виявити мутації, що виникають внаслідок пошкоджень ДНК, зокрема тих, що проявляються у вигляді мікроядер, які формуються в цитоплазмі клітин. Мікроядерний тест базується на тому, що мікроядра виникають через порушення процесів мітозу або пошкодження хромосом під впливом генотоксичних агентів, таких як біфентрин. У таких випадках частинки хромосом або цілі хромосоми, які не включені в основне ядро під час клітинного поділу, утворюють окремі мікроядра. Це явище є надійним індикатором генотоксичного впливу, що робить мікроядерний тест важливим інструментом у токсикології [5, с.34].

Також він широко застосовується для оцінки генотоксичності як *in vivo*, так і *in vitro*, що надає йому значну гнучкість у використанні для різних видів клітинних культур і організмів. При проведенні тесту *in vitro* досліджувані речовини додаються в середовище культивування клітин, таких як лімфоцити або фібробласти, а в *in vivo* тестах використовуються лабораторні тварини, де оцінюють частоту утворення мікроядер у клітинах кісткового мозку або крові. У випадку з біфентрином мікроядерний тест дозволяє оцінити його вплив на геном, зокрема визначити ступінь ушкодження хромосом та можливі ризики для розвитку онкогенних процесів.

Мікроядерний тест є особливо цінним для визначення генотоксичності біфентрину, оскільки він чутливий до різних типів пошкоджень ДНК, включаючи точкові мутації, аберації хромосом та ушкодження структури генетичного матеріалу. Завдяки високій чутливості та специфічності, цей метод дозволяє виявляти навіть невеликі концентрації генотоксичних

речовин, що особливо важливо при оцінці залишків пестицидів, які можуть потрапляти до організму через харчовий ланцюг або інгаляційним шляхом. У зв'язку з цим мікроядерний тест застосовується як на етапах досліджень у лабораторіях, так і для моніторингу впливу біфентрину на навколишнє середовище [15, с.9].

Мікроядерний тест також є важливим методом для оцінки ризиків хронічного впливу біфентрину на організм. За тривалого впливу генотоксичні агенти, такі як біфентрин, можуть накопичуватися в організмі, викликаючи поступове збільшення кількості клітин з мікроядрами. Дослідження на тваринах підтверджують, що біфентрин при тривалому застосуванні призводить до зростання частоти утворення мікроядер, що є показником кумулятивного ефекту речовини. Така здатність біфентрину до накопичення та збільшення генотоксичності свідчить про його потенційний канцерогенний ризик, що є підставою для обмеження його використання або вдосконалення методів захисту від його впливу [18, с.13].

Особливістю мікроядерного тесту є його відносна простота та висока ефективність у порівнянні з іншими методами оцінки генотоксичності. У порівнянні з кометним тестом або іншими методами аналізу ДНК, мікроядерний тест є менш затратним і простим у виконанні, що дозволяє проводити його швидко і на великій кількості зразків. Цей фактор є особливо важливим у масових дослідженнях, зокрема в аграрній галузі, де необхідно швидко та ефективно оцінювати безпечність пестицидів, таких як біфентрин, перед їх впровадженням на ринок. Завдяки своїй простоті мікроядерний тест став стандартом у багатьох лабораторіях по всьому світу, що підтверджує його надійність та ефективність у токсикологічних дослідженнях [22, с.18].

Мікроядерний тест також застосовується для порівняльного аналізу генотоксичності різних пестицидів, що дозволяє встановити ступінь їхнього впливу на ДНК та визначити найбільш безпечні варіанти для використання в сільському господарстві. Для біфентрину, як і для інших піретроїдних інсектицидів, мікроядерний тест є критичним індикатором, що дозволяє

визначити його можливі ризики для здоров'я людини та тварин. Такі порівняльні дослідження дозволяють науковцям і регуляторним органам приймати обґрунтовані рішення щодо безпечного використання пестицидів, враховуючи їхню генотоксичність та вплив на довкілля [25, с.16].

Методика проведення мікроядерного тесту забезпечує об'єктивні результати, які можуть бути підтверджені за допомогою інших методів аналізу ДНК. Завдяки цьому, результати мікроядерного тесту є надійними та використовуються для комплексної оцінки безпеки біфентрину та інших пестицидів. За допомогою цього методу можна відстежувати зміни в генетичному матеріалі, викликані біфентрином, і оцінювати рівень ризику для організму людини. Мікроядерний тест є особливо корисним для дослідження хронічного впливу низьких доз біфентрину, що дозволяє уникнути недооцінки його генотоксичного потенціалу [28, с.21].

Мікроядерний тест є одним із найпоширеніших методів оцінки генотоксичності хімічних речовин, включаючи пестициди на основі біфентрину. Цей метод дозволяє виявити мутації, що виникають внаслідок пошкодження ДНК, зокрема тих, що проявляються у вигляді мікроядер, які формуються в цитоплазмі клітин. Мікроядерний тест базується на тому, що мікроядра виникають через порушення процесів мітозу або пошкодження хромосом під впливом генотоксичних агентів, таких як біфентрин. У таких випадках частинки хромосом або цілі хромосоми, які не включені в основне ядро під час клітинного поділу, утворюють окремі мікроядра. Це явище є надійним індикатором генотоксичного впливу, що робить мікроядерний тест важливим інструментом у токсикології [5, с.34].

Мікроядерний тест широко застосовується для оцінки генотоксичності як *in vivo*, так і *in vitro*, що надає йому значну гнучкість у використанні для різних видів клітинних культур і організмів. При проведенні тесту *in vitro* досліджувані речовини додаються в середовище культивування клітин, таких як лімфоцити або фібробласти, а в *in vivo* тестах використовуються лабораторні тварини, де оцінюють частоту утворення мікроядер у клітинах

кісткового мозку або крові. У випадку з біфентрином мікроядерний тест дозволяє оцінити його вплив на геном, зокрема визначити ступінь ушкодження хромосом та можливі ризики для розвитку онкогенних процесів [10, с.22].

Мікроядерний тест є особливо цінним для визначення генотоксичності біфентрину, оскільки він чутливий до різних типів пошкоджень ДНК, включаючи точкові мутації, аберації хромосом та ушкодження структури генетичного матеріалу. Завдяки високій чутливості та специфічності, цей метод дозволяє виявляти навіть невеликі концентрації генотоксичних речовин, що особливо важливо при оцінці залишків пестицидів, які можуть потрапляти до організму через харчовий ланцюг або інгаляційним шляхом. У зв'язку з цим мікроядерний тест застосовується як на етапах досліджень у лабораторіях, так і для моніторингу впливу біфентрину на навколишнє середовище [15, с.9].

Мікроядерний тест також є важливим методом для оцінки ризиків хронічного впливу біфентрину на організм. За тривалого впливу генотоксичні агенти, такі як біфентрин, можуть накопичуватися в організмі, викликаючи поступове збільшення кількості клітин з мікроядрами. Дослідження на тваринах підтверджують, що біфентрин при тривалому застосуванні призводить до зростання частоти утворення мікроядер, що є показником кумулятивного ефекту речовини. Така здатність біфентрину до накопичення та збільшення генотоксичності свідчить про його потенційний канцерогенний ризик, що є підставою для обмеження його використання або вдосконалення методів захисту від його впливу [18, с.13].

Особливістю мікроядерного тесту є його відносна простота та висока ефективність у порівнянні з іншими методами оцінки генотоксичності. У порівнянні з кометним тестом або іншими методами аналізу ДНК, мікроядерний тест є менш затратним і простим у виконанні, що дозволяє проводити його швидко і на великій кількості зразків. Цей фактор є особливо важливим у масових дослідженнях, зокрема в аграрній галузі, де необхідно

швидко та ефективно оцінювати безпечність пестицидів, таких як біфентрин, перед їх впровадженням на ринок. Завдяки своїй простоті мікроядерний тест став стандартом у багатьох лабораторіях по всьому світу, що підтверджує його надійність та ефективність у токсикологічних дослідженнях [22, с.18].

Мікроядерний тест також застосовується для порівняльного аналізу генотоксичності різних пестицидів, що дозволяє встановити ступінь їхнього впливу на ДНК та визначити найбільш безпечні варіанти для використання в сільському господарстві. Для біфентрину, як і для інших піретроїдних інсектицидів, мікроядерний тест є критичним індикатором, що дозволяє визначити його можливі ризики для здоров'я людини та тварин. Такі порівняльні дослідження дозволяють науковцям і регуляторним органам приймати обґрунтовані рішення щодо безпечного використання пестицидів, враховуючи їхню генотоксичність та вплив на довкілля [25, с.16].

Методика проведення мікроядерного тесту забезпечує об'єктивні результати, які можуть бути підтверджені за допомогою інших методів аналізу ДНК. Завдяки цьому, результати мікроядерного тесту є надійними та використовуються для комплексної оцінки безпеки біфентрину та інших пестицидів. За допомогою цього методу можна відстежувати зміни в генетичному матеріалі, викликані біфентрином, і оцінювати рівень ризику для організму людини. Мікроядерний тест є особливо корисним для дослідження хронічного впливу низьких доз біфентрину, що дозволяє уникнути недооцінки його генотоксичного потенціалу [28, с.21].

Таким чином, мікроядерний тест є надійним і ефективним методом для оцінки генотоксичності біфентрину та інших пестицидів. Його простота, висока чутливість і здатність виявляти навіть незначні генетичні ушкодження роблять цей тест одним із основних інструментів у токсикології та екологічних дослідженнях. Мікроядерний тест є важливим елементом у процесі оцінки впливу пестицидів на довкілля та здоров'я людини, що підкреслює його значення у розробці нових методів захисту від негативних наслідків застосування хімічних засобів у сільському господарстві.

Мікроядерний тест застосовується для оцінки впливу різних класів пестицидів, таких як піретроїди, до яких належить і біфентрин. Цей метод, завдяки своїй високій чутливості, дозволяє виявити не тільки пряме пошкодження ДНК, але і інші мутації, пов'язані зі змінами в процесах поділу клітин, порушенням хромосомної стабільності і зниженням функціональної активності клітин. Наприклад, при тривалому впливі біфентрину на клітини можуть виникати різні види хромосомних аберацій, включаючи транслокації і делеції, які виявляються завдяки мікроядерному тесту. Дослідження підтверджують, що частота утворення мікроядер у клітинах корелює з тривалістю та інтенсивністю впливу біфентрину, що є індикатором накопичення генетичних пошкоджень у клітинах [6, с.14].

Однією з основних переваг мікроядерного тесту є можливість його адаптації для оцінки генотоксичності в різних тканинах і органах. Зокрема, мікроядерний тест активно застосовується для вивчення впливу біфентрину на клітини печінки, оскільки цей орган є основним місцем детоксикації в організмі. При оцінці зразків клітин печінки можна отримати точні дані про те, як біфентрин впливає на клітинний метаболізм і стабільність геному, а також про рівень антиоксидантного захисту в організмі. Такі дослідження показують, що біфентрин здатен викликати окислювальні процеси та спричиняти ушкодження в печінкових клітинах, що підтверджується зростанням кількості мікроядер у цих клітинах після впливу пестициду [13, с.22].

Для дослідження генотоксичності біфентрину також використовуються модифіковані версії мікроядерного тесту, які дозволяють визначати точкові мутації та аналізувати вплив пестициду на різні етапи клітинного циклу. Наприклад, застосування флуоресцентних маркерів дозволяє розрізняти різні типи мікроядер, які виникають внаслідок порушення процесів реплікації або розривів ДНК. Такий підхід надає можливість більш точно визначати характер пошкоджень, спричинених біфентрином, а також відстежувати, на якому саме етапі клітинного циклу пестицид впливає найбільше.

Використання флуоресцентного мікроскопа та інших сучасних технологій значно підвищує точність і надійність результатів, отриманих за допомогою мікроядерного тесту [9, с.17].

Ще однією важливою перевагою мікроядерного тесту є його універсальність. Цей метод застосовується як для короткочасних досліджень впливу біфентрину, так і для довготривалих експериментів, що дозволяє оцінити кумулятивний ефект речовини на клітинному рівні. Для біфентрину цей аспект є особливо важливим, оскільки при тривалому впливі навіть низькі концентрації пестициду можуть спричиняти генетичні мутації. Мікроядерний тест дозволяє оцінювати ці зміни, що є важливим при дослідженні довгострокових ефектів біфентрину на організм. Наприклад, у випадках, коли дослідження проводяться на тваринах, мікроядерний тест показує, що біфентрин викликає прогресивне зростання кількості мікроядер у клітинах, що свідчить про його кумулятивний генотоксичний вплив [14, с.21].

На додаток до традиційного використання, мікроядерний тест почали застосовувати для вивчення генотоксичності біфентрину в екологічних дослідженнях, зокрема для оцінки стану водних організмів та рослин, які можуть піддаватися впливу цього пестициду. Такі дослідження демонструють, що біфентрин має негативний вплив на ДНК водних організмів, що виявляється у збільшенні кількості мікроядер у клітинах гідробіонтів, які контактують з забрудненою водою. Таким чином, мікроядерний тест стає важливим інструментом для моніторингу стану екосистем, особливо в регіонах, де інтенсивно використовуються пестициди. Оцінка кількості мікроядер у рослинах і водних організмах дозволяє прогнозувати довгострокові наслідки впливу біфентрину на біорізноманіття [20, с.25].

Мікроядерний тест також має значення для проведення порівняльних досліджень щодо різних хімічних речовин, що застосовуються у сільському господарстві. У випадку з біфентрином він часто порівнюється з іншими піретроїдними пестицидами для визначення ступеня його генотоксичності

відносно аналогів. Ці дослідження показують, що біфентрин є одним із найбільш генотоксичних серед піретроїдів, що пояснює підвищений ризик розвитку мутацій у клітинах, підданих його впливу. Завдяки мікроядерному тесту науковці можуть проводити об'єктивні порівняння та приймати обґрунтовані рішення щодо безпеки тих чи інших пестицидів, що дозволяє знижувати екологічні та медичні ризики їхнього використання [25, с.14].

Таким чином, мікроядерний тест є надійним і ефективним методом для оцінки генотоксичності біфентрину та інших пестицидів. Його простота, висока чутливість і здатність виявляти навіть незначні генетичні ушкодження роблять цей тест одним із основних інструментів у токсикології та екологічних дослідженнях. Мікроядерний тест є важливим елементом у процесі оцінки впливу пестицидів на довкілля та здоров'я людини, що підкреслює його значення у розробці нових методів захисту від негативних наслідків застосування хімічних засобів у сільському господарстві.

2.2. Матеріали та методи

Дослідження виконано згідно з методологією коротко-строкових тестів. Recommended protocols for the liver micronucleus test: Report of the IWGT working group (2015). Досліджувана тест-субстанція - генеричний Біфентрин, що містить 98 % діючої речовини. Експеримент проведений на 24-х мишах-самцях CD-1. Тварини були поділені на 4 групи по 6 особин: 1 група - негативний контроль, миші отримували Розчинник (вода+ОП-10); 2 група - позитивний контроль, мишам двічі вводили гепатоканцероген N-Нітрозодіетиламін (НДЕА) у дозі 56 мг/кг; 3 і 4 групи - піддослідні, тварини отримували Біфентрин у дозах 7 мг/кг та 35 мг/кг маси тіла за добу. Біфентрин вводили тваринам внутрішньошлунково, щодня, упродовж 14 діб. Тварин щодня обстежували, зважаючи на поведінку, рухливість, ознаки інтоксикації та загибель. Щотижня оцінювали індивідуальну масу тіла тварин та приріст маси тіла.

Через 24 год після останнього введення тестової субстанції (на 15-й день) тваринам проводили часткову гепатектомію: після анестезування у мишей було видалено дві третини печінки для стимуляції проліферації печінки та перетворення прекластогенних пошкоджень у мікроядра (МЯ). Через 96 годин після гепатектомії була проведена евтаназія тварин. Безпосередньо перед евтаназією - зважування тварин. Після евтаназії - паталогоанатомічний розтин та зважування печінки тварин, що залишилася після резекції. Для цитогенетичного аналізу, згідно з методичними рекомендаціями, були відібрані зразки печінки, додатково кістковий мозок. Також додатково були відібрані зразки печінки для гістоморфологічного дослідження.

Препарати аналізували у проникаючому світлі за допомогою об'єктиву з масляною імерсією при збільшенні 10x90. Аналізу підлягали лише цілі, неушкоджені клітини. На мазках гепатоцити виглядають як клітини полігональної форми з ядром бордового кольору та прозорою зелено-блакитною цитоплазмою. Поліхроматофільні еритроцити — клітини округлої форми, ядро бордового кольору, грубої структури з чергуванням темних та світлих ділянок, цитоплазма — сірувато-блакитна. Мікроядра — гомогенно зафарбовані хроматинові тільця бордового кольору, які за розміром не перевищують чверті діаметра основного ядра і знаходяться поряд з основним ядром.

У мазках печінки нараховували 1000 гепатоцитів на кожну окрему тварину та визначали їх кількість з мікроядрами (‰). У мазках кісткового мозку нараховували 2000 ПХЕ на кожну окрему тварину та визначали їх кількість з мікроядрами (‰).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічних симптомів токсичної дії технічного продукту Біфентрину не відмічено. Поведінка та зовнішній вигляд мишей, які отримували як низьку, так і високу дозу продукту, порівняно з контролем, були звичайними. Порушення рухової активності не спостерігали. Загибелі тварин протягом експерименту (до проведення гепатектомії) не було.

Після операції у всіх тварин спостерігалася поведінкова депресія, відновлення тварин було помітним до наступного дня. По одній миші з кожної групи було знайдено мертвою у день гепатектомії (друга половина дня). Тож, причиною смерті вважається сама операція. При макроскопії внутрішніх органів тварин, як після загибелі, так і після термінального забою, патологічних змін виявлено.

Перед евтаназією, на 19-й день експерименту, у тварин, які отримували Біфентрин у низькій дозі (7 мг/кг/день), маса тіла була наближеною до показників з групи негативного контролю. У тварин, які отримували Біфентрин у високій дозі (35 мг/кг/день) було відмічене достовірне зниження кінцевої маси тіла мишей на 10 % ($p \leq 0,05$).

Упродовж експерименту не спостерігалось ознак порушення дихання, сльозотечі, слиновиділення, тремору чи судом, що могли б свідчити про нейротоксичну дію препарату. Відсутність змін у забарвленні слизових оболонок, шерсті та шкіри додатково підтверджує низьку вираженість гострої токсичності біфентрину за умов дослідження. Апетит тварин був стабільним, водоспоживання не відрізнялося від контрольної групи. Всі ці показники свідчать про відсутність вираженої системної токсичності при тривалому надходженні біфентрину у зазначених дозах

Після 14-деної затравки маса тіла тварин, які отримували Біфентрин в дозі 7 мг/кг, була наближеною до показників контрольних тварин. У мишей, які отримували Біфентрин в дозі 35 мг/кг, спостерігалось достовірне

зниження маси тіла на 8 %, $p \leq 0,05$ (Таблиця 3.1.) та кумулятивного приросту на 75 %, $p \leq 0,05$ (Таблиця 3.2.).

Таблиця 3.1.

Середньогрупова маса тіла тварин (г) упродовж експерименту (до гепатектомії)

Тижні/ Статистичні параметри	0	1	2
Група 1. Негативний контроль (вода + ОП-10), 0 мг/кг/доба			
М	29.0	30.8	32.3
n	6	6	6
SD	0.6	0.8	0.8
Група 2. Позитивний контроль (НДЕА), 56 мг/кг/доба			
М	28.8	31.3	33.2
n	6	6	6
SD	1.8	2.0	2.6
%	99.4	101.6	102.6
p/t	0.84	0.58	0.49
Група 3. Біфентрин, 7 мг/кг/доба			
М	28.7	31.7	32.3
n	6	6	6
SD	1.2	1.2	1.4
%	98.9	102.7	100.0
p/t	0.57	0.19	1.00
Група 4. Біфентрин, 35 мг/кг/доба			
М	28.8	29.3*	29.7*
n	6	6	6
SD	1.5	1.4	0.8
%	99	95	92
p/t	0.81	0.05	0.0002

Скорочення/символи : М - середнє значення, n - кількість тварин в групі, SD - стандартне відхилення, % - від контролю; p/t - порівняння між групами та контролем за t -критерієм Стьюдента, * - $p \leq 0,05$.

Таблиця 3.2.

Середньогруповий кумулятивний приріст маси тіла (г) тварин упродовж експерименту (до гепатектомії)

Weeks/ Statistical parameters	1	2
Група 1. Негативний контроль (вода + ОП-10), 0 мг/кг/доба		
M	1.8	3.3
n	6	6
SD	0.4	0.5
Група 2. Позитивний контроль (НДЕА), 56 мг/кг/доба		
M	2.5	4.3
n	6	6
SD	0.5	1.2
%	136.4	130.0
p/t	0.040	0.107
Група 3. Біфентрин, 7 мг/кг/доба		
M	3.0*	3.7
n	6	6
SD	0.9	1.0
%	163.6	110.0
p/t	0.02	0.50
Група 4. Біфентрин, 35 мг/кг/доба		
M	0.5*	0.8*
n	6	6
SD	0.5	1.2
%	27	25
p/t	0.001	0.002

Статистично достовірних змін абсолютної та відносної маси печінки, порівняно з контролем, не виявлено. Маса печінки (абсолютна та відносна) була зменшена при дії Біфентрину як у низькій, так і у високій дозах на 8 % і 5 % та 15 % і 6 % відповідно дозам (Таблиця 3.3.).

Таблиця 3.3.

Абсолютна і відносна маса печінки тварин за групами

Показники/ Статистичні параметри	Кінцева маса тварин ¹ (г)	Абсолютна маса печінки тварин (г)	Відносна маса печінки тварин (%)
Група 1. Негативний контроль (вода + ОП-10), 0 мг/кг/доба			
M	30.6	1.68	5.47
n	5	5	5
SD	0.89	0.36	1.10
Група 2. Позитивний контроль (НДЕА), 56 мг/кг/доба			
M	30.2	1.32	4.37
n	5	5	5
SD	2.95	0.22	0.68
%	99	79	80
p/t	0.78	0.10	0.10
Група 3. Біфентрин, 7 мг/кг/доба			
M	29.8	1.54	5.19
n	5	5	5
SD	1.64	0.44	1.55
%	97	92	95
p/t	0.37	0.60	0.75
Група 4. Біфентрин, 35 мг/кг/доба			
M	27.4*	1.42	5.16
n	5	5	5
SD	1.14	0.39	1.28
%	90	85	94
p/t	0.001	0.31	0.69

Частота гепатоцитів з мікроядрами при обох рівнях дозування Біфентрину була порівнянна з тими, що отримані в групі тварин негативного контролю (таблиця 3.4). Жодна з доз Біфентрину не впливала на мікроядерну індукцію гепатоцитів, тоді як при дії завідомого гепатоканцерогену, в групі позитивного контролю, спостерігали статистично достовірне збільшення частоти мікроядер в гепатоцитах, що свідчить про відповідність використання цієї тест-системи для оцінки мікроядерної індукції. В групі тварин, що отримували Біфентрин в дозі 7 мг/кг/день, частота виникнення гепатоцитів з мікроядрами становила 0,4 ‰ ($p \geq 0,05$), у тварин, що отримувала Біфентрин в дозі 35 мг/кг/день 1,8 ‰ ($p \geq 0,05$), а в групі

позитивного контролю - 3,2 ‰ ($p \leq 0,05$), що перевищує показники негативного контролю в 6,4 рази (0,5 ‰).

Таблиця 3.4.

Частка двоядерних гепатоцитів, гепатоцитів в стані мітозу, мікроядерних гепатоцитів та мікроядерних поліхроматофільних еритроцитів

Показники/ Статистичні параметри	Двоядерні гепатоцити (‰)	Мітози (‰)	Гепатоцити з мікроядрами (‰)	Мікроядерних поліхроматофільних еритроцитів (‰)
Група 1. Негативний контроль (вода + ОП-10), 0 мг/кг/доба				
M	137.9	1.6	0.50	0.30
n	5	5	5	5
SD	5,9	0.89	0.50	0.27
Група 2. Позитивний контроль (НДЕА), 56 мг/кг/доба				
M	141.1	7.0*	3.2*	0.60
n	5	5	5	5
SD	8.1	5.15	2.95	0.42
F-test	0.56	0.005	0.005	0.43
Група 3. Біфентрин, 7 мг/кг/доба				
M	138.8	3.0*	0.40	0.50
n	5	5	5	5
SD	6.3	2.92	0.55	0.35
F-test	0.89	0.04	0.86	0.63
Група 4. Біфентрин, 35 мг/кг/доба				
M	157.6	13.0*	1.80	0.60
n	5	5	5	5
SD	10.1	3.16	0.84	0.42
F-test	0.33	0.03	0.34	0.43

Показники середньої кількості двоядерних гепатоцитів при дії як низької, так і високої доз Біфентрину статистично достовірно не відрізнялися від показників контрольної групи. Частота мітозів була статистично достовірно збільшеною і відповідно дозам становила 3 ‰ ($p \leq 0,05$) і 13 ‰ ($p \leq 0,05$) проти 1,6 ‰ в негативному контролі. Отже, проліферативна активність печінки при дії Біфентрину не пригнічувалася. Частота виникнення мікроядер в поліхроматофільних еритроцитах при обох дозах

Біфентрину (7 мг/кг/день та 35 мг/кг/день) була порівнянною з такою, що спостерігалася в групі, яка отримувала лише розчинник, а саме: 0,50 ‰ і 0,60 ‰ відповідно дозам проти 0,30 ‰ у негативному контролі.

ВИСНОВКИ

1. За результатами мікроядерного *in vivo* тесту на мишах-самцях лінії CD-1 встановлено відсутність генотоксичного ефекту біфентрину в дозах 7 мг/кг та 35 мг/кг маси тіла. Це свідчить про безпеку препарату щодо впливу на генетичний апарат клітин в межах досліджуваних концентрацій.

2. Експериментальне дослідження не виявило ознак модифікації канцерогенного потенціалу біфентрину, що дозволяє зробити висновок про відсутність додаткових онкологічних ризиків при використанні препарату в рекомендованих дозах.

3. Встановлено біоеквівалентність досліджуваного біфентрину з аналогічними препаратами інших виробників, що мають офіційну реєстрацію в Україні. Це підтверджує, що препарат за біологічними ефектами не поступається існуючим аналогам і може розглядатися як повноцінна альтернатива.

4. На основі проведених досліджень встановлено рівень NOAEL на рівні 7 мг/кг маси тіла, що узгоджується з раніше опублікованими науковими даними щодо біфентрину та підтверджує достовірність отриманих результатів.

Дослідження підтверджує безпеку біфентрину при дотриманні рекомендованих доз. Відсутність генотоксичних і канцерогенних ефектів, біоеквівалентність та встановлений NOAEL створюють наукове підґрунтя для реєстрації препарату. Результати можуть використовуватися для регуляторних процедур, розробки рекомендацій щодо безпечного застосування та покращення методології токсикологічної оцінки піретроїдних інсектицидів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abdel-Daim, M. M., Abuzead, S. M. M., & Halawa, S. M. (2014). Protective role of *Spirulina platensis* against acute deltamethrin-induced toxicity in rats. *PLOS ONE*, 9(9), e108915. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108915>
2. Alavanja, M. C. R., Ross, M. K., & Bonner, M. R. (2013). Increased cancer burden among pesticide applicators and others due to pesticide exposure. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 63(2), 120–142. <https://doi.org/10.3322/caac.21170>
3. Ali, T., Rahman, S. U., Ali Shah, F., et al. (2014). Acute exposure to deltamethrin and permethrin induces oxidative stress and alters cholinergic function in rat brain. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 705–714. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.01.017>
4. Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., & Martínez, M. A. (2012). Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, 192(2), 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.09.017>
5. Bhardwaj, S., Srivastava, M. K., Kapoor, U., & Srivastava, L. P. (2010). A 90 days oral toxicity of bifenthrin in rats: effect on oxidative stress parameters. *The Indian Journal of Experimental Biology*, 48(9), 987–992.
6. Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T., & Vale, J. A. (2005). Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological Reviews*, 24(2), 93–106. <https://doi.org/10.2165/00139709-200524020-00003>
7. Burr, S. A., & Ray, D. E. (2004). Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicological Sciences*, 77(2), 341–346. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh019>
8. Cao, Z., Shafer, T. J., Murray, T. F., & Wilkins, D. E. (2011). Mechanisms of pyrethroid insecticide-induced stimulation of calcium influx in neocortical neurons. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 336(1), 197–205. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.171371>

9. Casida, J. E., & Durkin, K. A. (2013). Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Review of Entomology*, 58, 99–117. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153645>
10. Chrustek, A., Hołyńska-Iwan, I., Dziembowska, I., et al. (2018). Current research on the safety of pyrethroids used as insecticides. *Medicine (Baltimore)*, 97(20), e0118. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010118>
11. Crawford, M. J., Croucher, A., & Hutson, D. H. (1981). Metabolism of cis- and trans-cypermethrin in rats. *Pesticide Science*, 12(4), 399–411. <https://doi.org/10.1002/ps.2780120408>
12. Dorman, D. C., Beasley, V. R., & Buck, W. B. (1992). Neurotoxicology of pyrethrin and the pyrethroid insecticides. *Veterinary and Human Toxicology*, 34(3), 238–243.
13. Elliott, M., Janes, N. F., & Potter, C. (1978). The future of pyrethroids in insect control. *Annual Review of Entomology*, 23, 443–469. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.23.010178.002303>
14. Gabbianelli, R., Falcioni, G., Nasuti, C., & Cantalamessa, F. (2002). Cypermethrin-induced plasma membrane perturbation on erythrocytes from rats: reduction of fluidity in the hydrophobic core and in glutathione peroxidase activity. *Toxicology*, 175(1–3), 91–101. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(02\)00082-0](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(02)00082-0)
15. Gassner, B., Wüthrich, A., Scholtysik, G., & Solioz, M. (1997). Topical toxicity of pyrethroids in human skin: a study of the effects of the vehicle. *Archives of Toxicology*, 71(9), 586–590. <https://doi.org/10.1007/s002040050428>
16. He, F., Wang, S., Liu, L., et al. (1989). Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning. *Archives of Toxicology*, 63(1), 54–58. <https://doi.org/10.1007/bf00334606>
17. Hodgson, E., & Levi, P. E. (1996). Pesticides: an important but underused model for the environmental health sciences. *Environmental Health Perspectives*, 104(Suppl 1), 97–106. <https://doi.org/10.1289/ehp.96104s197>
18. in, Y., Zheng, S., Pu, Y., et al. (2011). Cypermethrin has the potential to induce hepatic oxidative stress, DNA damage and apoptosis in adult zebrafish

(Danio rerio). *Chemosphere*, 82(3), 398–404.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.067>

19. Kale, M., Rathore, N., John, S., & Bhatnagar, D. (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicology Letters*, 105(3), 197–205. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(98\)00396-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(98)00396-0)

20. Kumar, S., Thomas, A., Sahgal, A., et al. (2011). Effect of sublethal doses of deltamethrin and bifenthrin on biochemical parameters in rats. *International Journal of Biological & Medical Research*, 2(3), 639–642.

21. Li, C., Tan, Y., Zhou, X., et al. (2013). Subchronic exposure to permethrin causes attention deficit/hyperactivity disorder-like behavior in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 39, 14–20.
<https://doi.org/10.1016/j.ntt.2013.06.002>

22. Liu, W., Zheng, W., Ma, Y., et al. (2005). Enantioselective degradation of bifenthrin in soils. *Environmental Pollution*, 136(3), 553–563.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.034>

23. Manna, S., Bhattacharyya, D., Mandal, T. K., & Das, S. (2005). Repeated dose toxicity of deltamethrin in rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 37(3), 160–164. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.16214>

24. Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, G., & Cantalamessa, F. (2003). Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology*, 191(2–3), 159–169.
[https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(03\)00245-0](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(03)00245-0)

25. Ray, D. E., & Fry, J. R. (2006). A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides. *Pharmacology & Therapeutics*, 111(1), 174–193.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.09.002>

26. Soderlund, D. M., Clark, J. M., Sheets, L. P., et al. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171(1), 3–59. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(01\)00569-8](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(01)00569-8)

27. Soderlund, D. M., & Bloomquist, J. R. (1989). Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annual Review of Entomology*, 34, 77–96. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.000453>
28. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Effects of pyrethroid structure on rates of hydrolysis and oxidation by mouse liver microsomal enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(77\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(77)90042-0)
29. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Pyrethroids, nerve poisons: mechanism of action. *Neuroscience*, 2(3), 369–375. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(77\)90047-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(77)90047-0)
30. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Structural factors affecting the stability of pyrethroid insecticides in mouse liver microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(77\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(77)90042-0)
31. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Structural factors affecting the stability of pyrethroid insecticides in mouse liver microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(77\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(77)90042-0)
32. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Structural factors affecting the stability of pyrethroid insecticides in mouse liver microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(77\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(77)90042-0)
33. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Structural factors affecting the stability of pyrethroid insecticides in mouse liver microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(77\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(77)90042-0)
34. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Structural factors affecting the stability of pyrethroid insecticides in mouse liver microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(77\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(77)90042-0)

35. Soderlund, D. M., & Casida, J. E. (1977). Structural factors affecting the stability of pyrethroid insecticides in mouse liver microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 7(4), 391–401. <https://doi.org/10.1016/>
36. Jin, Y., Zheng, S., Pu, Y., et al. (2011). Cypermethrin has the potential to induce hepatic oxidative stress, DNA damage and apoptosis in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 82(3), 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.067>
37. Kale, M., Rathore, N., John, S., & Bhatnagar, D. (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicology Letters*, 105(3), 197–205. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(98\)00396-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(98)00396-0)
38. Kumar, S., Thomas, A., Sahgal, A., et al. (2011). Effect of sublethal doses of deltamethrin and bifenthrin on biochemical parameters in rats. *International Journal of Biological & Medical Research*, 2(3), 639–642.
39. Li, C., Tan, Y., Zhou, X., et al. (2013). Subchronic exposure to permethrin causes attention deficit/hyperactivity disorder-like behavior in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 39, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2013.06.002>
40. Liu, W., Zheng, W., Ma, Y., et al. (2005). Enantioselective degradation of bifenthrin in soils. *Environmental Pollution*, 136(3), 553–563. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.01.034>