

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЧОТИРЬОХ ГЕНЕРИЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ ЛЯМБДА-ЦИГАЛОТРИНУ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ САМЦІВ ЩУРІВ W1STAR HAN

Н.Р. Шепельська, Я.В. Колянчук, М.Г. Проданчук

ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», м. Київ, Україна

РЕЗЮМЕ. *Мета дослідження* - ідентифікувати небезпеку і оцінити ризик репродуктивної токсичності чотирьох генеричних пестицидів лямбда-цигалотрину різної чистоти на самців щурів Wistar Han.

Методи дослідження. *Лямбда-цигалотрин (ЛЦ1- 97 %, ЛЦ2 – 96 %, ЛЦ3 – 97,1 %, ЛЦ4 – 96,7 % чистоти) вводили щодня, крім суботи та неділі, внутрішньошлунково в дозах 0,0; 0,3 і 3,0 мг/кг маси тіла трьом групам тварин, по 20 самців у кожній, впродовж 11 тижнів. Контрольні тварини отримували еквівалентну кількість розчинника. Паралельно з контрольними і піддослідними тваринами містилися інтактні самиці, призначені для спарювання. Після закінчення затравки досліджувалися функціональні показники стану гонад і здатність тварин до відтворення потомства. Стан репродуктивної функції у інтактних самиць враховували на 20-й день вагітності.*

Результати й обговорення. *Отримані дані свідчать про те, що при експозиції чотирьох генеричних речовин лямбда-цигалотрину в дозі 3,0 мг/кг маси тіла протягом 11 тижнів проявлявся загальнотоксичний ефект (зниження маси тіла) у самців за дії ЛЦ1. Всі чотири тестові субстанції за дії максимальної дози володіють репродуктивною токсичністю та мають виражену антиандрогенну дію, що проявляється в змінах морфо-функціональних показників стану статевих залоз у піддослідних групах самців. Крім того, відзначався негативний вплив на плодючість самців (ЛЦ2), щодо яких робили висновок за індексом фертильності інтактних самиць.*

Висновки. *На підставі одержаних результатів можна зробити висновок, що всі вивчені зразки лямбда-цигалотрину володіють репродуктивною токсичністю в дозі 3,0 мг/кг маси тіла. Недіючою дозою (NOEL) для всіх вивчених сполук є доза 0,3 мг/кг маси тіла. В діапазоні вивчених доз спостерігається залежність «доза-ефект».*

Ключові слова: *пестициди, цигалотрин, лямбда-цигалотрин, гонадотоксичність, репродуктивна токсичність.*

Вступ. Широке використання пестицидів призвело до зростання проблем зі здоров'ям у людей та тварин в усьому світі [1–7], адже хімічні засоби захисту рослин впливають не тільки на цільові об'єкти, а й на нецільові, в тому числі на людський організм. Отже, проблема попередження потенційно небезпечного впливу цих речовин на здоров'я людини є одним із пріоритетних завдань превентивної токсикології. Дослідження потенційної репродуктивної токсичності пестицидів є обов'язковою складовою під час їхньої токсиколого-гігієнічної регламентації.

Кілька десятиліть тому було виявлено, що репродуктивна токсичність багатьох пестицидів зумовлена їхньою здатністю деструктивно впливати на ендокринну регуляцію репродуктивної системи тварин і людини, що призводить до відповідних порушень функції відтворення [6, 7].

Як відомо, до ендокринних дизрапторів відносяться речовини, які проникають в продукцію, зберігання, вивільнення,

транспортування, зв'язування, активність та елімінацію природних циркулюючих у крові гормонів, відповідальних за підтримання гомеостазу та регулювання диференціації життєво важливих процесів [8]. Ендокринно-дизрапторні властивості багатьох пестицидів обумовлені їхньою структурною подібністю до природних гормонів [9–11], потрапляючи до організму і зв'язуючись з ядерними рецепторами, вони чинять гормоноподібну дію, що порушує гомеостатичні механізми регуляції ендогенними гормонами процесів життєдіяльності живих організмів [12]. Так, наприклад, пестициди класу піретроїдів, до якого відносяться досліджувані нами пестициди і використання яких протягом останніх років збільшилось у кілька разів [13,14,15], попри свої нейротоксичні властивості, є ендокринними дизрапторами.

Синтетичні піретроїди (СП) – це унікальна група хімічних речовин, які мають піретроподібні структури з більш високими експлуатаційними характеристиками і

складають понад 30 % засобів для боротьби зі шкідливими комахами в усьому світі [16, 17]. Вигідні властивості СП, такі як низькі норми витрат при обробці сільськогосподарських культур та низька летючість, сприяли широкому їхньому застосуванню у боротьбі зі шкідливими комахами [18].

Функціонування репродуктивної системи – унікальний, надзвичайно складний, тонко збалансований процес, який починається з закладки, диференціювання, росту й дозрівання статевих клітин та закінчується відтворенням потомства. Будь-який негативний вплив на одну із ланок цього безперервного ланцюга подій може призвести до імпотенції, порушення менструального циклу, зниження плодючості, спонтанних абортів, низької ваги плода та інших вад розвитку, в тому числі до спадкових дефектів та різних генетичних захворювань, що впливають на репродуктивну систему і потомство [19]. Взаємодія і регулювання всіх репродуктивних процесів забезпечується системою, центром якої є нейроендокринний комплекс: гіпоталамус - гіпофіз - статеві залози. Репродуктивна система у плода починає формуватися з початком ембріогенезу, але структурне і функціональне дозрівання не закінчується до настання статевої зрілості [20]. Вплив токсикантів на процеси формування статевих залоз та гермінативних клітин на ранніх стадіях розвитку зародка в пренатальному періоді можуть призвести до незворотних змін статевих органів та їх функцій у будь-який час життєвого циклу [21,22,23]. Неправильне харчування, низький соціально-економічний статус, нездоровий спосіб життя, стрес, негативні фізичні та хімічні фактори навколишнього середовища у постнатальному періоді також призводять до патологій репродуктивної системи.

Механізми токсичної дії пестицидів на організм ссавців дуже різноманітні. Що стосується піретроїдів, то як показали експериментальні дослідження, одним із механізмів токсичного впливу піретроїдів на гонади є формування високого рівня вільних радикалів у процесі метаболізму СП, які викликають оксидативний стрес у експонованих тварин [24, 25], що призводить до погіршення репродуктивної функції самців щурів. Особливо чутливими до

оксидативного стресу є сперматозоїди, оскільки їхні плазматичні мембрани містять високу концентрацію поліненасичених жирних кислот, а цитоплазма містить низькі концентрації антиоксидантних ферментів [26, 27]. Ці клітини природним чином захищені від такого ушкодження антиоксидантними властивостями сім'яної плазми, яка містить ряд ферментативних (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіон-S-трансфераза та ін.) та неферментативних антиоксидантів (таурин, гіпотарин, адреналін, піруват та ін.), які можуть нейтралізувати потенційно токсичні дії вільних радикалів [28–30]. Однак незважаючи на добре розвинену антиоксидантну систему захисту, сперматозоїди можуть піддаватись впливу активних форм кисню (АФК) за дії токсичних хімікатів та забруднюючих речовин навколишнього середовища. В експериментах минулих років дослідниками описані різні структурні зміни у сперматозоїдах і пов'язані з ними біохімічні порушення у сім'яниках після впливу СП в умовах *in vitro* та *in vivo* таких як циперметрин, фенвалерат та лямбда-цигалотрин [31,32,33]. Наприклад, кількість сперматозоїдів у сім'яниках та придатках, а також добове виробництво сперми були значно знижені у самців щурів, що піддавались впливу циперметрину [34]. Yuan С. та співавтори показали, що в тесті *in vitro* через 4 години інкубації сперми щурів лінії Sprague-Dawley з перметрином та циперметрином, рухливість сперматозоїдів була знижена [35]. Ці дослідження підтверджують чутливість плазматичної мембрани сперміїв, яка багата поліненасиченими жирними кислотами до дії оксидативних агентів [36].

Один з широко використовуваних інсектицидів є лямбда-цигалотрин (ЛЦ) – СП II типу [37,38,39]. До цього часу дослідження репродуктивної токсичності оригінальної молекули ЛЦ в тесті декількох поколінь не проводились. Єдині дані, які нам вдалося знайти, це дослідження впливу лямбда-цигалотрину на параметри сперми у мишей, що приводить до пошкодження морфології сперміїв [40, 41].

Оцінка ризику репродуктивної токсичності ЛЦ здійснювалась на основі екстраполяції даних, отриманих з експерименту

на 3-х поколіннях тварин з цигалотрином [40, 41]. Дослідження впливу цигалотрину було проведено на щурах в дозах: 0,0; 0,67; 2,0 і 6,7 мг/кг маси тіла [42]. Токсичність для репродуктивної системи щурів не була виявлена в максимальній досліджуваній дозі. Для батьківського покоління і для потомства встановлена недіюча доза (NOAEL) 2,0 мг/кг маси тіла на підставі зниження маси тіла дорослих тварин і вираженої системної токсичності для щурят в період лактації за впливу максимальної дози (6,7 мг/кг маси тіла).

Метою даної роботи було провести дослідження впливу чотирьох тестових сполук ЛЦ (ЛЦ1, ЛЦ2, ЛЦ3 та ЛЦ4) на репродуктивну функцію самців щурів Wistar Han в тест-системі щодо вивчення гонадотоксичності, а також порівняти отримані дані.

Матеріали та методи дослідження. Вивчалися гонадо- та репродуктивна токсичність чотирьох генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину різних виробників. Чистота досліджуваних сполук становила: ЛЦ1- 97 %, ЛЦ2 – 96 %, ЛЦ3 – 97,1 %, ЛЦ4 – 96,7 %. У дослідженнях використовували самців та самиць щурів лінії Wistar Han, котрі були отримані з SPF розплідника ДП „Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України”, віком 5-6 тижнів та масою тіла 80-100 г. Адаптаційний період тривав п'ять днів. Протягом цього часу проводили щоденні спостереження за їхнім фізіологічним станом для виявлення ознак патологій. Щури рандомізувались за масою тіла. При значному відхиленні від середньої маси тварин вибраковували. Паралельно з контрольними і піддослідними тваринами утримувалась інтактна група самиць для спарювання.

Для кожної тестової субстанції лямбда-цигалотрину тварини були розподілені на три групи по 20 самців щурів у кожній. Експериментальним тваринам вводилась тестова субстанція *ex tempore* щодня, окрім суботи і неділі, внутрішньошлунково за допомогою зонду трьома групам тварин у дозах 0,0; 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла протягом 11 тижнів. Контрольна група самців отримувала дистильовану воду з емульгатором (ОП-10) в еквівалентних

кількостях. Розчини вводили із розрахунку 0,5 мл на 100 грам маси тіла тварин. Для корекції об'єму розчину, що вводився, відповідно до збільшення маси тіла тварини щотижня зважувалися.

Дослідження на тваринах проведені згідно з вимогами та положеннями Комісії з етики медичних та біологічних досліджень «Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України» та «Європейської конвенції про захист тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986) ETS №123, “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (National Academies Press, USA, 2011) [43,44].

Умови утримання тварин: тварини були розміщені в конвенційному виварії. Кімната забезпечувалась примусовою вентиляцією (12 об'ємів на годину), яка виключала рециркуляцію повітря. Температура і відносна вологість повітря реєструвались щодня, коливання температури становили від 19 до 24 °С, вологості – від 30 до 70 %. Освітлення було природним.

Забезпечення водою: тварини отримували деіонізовану, знезаражену УФ-опроміненням і очищену зворотним осмосом фільтровану питну воду *ad libitum* з пластикових пляшок об'ємом 0,5 літра через металеві наконечники.

Рацион: упродовж всього експерименту щури отримували *ad libitum* збалансований гранульований корм зі зниженим вмістом природних фітоестрогенів виробництва Альтромін (Німеччина).

Тип кліток і кількість тварин у клітці: тварини були розміщені в клітках типу М4 впродовж усього періоду досліджень. Корпус клітки (40x30x15 см) виготовлений з міцного пластмасового матеріалу, згорі накритий металевими з'ємними ґратами. Підстилка зі стерилізованого, не хлорованого харчового паперу змінювалася 1 раз на тиждень.

Ознаки загальнотоксичної дії: усіх тварин упродовж усього періоду дослідження обстежували з метою реєстрації будь-яких видимих ознак реакції на дію сполуки, що вивчалася.

Маса тіла: піддослідних тварин зважували щотижня протягом усього періоду ек-

позиції. Інтактних самиць зважували на 0 та 20 день вагітності.

Морфо-функціональні показники стану сім'яників: після закінчення терміну експозиції з піддослідних груп відбирали 10 самців, розподілених за масою, у яких досліджували морфо-функціональний стан статевих залоз. Визначали загальну кількість сперматозоїдів і кількість спермій, що рухаються та кількість аномальних сперматозоїдів. Підрахунок проводили мікроскопічно у 20 великих квадратах камери Горяєва.

Процедура спарювання: після запланованого періоду експозиції ЛЦ, 10 піддослідних самців з кожної групи спарювали з інтактними самицями (у співвідношенні 1 самець до 2 самиць). Кожен ранок протягом періоду спарювання брались вагінальні мазки для кожної самиці, які досліджували на наявність сперматозоїдів. День знайдення спермій у вагінальному вмісті самиці приймалися за 0 день вагітності. Після встановлення факту спарювання самицю відсаджували в окрему клітку і припиняли взяття мазків. Тривалість періоду спарювання не перевищувала 3-х тижнів.

Прекоїтальний інтервал: визначали час, що минув від моменту підсаджування самців до самиць до встановлення факту запліднення.

Показники репродуктивної здатності: на 20-й день вагітності у контрольних та інтактних самиць, спарених з піддослідними самцями, вивчали репродуктивні показники: загальну кількість жовтих тіл в яєчниках; кількість місць імплантації; кількість резорбованих зародків і плодів; кількість мертвих та живих плодів; наявність грубих аномалій розвитку; середню масу плодів; загальну масу приплоду.

Термінальні дослідження: піддослідні самці після закінчення періоду спарювання виводились з експерименту. Всіх самиць, які завагітніли, піддавали евтаназії на 20-й день вагітності, а спарених, але не вагітних самиць, на 20-й день припустимої вагітності.

Самиць, у яких впродовж 3-х тижнів спарювання факт запліднення так і не був зареєстрований, у разі відсутності явних ознак вагітності розтинали і досліджували. Евтаназія тварин здійснювалась за допомогою CO₂-камери.

Макроскопія: усі піддослідні самці, що розтиналися в ході експерименту, макроскопічно обстежувалися. Реєстрували виявлені зміни і відхилення. Сім'яники і придатки від 10 піддослідних і контрольних самців виділяли і зважували.

Здатність до спарювання і плодючість: для кожної групи і статі тварин були визначені наступні індекси: спарювання, зачаття, фертильності, вагітності.

Статистична оцінка: статистична різниця міжгрупових відмінностей ($P < 0,05$) оцінювалася за критерієм t -тесту Стьюдента та обраховувалася за допомогою two-way ANOVA.

Дослідження проведені відповідно до стандартних операційних процедур «Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», розроблених згідно з рекомендаціями та вимогами Належної лабораторної практики (GLP).

Результати та їх обговорення. Досліджувані тестові субстанції лямбда-цигалотрину в усіх вивчених дозах не впливали на загальний фізіологічний стан піддослідних самців і не викликали їхньої смертності.

У групі самців мінімальної дози 0,3 мг/кг за дії всіх чотирьох тестових субстанцій достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж всього терміну експозиції. Після впливу максимальної дози 3,0 мг/кг ЛЦ2 і ЛЦ3 також не проявили загальнотоксичний ефект. Але у цій же групі самців, які отримували тестові субстанції ЛЦ1 та ЛЦ4, було відзначено вірогідне зниження маси тіла піддослідних тварин у порівнянні з контрольною групою: за дії ЛЦ1 на 10 та 11 тижні експерименту на 4,2 і 5,1 % відповідно, у ЛЦ4 на 3 тижні – 3,5 %. Також спостерігалось вірогідне зменшення маси тіла при експозиції ЛЦ4 на 11 тижні між дозами 0,3 мг/кг та 3,0 мг/кг – 4,5 %. Отже, встановлено, що ЛЦ1 володіє загальнотоксичним ефектом за дії у максимально досліджуваній дозі (рис. 1). Зміна маси тіла піддослідних самців, які отримували ЛС4, визнано не пов'язаним з впливом.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самців ніяких змін, пов'язаних з впливом ЛЦ, не виявлено. В усіх піддослідних групах самців у досліджуваній дозі 0,3 мг/кг не спостерігалось достовір-

них змін маси і коефіцієнта маси сім'яників та придатків, загальної кількості сперматозоїдів, кількісного і процентного співвідношення рухливих сперматозоїдів, а також патологічних форм спермій, таких як: аномалії хвостика, головки і середини (шийки) сперматозоїда.

Під час дослідження морфо-функціональних показників стану статевих залоз у піддослідних групах самців, які отримували ЛЦ2, ЛЦ3 та ЛЦ4 у дозі 3,0 мг/кг, було встановлено достовірне зниження загальної кількості сперматозоїдів на 12 %, 17 % та 12 % відповідно. За дії всіх досліджуваних субстанцій спостерігалось достовірне зниження кількості рухливих сперматозоїдів: ЛЦ1 на 24 %, ЛЦ2 на 18 %, ЛЦ3 на 37 % та ЛЦ4 на 22 %. Одночасно мало місце вірогідне зниження відсотка рухливих спермій на 16 % - ЛЦ1 та 24 % - ЛЦ3 (рис. 2).

При макроскопічному обстеженні сім'яників і придатків не виявлено явної патології цих органів після впливу всіх зразків ЛЦ. Але в групі самців, котрі отримували максимальну дозу ЛЦ1, було відзначено достовірне зниження маси сім'яників по відношенню до контрольної групи на 4,9 %. Достовірних змін у динаміці маси сім'яників та придатків у цій дозі за дії інших тестових сполук (ЛЦ2, ЛЦ3 та ЛЦ4) не спостерігалось (рис. 3.).

Всі зразки ЛЦ у дозах 0,3 мг/кг та 3,0 мг/кг не чинили шкідливого впливу на такі показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, що завагітніли, як кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число і процентне співвідношення загиблих до і після імплантації зародків і плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи.

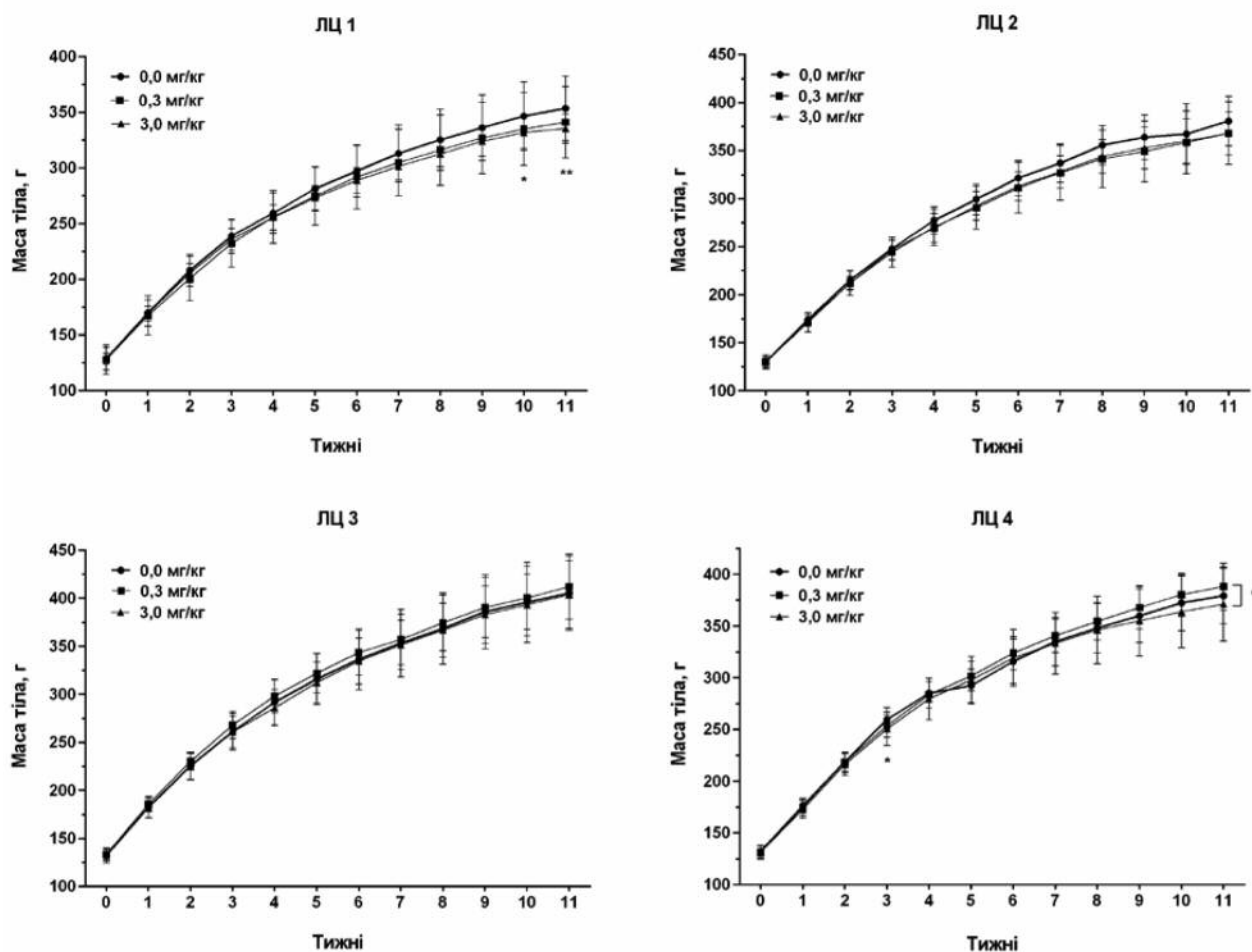


Рис. 1. Динаміка маси тіла самців щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином (* - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$ – відносно тварин контрольної групи)

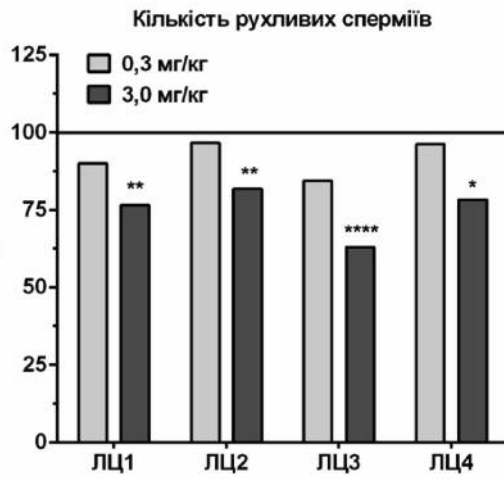
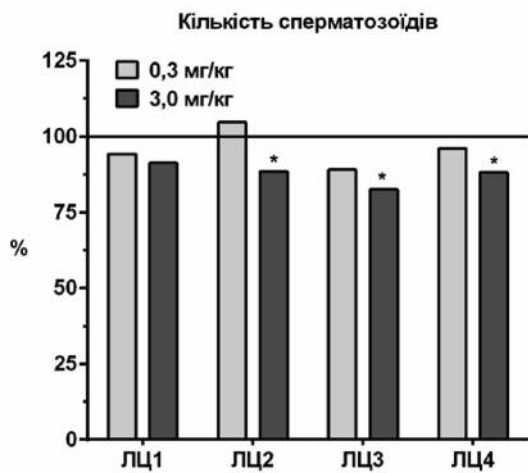


Рис. 2. Загальні морфо-функціональні показники сперми самців (зміни представлені у відсотках від контролю), за дії лямбда-цигалотрину (* - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; **** - $P \leq 0,001$ – відносно тварин контрольної групи)

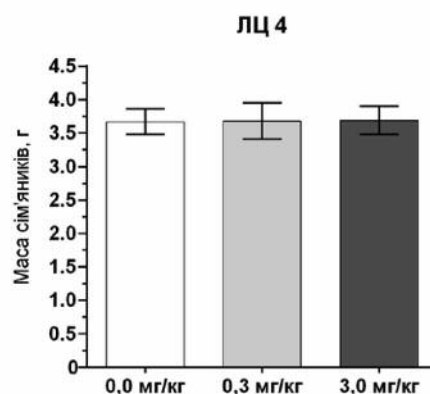
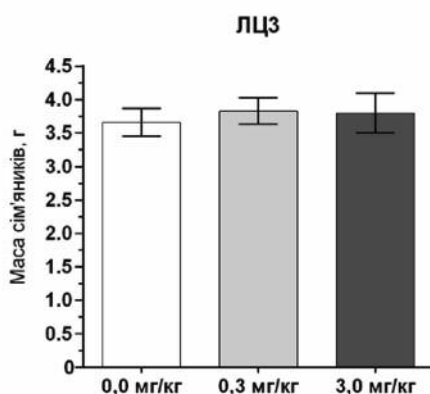
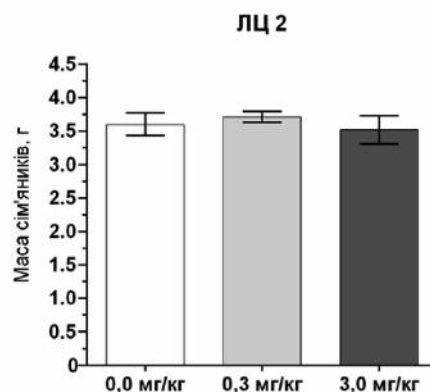
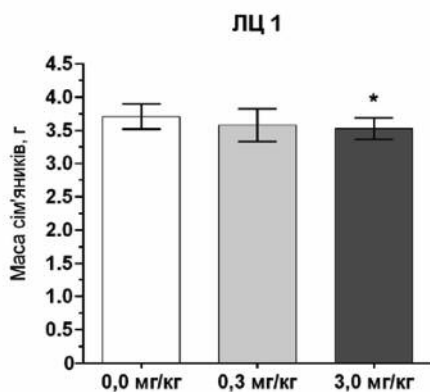


Рис. 3. Загальні морфо-метричні показники сім'яників у самців (* - $P \leq 0,05$ – відносно тварин контрольної групи)

При вивченні запліднюючої здатності та фертильності самців, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг, що оцінювались за показниками, отриманими від інтактних самиць, відзначалась тенденція до зниження індексів зачаття та фертильності, яка досягла достовірності за дії ЛЦ2: індекс зачаття знизився на 21% та фертильності – на 25%. У піддослідних групах самців у дозі 0,3 мг/кг здатність до запліднення та їхня плодючість вірогідно не відрізнялася від контролю (рис.4).

стану статевих залоз при аналізі сперми у піддослідних групах самців, таких як: зниження загальної кількості сперматозоїдів (ЛЦ2, ЛЦ3 та ЛЦ4), зниження кількості рухливих сперматозоїдів (ЛЦ1, ЛЦ2, ЛЦ3 та ЛЦ4), зниження відсотка рухливих сперміїв (ЛЦ1 та ЛЦ3), зниження абсолютної маси сім'яників (ЛЦ1), а також зниження фертильності і запліднюючої здатності (ЛЦ2). Найбільш токсичним по гонадо- та репродуктивній токсичності виявилися ЛЦ1 і ЛЦ2, а по системній ток-

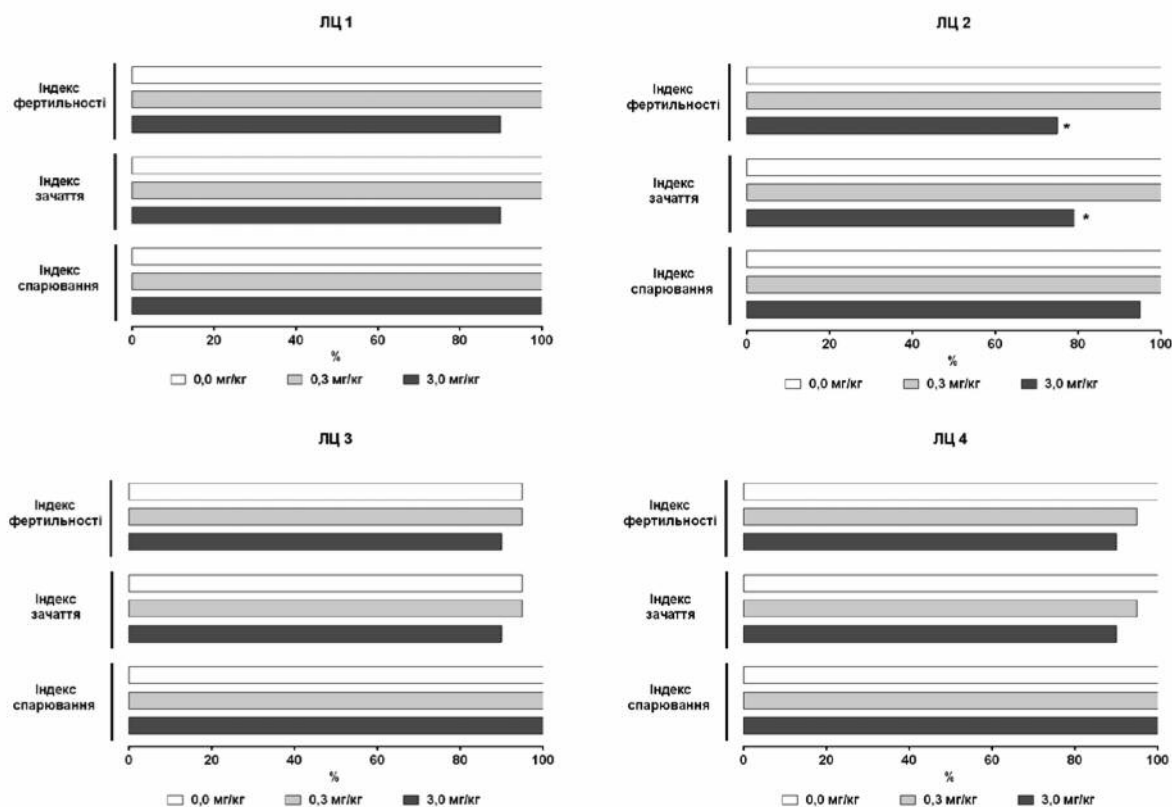


Рис. 4. Індеси спарювання, зачаття та фертильності інтактних самиць, спарених із піддослідними самцями (* - $P \leq 0,05$ – відносно тварин контрольної групи)

Значення величини прекоїтального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

ВИСНОВКИ

1. При внутрішньошлунковому введенні ЛЦ1 у дозі 3,0 мг/кг маси тіла протягом 11 тижнів проявлявся загальнотоксичний ефект, а саме зниження маси тіла у самців на 10 та 11 тижнях.

2. Всі чотири тестові субстанції за дії максимальної дози мають репродуктивну токсичність, що виражається у вірогідних змінах морфо-функціональних показників

сичності – ЛС1. Таким чином, не спостерігається прямолінійної залежності між вираженістю гонадо- і системної токсичності та рівнем чистоти вивчених технічних сполук. Цей факт дозволяє припустити, що в даному випадку домішки, очевидно, не вносять суттєвого внеску в індукцію виявлених патологічних ефектів.

3. У діапазоні вивчених доз спостерігається залежність «доза-ефект». Встановлено, що дозовий рівень для всіх досліджуваних сполук ЛЦ, котрий не чинить пошкоджуючої дії на гонади та репродуктивну функцію самців щурів

Wistar Nan (NOEL), є доза 0,3 мг/кг маси тіла.

4. Відсутність змін таких показників, як загальний розмір приплоду, кількість живих і мертвих плодів, маса плодів, індекси спарювання, зачаття, фертильності, вагітності у інтактних самиць, спарених з піддослідними самцями (ЛС1, ЛС3, ЛС4) корелює з результатами, отриманими при дослідженні цигалотрину в тест-системі на 3-х поколіннях тварин, на підставі яких було зроблено висновок про відсутність репродуктивної токсичності цигалотрину в

максимальній дозі 6,7 мг/кг маси тіла [42]. Разом з тим, це є свідченням недостатньої діагностичної чутливості та інформативності тесту на 3-х поколіннях при вивченні репродуктивної токсичності хімічних сполук. Результати обширних досліджень останніх років свідчать про високу небезпеку репродуктивної токсичності синтетичних піретроїдів, здатних порушувати процеси сперматогенезу і ендокринну функцію сім'яників [24-37, 45, 46], що досить красномовно продемонстрували одержані нами дані.

ЛІТЕРАТУРА

1. Fleming L. E. Mortality in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida / L. E. Fleming, J. A. Bean, M. Rudolph, K. Hamilton // *Occup. Environ. Med.* – 1999. – № 56. – P. 14–21.
2. Toxicopathological effects of lambda-cyhalothrin in female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) / A. Basir, A. Khan, R. Mustafa [et al.] // *Human Exp. Toxicol.* – 2011. – № 30. – P. 591–602.
3. Bakhsh K. Environmental and technical efficiency analysis in bitter melon production / K. Bakhsh // *Pak. J. Agric. Sci.* – 2012. – № 49 (4). – P. 583–588.
4. Tahir T. Farmers' awareness about spider as natural predator of cotton pests and hazardous effects of pesticides on their health from three districts of Punjab cotton belt: past findings and future priorities / T. Tahir, S. Mushtaq, S. A. Rana, M. A. Shiekh // *Pak. J. Agric. Sci.* – 2012. – № 49 (3). – P. 351–356.
5. Verger P. J. Reevaluate pesticides for food security and safety / P. J. Verge, A. R. Boobis // *Science.* – 2013. – № 341 (6147). – P. 717–718.
6. Identification of new human pregnane X receptor ligands among pesticides using a stable reporter cell system / G. Lemaire, W. Mnif, J. M. Pascussi [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2006. – № 91 (2). – P. 501–509.
7. Endocrine disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement / E. Diamanti-Kandarakis, J. P. Bourguignon, L. C. Giudice [et al.] // *Endocr. Rev.* – 2009. – № 30 (4). – P. 293–342.
8. Johnson M.D. Risk Assessment/Risk management. Endocrine Disruptor Definition. Сучасні наукові підходи до реєстрації пестицидів / M.D. Johnson // Матеріали науково-практичних семінарів. US AID-US EPA-UNDP Ukraine Pest and Pesticide Management Project. – 1998. – К.: ЗАТ “ДКТ”. К.
9. Effect of endocrine disruptor pesticides: A review / W. Mnif, A. H. Hassine, A. Bouaziz [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health* – 2011. – № 8 (6). – P. 2265–2303.
10. Ahmad L. Pyrethroid-induced reproductive toxicopathology in non-target species / L. Ahmad, A. Khan, M. Z. Khan // *Pak. Vet. J.* – 2012. – № 32 (1) – P. 1–9.
11. Ahmad L. Toxicopathological effects of cypermethrin upon male reproductive system in rabbits / L. Ahmad, A. Khan, M. Z. Khan // *Pest. Biochem. Physiol.* – 2012. – № 103. – P. 194–201.
12. Балан Г.М. Ядерные рецепторы – ключевые регуляторы биотрансформации ксенобиотиков. Часть 2. Ядерные ксено- и гормональные рецепторы: структура, номенклатура и роль в метаболизме и гомеостазе / Г. М. Балан, Н. Н. Бубало, И. В. Лепешкин, В. А. Бубало // *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки* – 2016. – №1. – С. 24–42.
13. Measurement of pyrethroid, organophosphorus and carbamate insecticides in human plasma using isotope dilution gas chromatography-high resolution mass spectrometry / J. J. Pérez, M. K. Williams, G. Weerasekera [et al.] // *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2010. – 878 (27). – P. 2554–2562.
14. Dahamna S. Biochemical investigation of cypermethrin toxicity in rabbits / S. Dahamna, D. Harzallah, A. Guemache, N. Sekfali // *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* – 2009. – № 74 (1). – P. 149–153.
15. Khan A. Hemato-biochemical changes induced by pyrethroid insecticides in avian, fish and mammalian species / A. Khan, L. Ahmad, M. Z. Khan // *Int. J. Agric. Biol.* – 2012. – № 14. – P. 834–842.
16. Vijverberg H. P. Action of pyrethroid insecticides on the vertebrate nervous system / H. P. Vijverberg, J. van den Bercken // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* – 1982. – № 8 (6). – P. 421–440.
17. Sogorb M. A. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis / M. A. Sogorb, E. Vilanova // *Toxicol. Lett.* – 2002. – № 128. – P. 215–228.
18. Харченко О.А. Синтетичні піретроїди: механізм дії, гострі отруєння та віддалені наслідки / О.А. Харченко, Г.М. Балан, Н.М. Бубало // *Проблеми харчування.* – 2013. – №. 1. – С. 29–39.
19. Reproductive toxicity: male and female reproductive systems as targets for chemical injury / D. R. Mattison, D.R. Plowchalk, M. J. Meadows [et al.] // *Medical Clinics of North America.* – 1990. – № 74, №. 2. – P. 391–411.
20. Mary L.A. Reproductive Parameters and Fetal Data from

- Reproductive Toxicity Studies in the Charles River Wistar Hannover [Crl:WI(Han) Rat / L.A.Mary, B.C.Charles // Charles River Laboratories, 2009. – 29 p.
21. Mathur N. Pesticides: A review of the male reproductive toxicity / N. Mathur, G. Pandey, G. C. Jain // *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*. – 2010. – № 4, №. 1. – P. 1–8.
 22. Cordier S. Evidence for a role of paternal exposures in developmental toxicity / S.Cordier // *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. – 2008. № – 102, №. 2. – P. 176–181.
 23. Reeves M. Greater risks, fewer rights: US farmworkers and pesticides / M. Reeves, K. S. Schafer // *International journal of occupational and environmental health*. – 2003. – № 9, №. 1. – P. 30–39.
 24. Kale M. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: A possible involvement of reactive oxygen species / M. Kale, N. Rathore, S. John, D. Bhatnagar // *Toxicol. Lett.* – 1999. – № 105 – P. 197–205.
 25. Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats / A. Elbetieha, S. I. Da'as, W. Khamas [et al.] // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* – 2001. – № 41. – P. 522–528.
 26. Alvarez J. G. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa / J. G. Alvarez, B. T. Storey // *Molecular Reproduction and Development*. – 1995 – № 42 (3). – P. 334–346.
 27. De Lamirande E. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects / E. de Lamirande, C. Gagnon // *Human Reproduction* 1995. – № 10 (1). – P. 15–21.
 28. Kovalski N. N. Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: protective effect of seminal plasma and scavengers / N. N. Kovalski, E. de Lamirande, C. Gagnon // *Fertility and Sterility*. – 1992. – № 58 (4). – P. 809–816.
 29. Catalase activity in human spermatozoa and seminal plasma / C. Jeulin, J. C. Soufir, P. Weber [et al.] // *Gamete Research*. – 1989. – № 24 (2). – P. 185–196.
 30. Characterization and localization of copper-zinc superoxide dismutase in the rat testis / W.W. Jow, P.N. Schlegel, Z. Cichon [et al.] // *Journal of Andrology*. – 1993. – № 14. – P. 439–447.
 31. Demonstration of sperm head shape abnormality and clastogenic potential of cypermethrin / S. Kumar, A. K. Gautam, K. R. Agarwal [et al.] // *Journal of Environmental Biology*. – 2004. – № 25 (2). – P. 187–190.
 32. Steroidogenic alterations in testes and sera of rats exposed to formulated Fenvalerate by inhalation / U. Mani, F. Islam, A. K. Prasad, [et al.] // *Human and Experimental Toxicology*. – 2002. – № 21 (11). – P. 593–597.
 33. Ratnasooriya W. D. Effects of Terminalia catappa seeds on sexual behaviour and fertility of male rats / W. D. Ratnasooriya, M. G. Dharmasiri // *Asian Journal of Andrology*. – 2000. – № 2 (3). – P. 213–219.
 34. Elbetieha A. Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats / A. Elbetieha, S. I. Da'as, W. Khamas, H. Darmani // *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* – 2001. – № 41. – P. 522–528.
 35. Effects of permethrin, cypermethrin and 3- phenoxybenzoic acid on rat sperm motility in vitro evaluated with computer-assisted sperm analysis / C. Yuan, C. Wang, S. Q. Gao, [et al.] // *Toxicol. In. Vitro*. – 2010. – № 24. – P. 382–386.
 36. Alvarez J. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa / J. Alvarez, B. Storey // *Mol. Reprod. Dev.* 1995. – № 42 (3). – P. 334–346.
 37. Efficacy of lambda cyhalothrin (Karate 5 EC) against brinjal shoot and fruit borer (*Leucinodes orbonalis*Guen.) // V. G. Mathirajan, K. Natarajan, S. Kuttalam [et al.] // *J. Pestic. Res.* – 2000. – № 12 (1). – P. 117–119.
 38. Fetoui H. Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid / H. Fetoui, E. M. Garoui, I. E. Zegha // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 2009. – 61 (3). – P. 189–196.
 39. Seenivasan S. Residues of lambda-cyhalothrin in tea / S. Seenivasan, N. N. Muraleedharan // *Food Chem. Toxicol.* – 2009. – № 47 (2). – P. 502–505.
 40. Focussed review of the existing maximum residue levels for lambda-cyhalothrin in light of the unspecific residue definition and the existing good agricultural practices for the substance gamma-cyhalothrin / A. Brancato, D. Brocca, C. de Lentdecker [et al.] // *EFSA Journal*. – 2017. – 15 (7). – 29 p.
 41. EFSA (European Food Safety Authority). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance lambda-cyhalothrin // *EFSA Journal*. – 2014. – № 12 (5). – 170 p.
 42. Cyhalothrin: three generation reproduction study in the rat / G.M. Milburn, P. Banham, M.J. Godley [et al.] // Unpublished report No. CTL/P/906 from Central Toxicology Laboratory, Macclesfield, England. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG. – 1984.
 43. Guide for the care and use of laboratory animals. – LAR Publication, National Academy Press, USA, 1996. – 140 p.
 44. OECD Principles of Good Laboratory Practice. ENV/MC/CHEM(98)17. – Environment Directorate Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, 1998. – 41 p.
 45. Brander S. M. Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with a focus on fishes / S. M. Brander, M. K. Gabler, N. L. Fowler, R. E. Connon, & D. Schlenk // *Environmental science & technology*. – 2016. – T. 50. – №. 17. – P. 8977–8992.
 46. Hénault-Ethier L. Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it / L. Hénault-Ethier, N. Soumis, M. Bouchard // *Executive summary and Scientific Literature Review for Équiterre*. – 2016.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЧЕТЫРЕХ ГЕНЕРИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ ЛЯМБДА-ЦИГАЛОТРИНА
НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМЦОВ КРЫС WISTAR HAN

Н.Р. Шепельская, Я.В. Колянчук, Н.Г. Проданчук

ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности
имени академика Л. И. Медведя МЗ Украины», г. Киев, Украина

РЕЗЮМЕ. Цель исследования - идентифицировать опасность и оценить риск гонадо- и репродуктивной токсичности четырех генерических пестицидов лямбда-цигалотрина различной чистоты на самцов крыс Wistar Han.

Методы исследования. Лямбда-цигалотрин (ЛЦ1- 97%, ЛЦ2 - 96%, ЛЦ3 – 97,1%, ЛЦ4 - 96,7% чистоты) вводили ежедневно, кроме субботы и воскресенья, внутривентрикулярно в дозах 0,0; 0,3 и 3,0 мг/кг массы тела трем группам животных, по 20 самцов в каждой, в течение 11 недель. Контрольные животные получали эквивалентное количество растворителя. Параллельно с контрольными и подопытными животными содержались интактные самки, предназначенные для спаривания. После окончания затравки исследовались функциональные показатели состояния гонад и способность животных к воспроизведению потомства. Состояние репродуктивной функции у контрольных и интактных самок учитывали на 20 день беременности.

Результаты и обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о том, что при экспозиции четырех генерических веществ лямбда-цигалотрина в дозе 3,0 мг/кг массы тела в течение 11 недель проявлялся общетоксический эффект (снижение массы тела) у самцов при воздействии ЛЦ1. Все четыре тестовые субстанции при действии максимальной дозы обладают репродуктивной токсичностью и оказывают выраженное антиандрогенное действие, которое проявляется в изменениях морфо-функциональных показателей состояния половых желез в подопытных группах самцов. Кроме того, отмечалось негативное влияние на плодовитость самцов (ЛС2), о которых судили по индексу фертильности интактных самок.

Выводы. На основании полученных результатов можно сделать вывод, что все изученные образцы лямбда-цигалотрина обладают репродуктивной токсичностью в дозе 3,0 мг/кг массы тела. Недействующей дозой (NOEL) для всех изученных соединений является доза 0,3 мг/кг массы тела. В диапазоне изученных доз наблюдается зависимость «доза-эффект».

Ключевые слова: пестициды, цигалотрин, лямбда-цигалотрин, гонадотоксичность, репродуктивная токсичность.

STUDY OF THE EFFECT OF FOUR GENERIC LAMBDA-CYHALOTHRIN PESTICIDES
ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF MALE WISTAR HAN RATS

N. Shepelska, Ya. Kolianchuk, M. Prodanchuk

State Enterprise "L. I. Medved's Research Center of Preventive
Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Introduction. Objective is to identify hazard and asses reproductive toxicity risk of four generic lambda-cyhalothrin pesticides of different purity on male Wistar Han rats.

Methods. Lambda-cyhalothrin (LC1 – 97 %, LC2 – 96 %, LC3 – 97.1 %, LC4 – 96.7 % purity) was administered intragastrically on a daily basis, except for Saturday and Sunday, at doses of 0.0; 0.3 and 3.0 mg/kg body weight for three groups of animals, 20 males in each, for 11 weeks. Control animals received an equivalent amount of solvent. In parallel with control and experimental animals, there were intact females, intended for mating. At the end of inoculation, functional parameters of the state of gonads and the ability of animals to reproduce offspring were studied. The state of reproductive function in intact females was taken into account at day 20 of pregnancy.

Results and discussion. The obtained data indicate that the exposure to four generic lambda-cyhalothrin substances at a dose of 3.0 mg/kg body weight for 11 weeks showed a general toxic effect (weight loss) in males under the effect of LC1. All four test substances have a reproductive toxicity at the maximum dose and have a pronounced antiandrogenic effect, which is manifested in changes in the morphological and functional parameters of the state of the gonads in the experimental groups of males. In addition, there was a negative effect on the fertility of males (LC2), which was concluded by the fertility index in intact females.

Conclusion. Based on the results obtained, it can be concluded that all studied lambda-cyhalothrin samples have reproductive toxicity at a dose of 3.0 mg/kg body weight. No observed effect level (NOEL) for all studies substances is the dose of 0.3 mg/kg body weight. In the range of studied doses, there is a dose-effect dependence.

Key words: pesticides, cyhalothrin, lambda-cyhalothrin, gonadotoxicity, reproductive toxicity.

Надійшла до редакції 17.04.2018 р.