

ВЛИЯНИЕ ПЕНДИМЕТАЛИНА НА ЭНДОКРИННУЮ СИСТЕМУ КРЫС-САМЦОВ В ПРЕПУБЕРТАТНОМ ПЕРИОДЕ

**В.С.Лисовская, Н.Н. Недопитанская, кандидат биол. наук,
Е.А.Баглей, доктор мед. наук, Е.В.Решавская, Л.В.Ткаченко**

Государственное предприятие «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И.Медведя Министерства здравоохранения Украины», г. Киев, Украина

РЕЗЮМЕ. Цель работы: изучение влияния генерика Пендиметалина на эндокринную систему на модели полового созревания отъёмышей крыс-самцов и роли щитовидной железы в данном процессе.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен в соответствии с Протоколом для скрининга эндокринных дизрапторов на модели полового созревания отъёмышей крыс-самцов (OPPTS 890.1500) на 60 крысах Wistar Han (SPF), получавших Пендиметалин, 98 %, внутрижелудочно в дозах 5, 10 и 500 мг/кг массы тела.

Результаты исследования. В результате экспериментальных исследований установлено, что Пендиметалин в дозе 500 мг/кг замедляет половое созревание крыс-самцов, вызывает общетоксический, гонадотоксический и тиреотоксический эффект.

Заключение. Пендиметалин действует как эндокринный дизраптор в дозах более 10 мг/кг массы тела. В основе влияния на эндокринную систему крыс-самцов лежит тиреотоксический и гонадотоксический эффект.

Ключевые слова: пендиметалин, эндокринная система, модель полового созревания крыс-самцов, механизм действия, эндокринный дизраптор.

Ежегодно в мире регистрируется 122 тысячи новых случаев рака щитовидной железы, что составляет 1 % от всех регистрируемых случаев злокачественных опухолей у человека [1]. Из всех известных гормонов, синтезирующихся в организме, гормоны щитовидной железы обладают наиболее широким спектром действия, и любая дисфункция железы сказывается на энергетическом тоне организма, включая процессы развития, роста и полового созревания. Поэтому изучение влияния факторов окружающей среды на состояние эндокринной системы и щитовидной железы, в частности, остается актуальной проблемой.

Пендиметалин, N-(1-этилпропил)-2,6-динитро-3,4-ксилидин (IUPAC), почвенный гербицид, относится к химическому классу динитроанилинов [2,3]. Пендиметалин относится к малотоксичным веществам: ЛД₅₀ для мышей при пероральном поступлении составляет 3189 мг/кг, ЛС₅₀ для крыс при ингаляционном поступлении превышает 3200 мг/м³, ЛД₅₀ для крыс при перкутанном воздействии более 2000 мг/кг; является слабым раздражителем слизистых оболочек глаз, не аллерген. Экспертами US EPA классифицирован как

канцероген группы С (возможный канцероген для человека). Пендиметалин при пероральном поступлении вызывает увеличение частоты опухолей щитовидной железы у крыс-самцов. Механизм канцерогенеза гормональный, пороговый [4,5]. Эпидемиологическими исследованиями установлена корреляционная связь между онкологическими заболеваниями (рак легких, поджелудочной железы и прямой кишки) и контактом с пестицидными препаратами, содержащими Пендиметалин [6-8]. Поэтому в Украине согласно классификации пестицидов по степени опасности он отнесен ко второму классу. Многие авторы рассматривают Пендиметалин как потенциальный эндокринный дизраптор как в Украине, так и в странах ЕС [9,10].

Цель работы — изучение влияния генерика Пендиметалина на эндокринную систему на модели полового созревания отъёмышей крыс-самцов и роли щитовидной железы в данном процессе на основе методических рекомендаций по скринингу эндокринных дизрапторов «Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/ Peripubertal Male Rats Assay», OCSPP Guideline 890.1500.

Матеріали и методи

Исследование проведено на 60 отъёмышках крыс-самцов Wistar Han массой тела 45 ± 5 г при внутрижелудочном введении Пендиметалина, 98 % в дозах 5, 10 и 500 мг/кг массы тела на протяжении 30 дней – с 23 по 53 день постнатального развития (PND). Пендиметалин, 98 %, производства КНР, соответствовал существующим международным стандартам. Животные разделены на 4 группы по 15 самцов в каждой. Выбранные дозы на уровне 5 и 500 мг/кг массы тела соответствуют недействующей и действующей дозам по данным токсикологической оценки оригинального препарата у крыс. Доза 10 мг/кг была взята в качестве промежуточной. Растворы исследуемого продукта готовились ежедневно, extempore на подсолнечном масле. Концентрация раствора для низкой дозы соответствовала 0,05 %, промежуточной – 0,1 %, высокой дозы – 1,0 %. Животные получали вещество в виде гомогенной эмульсии в объеме 1 мл на 100 г массы тела утром до кормления. Животные из группы негативного контроля получали подсолнечное масло в аналогичных условиях.

Животные получены из SPF питомника мелких лабораторных животных ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя Министерства здравоохранения Украины» на 21 день постнатального развития после отлучения их от матери. Через 2 суток (PND 23) крысы были взяты в эксперимент и размещены в «чистой» зоне вивария барьерного типа по 5 особей в клетке. Для подстилки использовалась стерильная не хлорированная пищевая бумага. Комната была обеспечена принудительной вентиляцией (12 объемов в час) подготовленным воздухом. Температура и относительная влажность воздуха соответствовали 19 – 21°C и 53 – 56 %. Освещение комнат – лампы дневного света (12 часов света, 12 часов темноты). На протяжении эксперимента животные получали сбалансированный гранулированный корм Альтромин (Германия) и обеззараженную

фильтрованную воду. В ходе эксперимента проводился ежедневный осмотр животных с целью выявления каких-либо отклонений, связанных с действием вещества, а именно: поведение, подвижность, аппетит, состояние шерстного покрова, кожи и слизистых оболочек животных. Учитывались такие показатели как выживаемость, общая динамика массы тела, прирост массы тела, половое созревание (отделение препуция (PPS)) и масса тела при PPS.

Через 24 часа после последнего введения исследуемого вещества была проведена эвтаназия животных – в CO₂ камере, согласно требованиям Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕС [11].

После эвтаназии все животные подвергались патологоанатомическому вскрытию. Перед вскрытием произведен осмотр трупа, регистрировались все отклонения от нормы. При вскрытии проводилось макроскопическое обследование органов и тканей животных; взвешивание семенников, эпидидимисов, семенных пузырьков, простаты и комплекса мышц тазового дна (LABC), а также печени, почек, гипофиза, надпочечников, щитовидной железы. Щитовидная железа взвешивалась с участком трахеи, масса которой была постоянной и не вносила погрешность в изменения веса железы.

Для гистологического исследования отбирали семенники, эпидидимисы и щитовидную железу. Гистологические препараты готовили общепринятыми в морфологических исследованиях методами [12]. Гистоморфологические исследования проводились с учетом комплекса основных показателей, отражающих характер и степень морфоструктурных нарушений, выраженность компенсаторных изменений [13, 14, 15].

Морфометрический анализ щитовидной железы проведен у 5 животных из каждой группы, измерено по 100 фолликулов железы каждого животного. Измерялась высота тиреоидного эпителия, диаметр фолликулов и их просвет, выводился фол-

ликулоэпителиальный индекс [13, 16]. Измерения проводили с использованием компьютерной программы для микроскопии и анализа.

Статистическую оценку полученных результатов осуществляли в соответствии с методическими указаниями [17]. Близость распределения данных устанавливалась с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Уилкинсона, гомогенность – по критериям Кохрана, Хартли, Барлетта, Левина. При нормальном распределении и гомогенности переменных использовался однофакторный анализ переменных ANOVA. При отсутствии нормального распределения использовался критерий Манна-Уитни. Для проведения коррекции показателей возраста, массы тела при отделении препуция, а также массы органов использовался анализ ANCOVA. В качестве ковариационной переменной взята масса тела животных PND 21. Разница между показателями контрольных и подопытных животных была достоверной при $p \leq 0,05$. Оценку достоверности гистологических показателей проводили с помощью точного критерия Фишера. Статистические расчеты проводились с помощью пакета программ «Statistica 6.0» и модуля Excel пакета «Microsoftoffice» (2010).

Результаты и обсуждение

Гибели животных в течение всего эксперимента не отмечено. У крыс, получавших Пендиметалин в дозах 5 и 10 мг/кг м.т., не наблюдалось изменений массы тела и прироста массы тела. Вместе с тем, у животных, получавших максимальную дозу вещества – 500 мг/кг, начиная с 6 суток воздействия, статистически достоверно снижалась масса тела (на 9 - 12 %) и прирост массы тела (на 14 - 23 %). К концу эксперимента масса тела животных была ниже на 11%, прирост массы тела – на 14 % соответственно. Таким образом, Пендиметалин, 98 % в дозе 500 мг/кг проявлял общетоксическое действие.

Возраст полового созревания крыс определяли по критерию «отделение пре-

пуция» (PPS) в сутках после рождения (PND). Установлено, что временные показатели PPS у животных, получавших Пендиметалин в дозах 5 и 10 мг/кг м.т., не отличались от контрольных, тогда как в максимальной дозе наблюдалось достоверное отставание PPS: 43,5 суток против 39,0 в контроле (табл. 1). На момент PPS у животных всех экспериментальных групп не выявлено достоверных изменений массы тела. В конце эксперимента масса тела и прирост массы тела статистически достоверно снижены у животных, получавших препарат в максимальной дозе. Полученные результаты свидетельствуют о торможении полового созревания крыс самцов при воздействии Пендиметалина в дозе 500 мг/кг.

Исследование органов и тканей экспериментальных животных проведено на 31-й день (53 PND) эксперимента. При внешнем осмотре контрольных и подопытных крыс, а также при патоморфологических исследованиях внутренних органов и тканей при вскрытии не выявлено каких-либо различий между животными. Результаты определения абсолютной и относительной массы органов эндокринной системы, в том числе репродуктивных органов, представлены в табл. 2 и табл. 3.

Анализ полученных данных (табл.2), свидетельствует о статистически значимом снижении массы семенников, эпидидимисов, семенных пузырьков и предстательной железы (на 7, 21, 24 и 28% соответственно), а также LABC (на 21 %) под действием Пендиметалина в дозе 500 мг/кг. В дозах 10 и 5 мг/кг не выявлено влияния Пендиметалина на массу репродуктивных органов, однако отмечена дозовая зависимость снижения массы предстательной железы: на 2 %, на 8 % и на 28 % при действии вещества в дозах 5, 10 и 500 мг/кг.

Влияние Пендиметалина также вызвало увеличение абсолютной и относительной массы печени, статистически значимое в минимальной и максимальной дозах (табл. 3), при этом абсолютная масса печени увеличивалась на 10 % и 8 %, относительная масса на 13% и 21%, соответствен-

Обобщенные данные физиологических показателей полового созревания крыс-самцов

| Показатели полового созревания | Группа 1 Негативный контроль (0 мг/кг) | | | Группа 2 Пендиметалин (5 мг/кг) | | | Группа 3 Пендиметалин (10 мг/кг) | | | Группа 4 Пендиметалин (500 мг/кг) | | | |
|--------------------------------|---|-------|----|------------------------------------|-------|----|-------------------------------------|-------|----|--------------------------------------|-------|----|----|
| | M | SD | CV | M | SD | CV | M | SD | CV | M | SD | CV | n |
| Возраст PPS, сутки | U | 39,0 | 7 | 40,1 | 4,03 | 10 | 40,1 | 1,75 | 4 | 43,5* | 3,60 | 8 | 15 |
| | A | 39,4 | | 40,1 | | | 40,2 | | | 42,8 | | | |
| Масса тела при PPS, г | U | 137,3 | 10 | 143,1 | 16,61 | 12 | 142,7 | 11,94 | 8 | 146,5 | 15,52 | 11 | 15 |
| | A | 137,9 | | 142,3 | | | 142,9 | | | 145,6 | | | |
| Исходная масса тела(PND 23), г | U | 63,9 | 7 | 62,9 | 6,65 | 11 | 63,3 | 5,54 | 9 | 61,0 | 6,26 | 10 | 15 |
| | A | 63,9 | | 62,8 | | | 63,3 | | | 63,9 | | | |
| Масса тела в конце опыта, г | U | 194,7 | 8 | 189,3 | 12,84 | 7 | 188,2 | 12,85 | 7 | 174,0* | 14,04 | 8 | 15 |
| | A | 193,2 | | 189,1 | | | 187,6 | | | 176,2 | | | |
| Прирост массы тела, г | U | 130,8 | 10 | 126,4 | 10,91 | 9 | 124,9 | 10,50 | 8 | 113,0* | 12,28 | 11 | 15 |
| | A | 130,5 | | 126,4 | | | 124,8 | | | 113,5 | | | |

Таблиця 2

Обобщенные данные абсолютной массы половых органов крыс-самцов

| Показатели полового созревания | Группа 1 Негативный контроль (0 мг/кг) | | | Группа 2 Пендиметалин (5 мг/кг) | | | Группа 3 Пендиметалин (10 мг/кг) | | | Группа 4 Пендиметалин (500 мг/кг) | | | |
|--------------------------------|---|--------|----|------------------------------------|-------|----|-------------------------------------|-------|----|--------------------------------------|-------|----|----|
| | M | SD | CV | M | SD | CV | M | SD | CV | M | SD | CV | n |
| Семенные пузырьки, мг | U | 338,0 | 33 | 344,0 | 118,4 | 34 | 367,3 | 74,9 | 20 | 255,3* | 96,9 | 38 | 15 |
| | A | 323,3 | | 342,7 | | | 361,0 | | | 277,6* | | | |
| Предстательная железа, мг | U | 196,7 | 23 | 192,0 | 48,0 | 25 | 181,3 | 31,1 | 17 | 141,3* | 41,9 | 29 | 15 |
| | A | 191,4 | | 191,5 | | | 179,1 | | | 149,3* | | | |
| LABC, мг | U | 426,0 | 34 | 386,7 | 74,8 | 34 | 427,3 | 65,0 | 15 | 338,7 | 90,0 | 38 | 15 |
| | A | 416,6 | | 385,8 | | | 423,3 | | | 352,9 | | | |
| Эпидидимис правый, мг | U | 237,3 | 18 | 232,7 | 39,0 | 15 | 259,3 | 29,6 | 11 | 195,3* | 35,6 | 18 | 15 |
| | A | 232,6 | | 232,3 | | | 257,3 | | | 202,5* | | | |
| Эпидидимис левый, мг | U | 248,7 | 13 | 238,0 | 36,3 | 17 | 254,0 | 30,2 | 12 | 197,3* | 37,7 | 19 | 15 |
| | A | 244,1 | | 237,6 | | | 252,0 | | | 204,3* | | | |
| Семенник правый, мг | U | 1301,3 | 7 | 1284,7 | 77,5 | 6 | 1331,3 | 106,0 | 8 | 1232,7* | 109,6 | 9 | 15 |
| | A | 1296,2 | | 1284,2 | | | 1329,1 | | | 1243,5* | | | |
| Семенник левый, мг | U | 1308,7 | 6 | 1294,7 | 90,5 | 7 | 1348,0 | 78,2 | 6 | 1212,0* | 111,2 | 9 | 15 |
| | A | 1301,5 | | 1294,0 | | | 1344,9 | | | 1219,7* | | | |

Примечание: M - средняя величина; SD - стандартное отклонение; CV - коэффициент вариации; n - количество животных; U(Uadjusted) - не откорректированные данные; A (adjusted) - откорректированные данные; * p ≤ 0,05

Таблиця 3

Обобщенные данные абсолютной и относительной массы эндокринных органов

| Показатели полового созревания | Группа 1 Негативный контроль (0 мг/кг) | | | Группа 2 Пендиметалин (5 мг/кг) | | | Группа 3 Пендиметалин (10 мг/кг) | | | Группа 4 Пендиметалин (500 мг/кг) | | | | | | |
|--------------------------------|---|--------|-----|------------------------------------|--------|------|-------------------------------------|----|---------|--------------------------------------|----|----|--------|------|----|----|
| | M | SD | CV | n | M | SD | CV | n | M | SD | CV | n | M | SD | CV | n |
| Печень, г | U | 11,8 | 1,0 | 8 | 13,0* | 1,4 | 11 | 15 | 12,3 | 1,1 | 9 | 15 | 12,8 | 1,2 | 9 | 15 |
| | A | 11,8 | | | 12,3 | | | | 12,3 | | | | 12,8 | | | |
| | R | 6,1 | 0,4 | 7 | 6,9* | 0,7 | 9 | | 6,6 | 0,8 | 13 | | 7,3* | 0,5 | 7 | |
| Почки, г | U | 1,6 | 0,1 | 7 | 1,6 | 0,1 | 9 | 15 | 1,6 | 0,1 | 8 | 15 | 1,5 | 0,1 | 10 | 15 |
| | A | 1,6 | | | 1,6 | | | | 1,6 | | | | 1,5 | | | |
| | R | 0,8 | 0,1 | 5 | 0,8 | 0,05 | 6 | | 0,9 | 0,08 | 9 | | 0,9* | 0,05 | 6 | |
| Гипофиз, мг | U | 6,6 | 0,9 | 13 | 6,8 | 0,5 | 8 | 15 | 7,0 | 0,8 | 12 | 15 | 6,2 | 1,0 | 16 | 15 |
| | A | 6,6 | | | 6,8 | | | | 7,0 | | | | 6,2 | | | |
| | R | 0,0034 | 0,4 | 12 | 0,0036 | 0,3 | 9 | | 0,0037* | 0,4 | 10 | | 0,0036 | 0,5 | 14 | |
| Надпочечники (пара), мг | U | 57,3 | 3,8 | 7 | 56,9 | 3,7 | 7 | 15 | 53,3 | 7,3 | 14 | 15 | 50,4* | 5,7 | 11 | 15 |
| | A | 57,3 | | | 56,9 | | | | 53,3 | | | | 50,4* | | | |
| | R | 0,030 | 2,5 | 9 | 0,030 | 2,2 | 7 | | 0,029 | 4,7 | 16 | | 0,029 | 2,3 | 8 | |
| Щитовидная железа, мг | U | 102,3 | 9,2 | 9 | 103,9 | 7,9 | 8 | 15 | 104,1 | 11,5 | 11 | 15 | 93,3* | 6,9 | 7 | 15 |
| | A | 102,1 | | | 103,9 | | | | 104,1 | | | | 93,5 | | | |
| | R | 0,053 | 5,9 | 11 | 0,055 | 4,5 | 8 | | 0,055 | 5,7 | 10 | | 0,054 | 4,5 | 11 | |

Примечание:

M — средняя величина; SD — стандартное отклонение; CV — коэффициент вариации;
 n — количество животных; U(Unadjusted) — не откорректированные средние данные показателей абсолютной массы органов;
 A (adjusted) — откорректированные данные; R(Relative) — показатели относительной массы органов; * $p \leq 0,05$

но. В дозе 10 мг/кг Пендиметалин вызывал статистически недостоверное увеличение абсолютной и статистически достоверное увеличение относительной массы гипофиза (на 6% и 9%). Наиболее значимые изменения массы органов были выявлены у животных, получавших Пендиметалин в дозе 500 мг/кг массы тела: отмеченное выше увеличение абсолютной и относительной массы печени, относительной массы почек (на 5%), а также снижение абсолютной массы щитовидной железы (на 9%), надпочечников (на 12%) и репродуктивных органов.

Следует отметить, что увеличение массы печени, увеличение относительной массы гипофиза и щитовидной железы, в большей или меньшей мере прослеживались во всех подопытных группах, тогда как снижение массы органов репродуктивной системы отмечено только у животных, получавших максимальную дозу вещества.

При гистоструктурном анализе щитовидной железы выявлены морфологические признаки повышения функциональной активности органа в виде гиперемии стромы, увеличения высоты фолликулярного эпителия, десквамации эпителия в полость фолликулов, повышенной вакуолизации коллоида и снижение его содержания в фолликулах у животных всех подопытных групп по сравнению с контролем. При введении Пендиметалина в дозе 10 мг/кг в щитовидной железе, наряду с проявлениями слабо выраженной функциональной активности у 6 из 15 животных (в контроле 2 из 15), у 2 животных отмечены морфологические признаки выраженной активности железы (в контроле 0 из 15). Пендиметалин в дозе 500 мг/кг индуцировал у крыс признаки слабовыраженной функциональной активности, которые были выявлены у 7 из 15 животных и признаки выраженной функциональной активности — у 4 из 15 животных (рис.1), что носило статистически достоверный характер.

В результате обзорной гистологии препаратов эпидидимисов и семенников крыс

отъемышей у животных всех экспериментальных групп выявлено визуально видимое уменьшение спермы в эпидидимисах, расширение просветов отдельных канальцев и десквамацию небольших групп клеток сперматогенного эпителия в семенниках. При этом, если у животных, получавших Пендиметалин в дозе 5 мг/кг, указанные изменения были слабо выраженными, наблюдались у единичных животных и были сопоставимы с контролем (в контроле у 2 из 15), то в средней дозе (10 мг/кг) уменьшение спермы в отдельных канальцах эпидидимисов отмечено уже у 4 из 15 животных, в максимальной дозе (500 мг/кг) — у 10 из 15 животных и у одного из них уменьшение наблюдалось не в единичных, а во множественных канальцах. Кроме того, у 6 животных данной группы в отдельных канальцах эпидидимисов отмечено скопление секрета, как в виде капель, так и по всему канальцу (рис.2). В семенниках у одного животного отмечена сегментарная атрофия герминативного эпителия, еще у одного — атрофия герминативного эпителия и пролиферация клеток Лейдига (рис.3) при отсутствии таких нарушений у животных других групп.

Таким образом, у животных при действии Пендиметалина в дозе 500 мг/кг, отмечено статистически достоверное увеличение функциональной активности щитовидной железы, уменьшение количества спермы в эпидидимисах, а также увеличение случаев атрофии герминативного эпителия семенников и пролиферации клеток Лейдига, статистически не достоверное по количеству, однако имеющее значение по направленности и характеру проявления.

Влияние Пендиметалина на функциональную активность щитовидной железы оценено с помощью морфометрических показателей, которые представлены в табл. 4. Анализ полученных данных демонстрирует статистически достоверное уменьшение размера фолликулов (на 7%) в группе животных, получавших Пендиметалин в дозе 5 мг/кг. В остальных группах размеры фолликулов соответствуют конт-

рольним значенням. Высота тиреоидного эпителия увеличивалась у животных всех подопытных групп, тогда как просвет фолликулов, соответственно, уменьшался. Указанные изменения проявляли нечеткую дозовую зависимость. При изучении зависимости «доза-эффект» с помощью регрессионного анализа — статистически достоверной корреляции между изменениями этих показателей и дозой не установлено.

Таким образом, совокупность гистологических и морфометрических данных позволяет сделать вывод об усилении функциональной активности щитовидной железы при воздействии Пендиметалина в дозе 500 мг/кг, а выбранный интервал доз может быть принят как пороговый.

Известно, что повышение функциональной активности щитовидной железы приводит к структурным изменениям в строме и паренхиме железы, к изменениям гормонального фона в организме и влияет на массу тела. Подобного рода проявления отмечены в условиях проведенного эксперимента у животных, получавших максимальную дозу исследуемого вещества: установлено снижение массы тела животных и прироста массы тела, что рассматривается как общетоксический эффект. Деструктивно-дистрофические морфоструктурные изменения в репродуктивных органах, в частности, в эпидидимисах и семенниках, а также снижение их массы отражают антиандрогенное действие Пендиметалина. О гормональных нарушениях свидетельствуют также выявленные морфологические изменения в щитовидной железе, отражающие процессы альтерации и компенсации, а также уменьшение массы надпочечников и увеличение массы печени. Хорошо известно, что патология печени сопровождается расстройствами секреции и метаболизма тиреоидных гормонов [18] и приводит к нарушениям функции гормонов и/или их взаимосвязи между собой [19].

Полученные нами данные подтверждаются результатами исследований влияния оригинального продукта Пендимета-

Таблица 4

Обобщенные данные морфометрических показателей щитовидной железы крыс-самцов

| Показатели | Группа 1 Негативный контроль (0 мг/кг) | | | Группа 2 Пендиметалин (5 мг/кг) | | | Группа 3 Пендиметалин (10 мг/кг) | | | Группа 4 Пендиметалин (500 мг/кг) | | |
|--------------------------------|---|-----|------|------------------------------------|-------|------|-------------------------------------|------|-------|--------------------------------------|-------|------|
| | n | nf | M | SD | n | nf | M | SD | n | nf | M | SD |
| Внешний диаметр фолликула | 5 | 500 | 51,3 | 14,3 | 47,4* | 13,3 | 51,7 | 13,7 | 49,7 | 12,1 | 31,4* | 11,9 |
| Диаметр просвета фолликула | | | 35,3 | 13,9 | 29,9* | 13,0 | 33,7 | 13,2 | 18,1* | 3,0 | 18,2* | 2,7 |
| Высота фолликулярного эпителия | | | 15,9 | 2,6 | 17,5* | 3,2 | 1,62 | 0,3 | 1,67* | 0,3 | | |
| Фолликулоэпителиальный индекс | | | 1,53 | 0,2 | 1,71* | 0,4 | | | | | | |

Примечание: n — количество животных; nf — количество измеренных фолликулов; * p ≤ 0,05

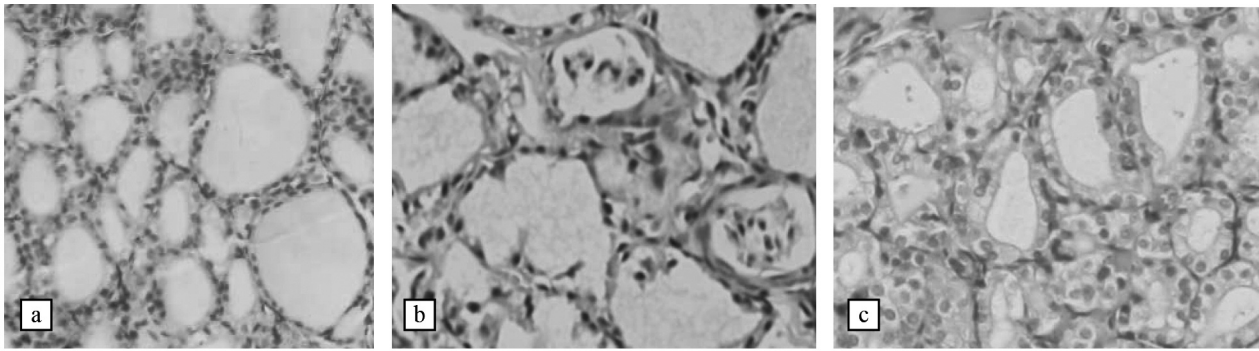


Рис. 1. Щитовидная железа. Окраска: гематоксилин — эозин. Увел.: x 100.

а — негативный контроль, коллоид гомогенный, равномерно расположен по всему фолликулу, эпителий кубический и плоский.

б — доза 500 мг/кг, десквамация тиреоцитов с отсутствием коллоида в части фолликулов.

с — доза 500 мг/кг, коллоид пенистый, небольшое количество или отсутствие, эпителий кубический до призматического.

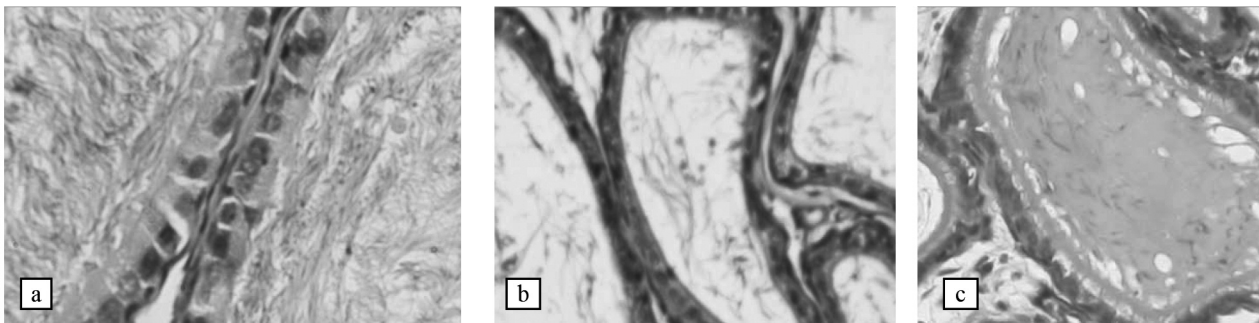


Рис. 2. Эпидидимисы. Окраска: гематоксилин — эозин. Увел.: x 400 (а), x 200 (в,с). а — негативный контроль, просветы канальцев равномерно заполнены спермой. б — доза 500 мг/кг, уменьшение количества спермы. с — доза 500 мг/кг, уменьшение количества спермы и скопление секрета в просвете канальца.

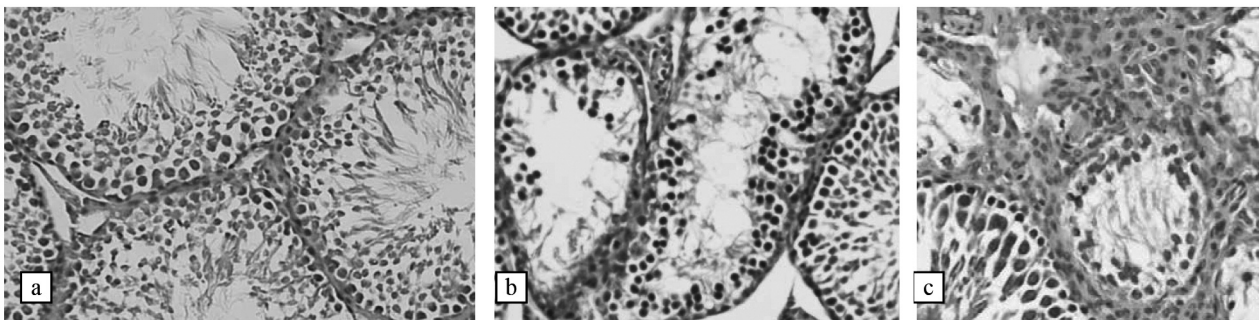


Рис. 3. Семенники. Окраска: гематоксилин — эозин. Увел.: x 100 (а), x 200 (в), x 400(с). а — негативный контроль, многоярядный сперматогенный эпителий. б — доза 500 мг/кг, признаки атрофии герминативного эпителия. с — доза 500 мг/кг, признаки атрофии герминативного эпителия извитых канальцев и пролиферация клеток Лейдига.

лина на функцию щитовидной железы у половозрелых крыс [20]. Механизм выявленного эффекта авторы также связывают с нарушением функции печени, вследствие которого увеличивается глюкуронизация гормонов щитовидной железы и выведение их из организма [21]. Выявленное антиандрогенное действие Пенди-

металина в условиях проведенного эксперимента проявлялось в максимальной дозе. Согласно данным литературы [22], при изучении прямого взаимодействия Пендиметалина с рецепторами эстрогенов hER α и hER β , и с рецепторами андрогенов hAR, выявлен слабый положительный эффект *in vitro* в тесте Reporter Gene Assays

в культуре клеток яичника китайского хомячка. Подобный эффект установлен при изучении повреждающего действия Пендиметалина на эндокринную систему у неполовозрелых самок крыс [10]. Пентиметалин вызвал небольшое, но значимое увеличение массы матки: абсолютной — в дозе 300 мг/кг и выше, а относительной — в дозе 600 мг/кг. Экспрессия мРНК альфа эстрогенного рецептора не изменялась, а бета-рецептора увеличивалась в высокой дозе. Уровень мРНК-рецептора прогестерона существенно не изменялся. Экспрессия мРНК андрогенного рецептора была снижена в дозе 225 мг/кг и выше. Авторы пришли к заключению, что Пентиметалин обладает слабой эстрогенной активностью, которая реализуется через бета-эстрогенный гормональный рецептор.

ВЫВОДЫ

Таким образом, результаты анализа полученных экспериментальных данных позволяют сделать вывод о способности Пендиметалина 98% при поступлении в

организм крыс-самцов Wistar Han на протяжении препубертантного периода в дозе 500 мг/кг замедлять половое созревание, оказывать тиреотоксическое и гонадотоксическое действие. Механизм тиреотоксического эффекта, по-видимому, связан с повреждением печени, следствием которого является нарушение процесса глюкуронизации гормонов щитовидной железы и усиление выведения их из организма. Гонадотоксический эффект обусловлен, вероятно, блокированием андрогенных рецепторов и нарушением синтеза андрогенов, о чем свидетельствует дозозависимое снижение абсолютной массы надпочечников. Воздействие на организм Пендиметалина в дозах 5 и 10 мг массы тела не приводит к указанным эффектам, за исключением некоторого усиления функциональной активности щитовидной железы, не сопровождающегося значимыми физиологическими и структурными изменениями. Исходя из этого, можно сделать заключение о том, что Пентиметалин является слабым эндокринным дизраптором.

ЛИТЕРАТУРА

1. Павлова Т.В. «Клинико-морфологические аспекты рака щитовидной железы» / Т.В. Павлова, И.А. Павлов Научные ведомости, Медицина. Фармация. — 2011. — №4(99). — Выпуск 13. — С.13 — 18.
2. Мельников Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. / Н.Н. Мельников — М.:Химия, 1987. — 712 с.
3. PPDB-Pesticides Properties Data Base — University of Hertfordshire// Электронный ресурс: sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb
4. Kegley S. PAN Pesticide Database, Pesticide Action Network, North America (San Francisco, CA. 2012), Pendimethalin - Identification, toxicity, use, water pollution potential, ecological toxicity and regulatory information / S. Kegley, B. Hill, S. Orme, Электронный ресурс: <http://www.pesticideinfo.org>.
5. Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential. Science Information Management Branch Health Effects Division. Office of Pesticide Programs. US Environmental Protection Agency — 2014. — 33 p.
6. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort / M.C.R. Alavanja, M. Dosemeci, C. Samanic [et al.]//American Journal of Epidemiology — 2004. — №160 (9). — P. 876 — 885.
7. Pendimethalin exposure and cancer incidence among pesticide applicators / L. Hou, W.J. Lee, J.A. Rusiecki, J.A. Hoppin [et al.] // Epidemiology — 2006. — №17 (3). — P. 302 — 307.
8. Agricultural Pesticide Use and Pancreatic Cancer Risk in the Agricultural Health Study Cohort/ G. Andreotti, L. E. Beane Freeman, L.Hou [et al.] // Int J Cancer. — 2009. — №124 (10). — P. 2495 — 2500.
9. Пестициди ксеноестрогени у довіллі України. Оцінка небезпеки для людини. / Є.А. Баглій, П.Г. Жмійко, Н.М. Недопитанська, М.Г. Проданчук // III міжнародна науково-практична конференція «Екологічна безпека: Проблеми та шляхи вирішення». Збірник наукових статей у двох томах. — Харків: Райдер, 2007. — Т.1. — С.15—21.
10. Undeğer U., Schlumpf M., Lichtensteiger W. Effect of the herbicide pendimethalin on rat uterine weight and gene expression and in silica receptor binding analysis. Food Chem Toxicol. — 2010 — №48(2) — P: 502 — 508.
11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, 1986. — 51 p.
12. Волкова О.В. Основы гистологии с гистохимической техникой. / О.В. Волкова — М.: «Медицина», 1982, — 304 с.
13. OECD Guidance Document on Amphibian Thyroid Histology. — № 82. — OECD. — Paris. — 2007. — 47 p
14. OECD Guidance Document for Histologic Evaluation of Endocrine and Reproductive Tests in Rodents. — №.106. — OECD, Paris. — 2009. — 26 p.
15. Guidelines for Histopathological Evaluation. Part 2: Male Reproductive System OECD —Электронный

- ресурс: www.oecd.org/chemicalsafety/.../43754701.pdf
16. Методические рекомендации. Использование морфометрического анализа для оценки токсического действия пестицидов на плаценту и щитовидную железу. – Киев, –1991. – 13 с.
 17. US Environmental Protection Agency. Endocrine Disruptor Screening Program, OCSP Guideline 890.1500, Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile /Peripubertal Male Rats Assay. – August 2011. – 19 p.
 18. Майер К.П. Гепатит и последствия гепатита: Практич. Руководство / пер. с нем. под ред. А.А. Шептулина. – М.: ГЭОТАР.Мед. – № 1999. – 432 с.
 19. Желудочно-кишечные гормоны и патология пищеварительной системы / под ред. М. Гроссмана, В. Сперанца. – М.: Медицина, 1981. – 271с.
 20. Reregistration Eligibility Decision (RED). Pendimethalin. – EPA 738-R-97-007 Environmental Protection And Toxic Substances June 1997.
 21. Hurley PM, Hill RN, Whiting RJ. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents [review]. Environ Health Perspect. – 1998. – №106(8) – P. 437–445.
 22. Kojima H., Katsura E., Takeuchi S., Niiyama K., Kobayashi K. Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using Chinese hamster ovary cells. Environ Health Perspect – 2004. – №112(5) – P. 524 – 531.

ВПЛИВ ПЕНДИМЕТАЛІНУ НА ЕНДОКРИННУ СИСТЕМУ ЩУРІВ-САМЦІВ ВІСТАР У ПРЕПУБЕРТАТНОМУ ПЕРІОДІ

*В.С.Лісовська, Н.М.Недопитанська, Є.А.Баглій, О.В.Решавська, Л.В.Ткаченко
ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки
імені академіка Л.І.Медведя МОЗ України», м. Київ, Україна*

РЕЗЮМЕ. *Мета роботи:* вивчення впливу генерика Пендиметаліна на ендокринну систему на моделі статевого дозрівання відьомишів щурів самців та ролі щитоподібної залози в даному процесі.

Матеріали і методи. *Експеримент виконано у відповідності з Протоколом для скринінгу ендокринних дизрапторів на моделі статевого дозрівання відьомишів щурів-самців (OPPTS 890.1500) на 60 щурах WistarHan (SPF), які отримували Пендиметалін, 98 % внутрішньошлунково в дозах 5, 10 і 500 мг/кг маси тіла.*

Результати дослідження. *В результаті експериментальних досліджень встановлено, що Пендиметалін в дозі 500 мг/кг сповільнює статеве дозрівання щурів самців, спричиняє загально токсичний, тиреотоксичний і гонадотоксичний ефект.*

Висновки. *Пендиметаліну дозах більше 10 мг/кг маси тіла проявляє властивості ендокринного дизраптору. В основі впливу на ендокринну систему щурів самців лежить тиреотоксичний і гонадотоксичний ефект.*

Ключові слова: *пендиметалін, ендокринна система, модель статевого дозрівання щурів самців, механізм дії, ендокринний дизраптор.*

EFFECT OF PENDIMETHALIN ON MALE RAT ENDOCRINE SYSTEM IN PREPUBERTAL PERIOD

*V.Lisovska, N.Nedopytanska, E.Bagliy, O.Reshavska, L.Tkachenko
L.I. Medved's Research Center of Preventive Toxicology,
Food and Chemical Safety, Kyiv, Ukraine*

SUMMARY. *The aim of the present study was to evaluate the generic Pendymetalin impact on the endocrine system using rat model pubertal development male and a contribution of thyroid gland.*

Materials and Methods. *The study was designed using the Protocol of the male pubertal assay (OPPTS 890.1500). Pendimethalin, 98% was administered to 60 Wistar Han rats (SPF) by gavage at 5, 10 and 500 mg/kg/day.*

Results. *It is found that pendimethalin in dose of 500 mg/kg delayed timing of puberty in male, caused toxic, thyroid toxic and gonadotoxic effects.*

Conclusion. *Pendimethalin acts as endocrine disruptor at doses more than 10 mg/kg body weight. The basis of impact on the endocrine system of male is thyroid toxic and gonadotoxic effect.*

Key words: *pendimethalin, the endocrine system, prepubertal male rats assay, mechanism of action, endocrine disruptor.*

Надійшла до редакції 4.11.2016 р.