

*О.В. Решавська, Н.М. Недопитанська, Є.А. Баглий Т.В. Усенко,
Л.В. Ткаченко, Т.І. Ключинська, Т.В. Вербова*

Державне підприємство «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», м. Київ, Україна

ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ПРОФІЛЬ ПРОПІЗОХЛОРУ У ДВОРІЧНОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ НА ЩУРАХ-САМЦЯХ WISTAR HANNOVER

Резюме. Гербіцид пропізохлор широко використовується в сільському господарстві України. Інтенсивне застосування потенційно небезпечне через залишки в сільгосппродукції, екосистемі, а також впливи на організм тварин і людини. Це обумовлює необхідність вивчення його токсикологічних властивостей.

Мета. Вивчення канцерогенності пропізохлору в хронічному експерименті на щурах-самцях.

Матеріали та методи. Експеримент виконаний на щурах-самцях Wistar Han. Досліджувався зразок пропізохлору, 95 % технічного, який вводився тваринам внутрішньошлунково в дозах 20 і 200 мг/кг маси тіла впродовж двох років. На терміні 52 тижні відбиралася група тварин для вивчення токсичності пропізохлору. Канцерогенність оцінювалася на 104-у тиждні.

Результати. Токсична дія пропізохлору на організм щурів проявилася в зниженні маси тіла за дії дози 200 мг/кг, починаючи з 29-го тижня тестування. За результатами аналізу показників клінічної біохімії з'ясувалося, що пропізохлор у дозі 200 мг/кг на 52-й тиждень експозиції мав тенденцію до зниження активності АЛТ та АСТ. Гістологічно на термінальному етапі в дозі 200 мг/кг у щурів виявлено гепатоцелюлярні некрози з асоційованими фокальними геморагіями, що підтверджує гепатотоксичність, а в щитоподібній залозі встановлено збільшення випадків нодулярної фолікулярноцитарної гіперплазії. Пропізохлор не впливав на виживання і тривалість життя щурів, не спричиняв збільшення кількості тварин з пухлинами, не впливав на множинність новоутворень, не змінював співвідношення доброякісних та злоякісних пухлин, а також не скорочував їх латентний період, залежності «доза – ефект» не спостерігалось.

Висновки. Пропізохлор, 95 % технічний генеричний не проявив канцерогенної дії у дворічному експерименті на щурах-самцях. NOAEL встановлено за загальнотоксикологічними критеріями і становить 20 мг/кг.

Ключові слова: пропізохлор, канцерогенез, токсикологія, щури - самці Wistar Han, хронічний експеримент.

O. Reshavska, N. Nedopytanska, Ye. Bagliy, T. Usenko, L. Tkachenko, T. Kliuchynska, T. Verbova
LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety,
Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine

TOXICOLOGICAL PROFILE OF PROPISOCHLOR IN A TWO-YEAR EXPERIMENT ON WISTAR HAN MALE RATS

Abstract. The herbicide propisochlor is widely used in agriculture of Ukraine. Its intensive usage is potentially dangerous due to residues in agricultural products, ecosystems, as well as effects on animals' and humans' organisms. This fact necessitates the study of its toxicological properties.

Aim. To study the propisochlor carcinogenicity in a long-term experiment on male rats.

Materials and Methods. The experiment was performed on Wistar Han male rats. There was investigated a sample of 95 % technical-grade propisochlor, administered to animals intragastrically at doses of 20 and 200 mg/kg of body weight for two years. At the 52nd-week-term, a group of animals was selected to study the propisochlor toxicity. Carcinogenicity was assessed at the 104th week.

Results. The toxic effect of propisochlor on the rats' bodies was revealed in weight loss affected by a 200 mg/kg dose, starting from the 29th week of testing. According to the analysis results of the clinical biochemistry, it was found that propisochlor at a dose of 200 mg/kg at the 52nd week of exposure tended to decrease the activity of ALT and AST. Histologically at the terminal stage at a dose of 200 mg/kg in rats the hepatocellular necrosis with associated focal hemorrhages were detected, which confirmed hepatotoxicity; and in the thyroid gland it was found the increase of nodular follicular-cell hyperplasia cases. Propisochlor did not affect the survival and life expectancy of rats, did not increase the number of animals with tumors, did not affect the multiplicity of newgrowth, did not change the ratio of benign and malignant tumors, and also did not reduce their latency, the dose-effect relationship was not observed.

Conclusions. Propisochlor, 95 % technical-grade generic, did not show the carcinogenic effects in a two-year experiment in male rats. NOAEL was identified according to general toxicological criteria and it was 20 mg/kg.

Key Words: propisochlor, carcinogenesis, toxicology, Wistar Han male rats, long-term experiment.

Вступ. Пропізохлор використовується в якості діючої речовини для виготовлення гербіцидів системної дії для контролю та знищення широколистяних видів бур'янів і однорічних трав при вирощуванні багатьох основних для України, сільськогосподарських культур, зокрема картоплі, кукурудзи, соняшнику, цукрових буряків, бобових тощо [1]. Це доволі сучасні препарати, що поєднують найкращі властивості ґрунтових і страхових гербіцидів: високу селективність і ефективність дії, універсальність та гнучкість застосування і тривалість захисту, зокрема володіння довгим часовим діапазоном застосування на полях – від посіву культури до появи 5 справжніх листків [2]. За хімічною структурою пропізохлор належить до класу хлорацетонілідів, абсорбується корінням і паростками та блокує синтез білка і нуклеїнових кислот, що призводить до пригнічення поділу клітин бур'яну. Вважається, що він не має фітотоксичної небезпеки для культурних рослин через зменшення водорозчинності майже втричі порівняно з основним конкурентом за ефективністю – ацетохлором, який є канцерогеном [3].

Недоліками хлорацетонілідів, як і багатьох інших пестицидів, можна вважати хімічне навантаження на навколишнє середовище (а з огляду на універсальність застосування – забруднення може набути глобальних масштабів), потенційну небезпеку для здоров'я людини, що зумовлює необхідність експериментальних досліджень щодо вивчення цих впливів. Зокрема відомо, що генерики, препаративні форми (особливо багатокomпонентні), комбінована дія пестицидів та їхні метаболіти найчастіше можуть призводити до неочікуваних наслідків, хронічний вплив хімічного навантаження на природні популяції потребує найретельнішого дослідження. Також існує думка щодо екологічних ризиків, пов'язаних з хронічним впливом хлорацетонілідних гербіцидів [2, 4]. Через їх надмірне застосування та хімічну стабільність пестициди цього класу були виявлені у поверхневих, підземних та питних водах багатьох країн. Вони шкідливі для низки водних організмів, а окремі з них визнані як канцерогени для людини [5, 6].

Відповідно до діючої в Україні гігієнічної

Introduction. Propisochlor is used as an active ingredient in the manufacture of systemic herbicides due to control and extirpate the broadleaf weed, annual grasses when cultivating lots of major agricultural crops in Ukraine, in particular potato, corn, sunflower, sugar beet, legumes, etc. [1]. These are quite modern pharmaceuticals that combine the best properties of soil and post-emergent herbicides: high selectivity and effectiveness, versatility and flexibility of application and also protection duration, including a long-time range in the field – from sowing to 5 true leaves emergence [2]. According to its chemical structure, propisochlor belongs to the class of chloroacetanilides, is absorbed by roots and sprouts and blocks the synthesis of protein and nucleic acids, that leads to inhibition of weed cell division. It is believed that it has no phytotoxic risk to crops due to the reduction of water solubility by almost three times compared to the main competitor in efficiency – acetochlor, which is a carcinogen [3].

Disadvantages of chloroacetanilides, like many other pesticides, include the chemical load on the environment (and considering the versatility of the application – pollution could become global), the potential danger to human health, what necessitates experimental investigations to study these effects. In particular, it is known that generics, preparative forms (especially multicomponent), the combined effect of pesticides and their metabolites could often lead to unexpected consequences. And the chronic effect of chemical load on natural populations requires the most careful study. There is also an opinion about the environmental risks associated with the chronic exposure of chloroacetanilide herbicides [2, 4]. Due to their excessive usage and chemical stability, pesticides of this class have been found in the surface, ground and drinking water in many countries. They are harmful to a number of aquatic organisms, and some of them have been recognized as carcinogens for humans [5, 6].

According to the current hygienic classification of pesticides in Ukraine [7], by its hazard, propisochlor belongs to the 4th class of acute oral and dermal toxicity parameters and to the 3rd class of inhalation toxicity and irritating effect on skin and mucous

класифікації пестицидів [7] за ступенем небезпеки пропізохлор за параметрами гострої пероральної та дермальної токсичності належить до 4 класу, інгаляційної токсичності та подразнювальної дії на шкіру та слизову очей – до 3 класу. У науковій літературі за допомогою батареї стандартних тестів встановлено, що пропізохлор не володіє мутагенними та генотоксичними властивостями [4, 6, 8]. Але, під час вивчення канцерогенної активності на мишах і щурах у останніх у хронічному експерименті виявлено збільшення частоти пухлин щитоподібної залози, карцином печінки та аденокарцином яєчника [8]. З огляду на те, що досліджуваний зразок пропізохлору на 95 % є генериком, метою роботи було визначення його канцерогенного потенціалу, в тому числі із домішками.

Матеріали та методи. Експериментальне дослідження канцерогенності пропізохлору (CAS No 86763-47-5) виконували відповідно до вимог IARC та OECD з дотриманням правил біоетики та гуманного поводження з тваринами [9, 10]. Тестовий зразок пропізохлору за вмістом діючої речовини та домішок відповідав міжнародним стандартам [8].

Оскільки на ринку пестицидів пропізохлор не є новою молекулою, а в літературі зустрічаються дослідження його канцерогенної дії на щурах, експеримент виконано з незначними відхиленнями від протоколу OECD № 116, що не впливає на кінцевий результат. Так, експериментальні дослідження проводили на щурах-самцях, як найбільш чутливої статі до діючої речовини. Враховуючи низьку токсичність пропізохлору, високу виживаність тварин у хронічному експерименті, додержуючись біоетичних принципів, в експеримент взято мінімально необхідну кількість тварин; об'єм гістологічних досліджень обмежено органами-мішенями, що достатньо для перевірки біологічної еквівалентності генерика китайського виробництва – пропізохлору, 95 % технічного.

Вивчення проводили відповідно до вимог і принципів GLP [10]. У експерименті SPF щурів-самців Wistar Han з розплідника дрібних лабораторних тварин (ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені акаде-

membranes of the eyes. In the scientific literature with the help of a battery of standard tests it had been found that propisochlor did not have mutagenic and genotoxic properties [4, 6, 8]. However, a long-term experiment of carcinogenic activity in mice and rats revealed in the latter an increase in the incidence of thyroid tumors, liver cancer and ovarian adenocarcinoma [8]. Given that 95% of the investigated propisochlor sample was generic, **the aim** of the research had been to determine its carcinogenic potential, including impurities.

Materials and Methods. An experimental study of the propisochlor carcinogenicity (CAS No. 86763-47-5) was performed in accordance with the IARC and OECD requirements in compliance with the rules of bioethics and animal welfare [9, 10]. The test sample of propisochlor in terms of active substance and impurities met standard international requirements [8].

Whereas propisochlor was not a new molecule in the pesticide market, and its carcinogenic effect on rats had been reported in the literature, the experiment had been performed with minor deviations from the OECD No.116 protocol, what did not affect the final result. Thus, experimental investigations had been performed on male rats as the most sensitive sex to the active substance. Considering the low propisochlor toxicity, high survival of animals in a long-term experiment, adhering to bioethical principles, the minimum required number of animals was taken in the experiment; the volume of histologic study was limited by the target organs, that was enough to verify the biological equivalence of the Chinese-made generic – 95 % technical propisochlor.

The investigation was conducted in accordance with the requirements and principles of GLP [10]. In the SPF experiment, Wistar Han male rats from a small laboratory animal breeding station (SE Scientific Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety named after Academician L. I. Medved, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv) were placed in a clean area of barrier-type vivarium. 150 animals aged 7 weeks were selected for experiments. The absence of group differences in randomiza-

міка Л.І. Медведя МОЗ України, Київ) розмістили в чистій зоні виварію бар'єрного типу. Для дослідів відібрано 150 тварин віком 7 тижнів. Статистично перевіряли відсутність групової різниці рандомізаційної репрезентативності за масою тіла.

Адаптованих до стандартних умов виварію тварин залучали до експерименту. У приміщеннях підтримували комфортні умови в межах: температури $21 \pm 2^\circ\text{C}$, відносної вологості повітря від 40 до 60 %, штучного освітлення з використанням ламп денного світла в режимі 12:12 годинного циклу – день/ніч, забезпечували 12 повітрообмінів за годину НЕРА-фільтрованим повітрям. Тварини отримували збалансований гранульований корм («Альтромін», Німеччина) та очищену питну воду *ad libitum*. Щурів розміщували в клітках по 5 особин, з підстилкою з різаного нехлорованого харчового паперу.

Згідно з літературними даними щодо токсикологічної оцінки оригінального пропізохлору вибирали дози на рівні 20 (низька доза) і 200 (висока доза) мг/кг маси тіла на добу [8]. Розчини тест-субстанції готували щодня *ex tempore* на питній воді для тварин. Попередньо пропізохлор розчиняли за допомогою емульгатора ОП-10 (поліоксietenієновий ефір ізооктилфенолу). Вранці вводили *per os* внутрішньошлунково за допомогою атравматичного зонду в об'ємі не більше 1,0 мл/100 г маси тіла щура впродовж 104 тижнів, у режимі – щоденно 5 днів за тиждень, 6 і 7 дні – період очікування. У вищезазначений спосіб за аналогічних умов контрольним тваринам вводили питну воду з додаванням ОП-10. Дози корегували відповідно до зміни ваги тварин упродовж всього часу експозиції в режимі: перші 13 тижнів експозиції – щотижнево, з 14-го по 104-й тиждень – раз на 4 тижні. Щоденно фіксували зміни в поведінці або в зовнішності тварин та їх загибель. Щурів в агональному стані або стані страждання піддавали евтаназії та аутопсії.

У період проміжної евтаназії (на 52-у тиждень) у 5 тварин кожної групи відбирали зразки крові та сечі, а в період термінальної евтаназії (на 104-у тиждень) – у 10 особин. Сечу збирали на тлі попереднього 15-годинного голодування. Щурам вводили зондом у

tion representativeness by body weight was statistically checked.

Animals adapted to standard vivarium conditions were involved in the experiment. There were maintained the area comfortable conditions within: temperature $21 \pm 2^\circ\text{C}$, relative air humidity from 40 to 60 %, artificial lighting using the fluorescent lamps in the mode of 12:12 hour cycle – day/night, and provided 12 air exchanges per hour by HEPA-filtered air. The animals received a balanced granular feed (Altromin, Germany) and purified drinking water *ad libitum*. Rats were placed in cages of 5 individuals, with a bedding of cut non-chlorinated food paper.

According to the literature on toxicological evaluation of the original propisochlor, there were chosen doses of 20 (low dose) and 200 (high dose) mg/kg body weight per day [8]. The test substance solutions were prepared daily *ex tempore* in drinking water for animals. Primarily the propisochlor was dissolved using an OP-10 emulsifier (polyoxyethylene ester of isooctylphenol). In the morning it was administered intragastrically *per os* using an atraumatic probe in a volume of not more than 1.0 ml/100 g of rat body weight for 104 weeks, in terms of – daily 5 days a week, 6th and 7th days – waiting period. In the abovementioned method, under the similar conditions, control animals were administered with the drinking water plus OP-10. Doses were adjusted according to the animal weight changes throughout the exposure period: the first 13 weeks of exposure – weekly, from the 14th to the 104th week – once every 4 weeks. The behavior or appearance changes of animals and their deaths were recorded daily. Rats in agonal or suffering condition were euthanized and autopsied.

During the period of midline euthanasia (at the 52nd week), blood and urine samples were taken from 5 animals of each group, and during the period of terminal euthanasia (at the 104th week) – from 10 individuals. Urine was collected amid a backdrop of previous 15-hour fast. Rats were administered intragastrically by probe with 5 ml of water and placed into the exchange cages for 24 hours to collect urine. Samples were examined on an ARKRAY urine analyzer. There were analyzed indicators such as: determi-

шлунок по 5 мл води і на 24 години саджали в обмінні клітки для збирання сечі. Досліджували зразки на аналізаторі сечі ARKRAY. Аналізували показники: визначення діурезу, питомої ваги сечі, її рН, вмісту білка, глюкози, кетонів, нітритів, прихованої крові, білірубину, уробіліногену, сечовини.

Периферичну кров відбирали натше вакуумними системами з надрізу на кінчику хвоста тварин. За допомогою ветеринарного гематологічного аналізатора Micros ABC Vet (Horibra ABX) визначали рівень гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів, гемокрит, середній об'єм еритроцитів, середній вміст і концентрацію гемоглобіну в одному еритроциті. Для проведення біохімічних досліджень кров відбирали із стегнової вени та досліджували на біохімічному аналізаторі Vitalab Flexor E зі стандартним набором реактивів BioSystems (Іспанія). У сироватці крові вимірювали наступні параметри: активність лужної фосфатази, холінестерази, аланін- та аспартатамінотрансферази, вміст загального білка, сечовини, глюкози, тригліцеридів, холестерину.

Евтаназію тварин проводили в спеціальній камері шляхом інгаляційного насичення вуглекислим газом. Для гістологічного дослідження відбирали зразки: щитоподібної залози, печінки, нирок, шлунка та усіх органів і тканин, що мали візуальні відхилення або підозру на онкопатологію. За необхідності проведення додаткових досліджень – решту органів архівували. Весь зібраний матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні. Підготовка до гістологічних досліджень щодо зібраного матеріалу включала: спиртову дегідратацію, заливку в парафінові блоки, фарбування зрізів гематоксиліном і еозином. Пухлинні і пренеопластичні пошкодження діагностували керуючись класифікацією пухлин лабораторних тварин [12, 13]. Загалом проаналізовано результати макро- і мікроскопічних досліджень непухлинної та пухлинної патології тварин упродовж двох термінів (52 і 104 тижні). Окремо досліджено щурів, що загинули під час експерименту. Потому розглянуто сумарні показники за групами.

Під час аутопсії в 52 і 104 – тижневному дослідженні для зважування у щурів вилуча-

nation of diuresis, urine specific gravity, urine pH, and content of protein, glucose, ketones, nitrites, occult blood, bilirubin, urobilinogen, urea.

Peripheral blood was collected under fasted conditions by the vacuum systems from the incision at the animal's tail tip. The hemoglobin level, red blood cell count, leukocyte and platelet count, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular haemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration were determined using a Micros ABC Vet (Horibra ABX) veterinary hematology analyzer. For biochemical studies, blood was taken from the femoral vein and tested by the biochemical analyzer Vitalab Flexor E with a standard set of reagents BioSystems (Spain). The following parameters were measured in blood serum: alkaline phosphatase activity, cholinesterase, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, total protein content, urea, glucose, triglycerides, cholesterol.

Euthanasia of animals was performed in a special chamber by inhalation saturation with carbon dioxide. For histological examination there were taken samples from the thyroid gland, liver, kidneys, stomach and all organs and tissues that had visual abnormalities or suspected oncopathology. If additional researches required, the rest of the organs had been archived. All collected material was fixed in 10 % neutral formalin. Preparation for histological examinations of the collected material included: alcohol dehydration, pouring into the paraffin blocks, incision staining with hematoxylin and eosin. Tumor and preneoplastic lesions were diagnosed in reliance on the laboratory animals' tumor classification [12, 13]. In general, the results of macro- and microscopic examinations of non-neoplastic and neoplastic pathology of animals during the two terms (52 and 104 weeks) were analyzed. Rats killed during the experiment were studied separately. Then the total indicators by groups were considered.

During the autopsies at 52- and 104-week examinations, rat weighed samples were removed from the brain, pituitary gland, thyroid gland, heart, liver, adrenal glands, kidneys, spleen and testes. The mass of the

ли: головний мозок, гіпофіз, щитоподібну залозу, серце, печінку, надниркові залози, нирки, селезінку і сім'яники. Визначали масу органів відносно до маси тіла тварин і відносно до головного мозку.

Описову статистику (середнє арифметичне значення і стандартне відхилення, $M \pm SD$) застосовували для розрахунку клінічних показників, ваги тіла і органів. Для розрахунку маси тіла та маси внутрішніх органів тварин додатково визначали медіану. Встановлювали значимість відмінностей за допомогою попарного порівняння за t-критерієм Стюдента для вибірок з нерівними дисперсіями. Якщо хоча б одна вибірка не підпорядковувалася закону нормального розподілення, використовували методи непараметричного дисперсійного аналізу, вибірки порівнювали за допомогою критерію Крускала-Уоліса (ANOVA). Якщо різниця була значима, залучали двосторонній тест Манна-Уїтні-Уїлконсона [14].

Виживання тварин в експерименті оцінювали з урахуванням кумулятивної смертності за допомогою критерію χ^2 . Попарно порівнювали частоту пухлинної патології з використанням комбінованих таблиць контингентності 2×2 за термінами виявлення пухлин з поправкою на інтеркурентну смертність з корекцією Єйтса на непереривність і за допомогою однобічного точного критерію Фішера. При оцінці латентних періодів розраховували в групах: середнє арифметичне значення часу виявлення пухлин (термін загибелі тварин) і тривалість життя щурів без пухлин, об'єднані дані та терміни виявлення перших пухлин. Статистичні розрахунки, проводили застосовуючи таблиці Excel 2010.

Результати та обговорення. Упродовж експерименту вигляд, поведінка, рухова активність, виживання та середня тривалість життя тварин поміж груп не різнилися (табл. 1). Причинами загибелі тварин були нечисельні випадки запальних процесів, зокрема у легенях, печінці та органах сечовивідної системи, характер і кількість яких вказує на їх спорадичний характер. У частини тварин, що загинули, виявляли низку фатальних злоякісних новоутворень: у контрольного щура на 60 тижні діагностовано метастатичну саркому м'яких тканин,

organs relative to the animals' body weight and relative to the brain was determined.

Descriptive statistics (arithmetic mean and standard deviation, $M \pm SD$) were used to calculate the clinical parameters, weight of body and organs. The median was additionally determined to calculate the body weight and the mass of the internal organs of the animals. Significance of differences was determined with the help of the pairwise comparison by Student's t-test for samples with unequal variances. If at least one sample did not obey the law of normal distribution, the methods of nonparametric variance analysis were used, and samples were compared using the Kruskal-Wallis test (ANOVA). If the difference was significant, a bilateral Mann-Whitney-Wilcoxon test was used [14].

The animals' survival rate in the experiment was assessed taking into account the cumulative mortality with the χ^2 criterion. The frequency of tumor pathology was compared pairwise using the combined contingency tables of 2×2 in terms of tumors detection adjusted for intercurrent mortality with Yates correction for continuity and with the help of irreciprocal Fisher exact test. When estimating latency periods, the following was calculated in groups: the arithmetic means of the tumor detection time (animal death time) and the lifespan of the tumor-free rats, pooled data, and the time of the first tumor detection. Statistical calculations were performed using Excel 2010 tables.

Results and Discussion. During the experiment, the appearance, behavior, motor performance, survival and average life expectancy of animals did not differ between groups (Tab. 1). The causes of animals' death were a few cases of inflammatory processes, specifically in the lungs, liver and urinary organs, the nature and number of which indicated their sporadic nature. A number of fatal malignant neoplasms were found in some of the dead animals: metastatic soft tissue sarcoma was diagnosed in a control rat at the 60th week, and in two rats of the same group adenocarcinomas of the seminal vesicles were detected during the 102-103-week observation period; also, the subintegumental fibrosarcoma was diagnosed in one of them, in the fourth male rat

у цій же групі за період 102–103 тижні спостереження – дві аденокарциноми сім'яних пухирців і у одного з них ще й підшкірну фібросаркому, у четвертого самця – сквамозноклітинну карциному шкіри. У шурів з другої групи на 50-у тижні експерименту виявили карциному молочної залози, а на 103-у тижні – низькодиференційовану карциному щитоподібної залози із метастазами в легенях та фібросаркому м'яких тканин. У тварин з третьої групи на 83-у тижні виявили метастатичну низькодиференційовану круглоклітинну саркому м'яких тканин, на 93-у тижні – метастатичну фібросаркому м'яких тканин з ділянками ліпосаркоми, на 103-у тижні – ацинарноклітинну карциному підшлункової залози із метастазами в легенях та метастатичну фібросаркому м'яких тканин. Аналізуючи частоту та спектр новоутворень, що після 56 тижневого експериментального терміну призвели до загибелі деяких тварин, можна говорити про обмеження їх спонтанними пухлинами для шурів-самців Wistar Han [15] у даних експериментальних умовах. Кількість фатальних пухлин у всіх групах була майже однакова. В контрольній і в піддослідних групах виживаність тварин у відсотках була в межах історичного контролю (від 66 до 87) [15] і становила 87, 82 і 78 %, відповідно.

Порівняльна оцінка динаміки росту шурів-самців за весь термін дослідження, що отримували пропізохлор у високій дозі, виявила зниження маси тіла (рис. 1). Починаючи з 29 тижня, спостерігали стабільне зниження маси тіла порівняно з контролем ($p \leq 0,05$). Наприкінці експерименту в третій групі зниження маси досягло 11 %. Це вказує на те, що пропізохлор у високій дозі (200 мг/кг) пригнічує ріст шурів. До того ж у попередніх тестуваннях властивостей пропізохлору, зниження маси тіла було зазначено як основний ефект при короткотривалому та хронічному впливах [7].

Узагальнені достовірні результати дослідження клінічної патології представлені в табл. 1. Аналізуючи гематологічні та біохімічні показники з'ясована деяка тенденція до зниження активності аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази у порівнянні з контролем (табл. 1). Але на 104-у тижні спостерігаємо печінкову фер-

– skin squamous cell carcinoma was diagnosed. Breast carcinoma was detected in the second group of rats at the 50th week and low-differentiated thyroid carcinoma with lung metastases and soft tissue fibrosarcoma at the 103th week. In animals from the third group at the 83rd week metastatic low-differentiated round-cell soft tissue sarcoma was found, at the 93rd week – metastatic soft tissue fibrosarcoma with areas of liposarcoma, at the 103rd week – acinar cell carcinoma of the pancreas with metastases in the lungs and metastatic soft tissue fibrosarcoma. Analyzing the frequency and spectrum of newgrowthes that after the 56-week experimental period led to the death of some animals, we could talk about their localizing by spontaneous tumors for Wistar Han male rats [15] under these experimental conditions. The number of fatal tumors in all groups was almost the same. In the control and experimental groups, the percentage of animal survival was within the historical control (from 66 to 87) [15] and it was 87, 82 and 78 % respectively.

A comparative assessment of the male rats' growth dynamics over the entire investigation period, which had been receiving propisochlor at a high dose, revealed a decrease in body weight (Fig. 1). From the 29th week, a steady decrease in body weight was observed compared to the control ($p \leq 0.05$). At the end of the experiment in the third group weight loss reached 11 %. This fact indicated that a high dose of propisochlor (200 mg/kg) inhibited the growth of rats. In addition, in previous tests of the propisochlor properties, the weight loss had been noted as the main result of the short-term and long-term effects [7].

The generalized reliable results of clinical pathology investigation were presented in Tab. 1. Analyzing the hematological and biochemical parameters, some tendency to decrease the activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase compared with the control group had been revealed (Tab. 1). But at 104th week we observed the hepatic enzyme adaptation, which had appeared in these enzymes' activity decrease only by 4 and 10 %, respectively. When comparing the kidney function indi-

ментну адаптацію, що проявилась у зниженні активності вказаних ферментів лише на 4 та на 10 % відповідно. При порівнянні показників функції нирок не виявлено достовірних змін. Лише на термінальній стадії дослідів відзначалася помітна тенденція щодо збільшення кількості білка в сечі щурів ($p \geq 0,05$). У дослідженнях на гризунах потрібно враховувати, що інтерпретація клінічних даних біохімії стає проблематичною після досягнення тваринами віку 18 місяців, через виникнення та прогресування асоційованих з віком хвороб. Тому часто після зазначеного віку, незважаючи на продовження основної токсичності, клінічні біохімічні результати втрачають статистичну значимість. Інколи таку ситуацію рятує збільшення статистичної вибірки або кореляція результатів біохімії з гістологічними дослідженнями [9].

При порівнянні значень абсолютної та відносної маси головного мозку, гіпофізу, щитоподібної залози, легенів, серця, печінки, надниркових залоз, нирок, селезінки, сім'яників щурів за 52-тижневий період не було визначено достовірної різниці між групами. Межі від максимальних до мінімальних даних маси органів були в діапазоні фізіологічного коливання від 3 до 5 %. За 104 експозиційні тижні (табл. 1) спостерігалось зменшення маси надниркових залоз до 11 % у двох тест-дозах порівняно з контролем. Зазвичай вага органа не є частиною хронічного дослідження канцерогенезу, яке на термінальній стадії вважається періодом навантаженим геріатричними проблемами, включно з пухлинами. Такі дані, як правило, мають значення не пізніше року дослідження [10]. Тому виявлене зниження маси надниркових залоз потребує додаткових досліджень. Вірогідних змін у масі інших органів, що досліджувалися, не виявлено. Але спостерігалась тенденція до збільшення маси нирок у високій дозі. Важливо брати до уваги, що клінічні дослідження можуть не виявити незначні пошкодження, чи можуть відобразити тільки перехідні, або зворотні зміни. Оцінка та інтерпретація клінічних результатів випробувань повинні корелювати з гістологічними знахідками [10].

За результатами гістологічного дослідження на 52-тижневий період дії пропізо-

cators, no significant changes were found. Only at the terminal stage of the experiments there was a noticeable tendency to increase the protein amount in the urine of rats ($p \geq 0.05$). In rodent studies, it should be taken into account that the interpretation of clinical biochemical data became problematic after animals reach the age of 18 months, due to the contraction and progression of age-related diseases. Therefore, often after the abovementioned age, despite the continuation of the main toxicity, clinical biochemical results lose statistical significance. Sometimes this situation is saved by increasing the statistical sample or correlating the results of biochemistry with histological investigations [9].

When comparing the absolute and relative masses of the brain, pituitary gland, thyroid gland, lungs, heart, liver, adrenal glands, kidneys, spleen, and testicles of rats over the 52-week period, no significant difference was found between the groups. The limits from the maximum to the minimum data of organs' mass were in the range of physiological fluctuations from 3 to 5 %. During the 104 exposure weeks (Tab. 1) there was observed a decrease in adrenal gland mass to 11 % in two test doses compared to control. Organ weight isn't usually a part of a long-term investigation of carcinogenesis, which in the terminal stage is considered a period burdened with geriatric problems, including tumors. Such data are usually relevant no later than the year of the investigation [10]. Therefore, the detected decrease in the mass of the adrenal glands requires additional research. The significant changes in the mass of other investigated organs were not determined. But there was a tendency to increase the kidney mass in high doses. It is important to take into account that clinical researches may not show minor damage, or may show only transient or reversible changes. The evaluation and interpretation of clinical researches results should correlate with histological findings [10].

According to the results of histological investigation for a 52-week period of propisochlor effect at a high dose (200 mg/kg), in the thyroid gland of rats there was observed an increase of atrophic

хлору у високій дозі (200 мг/кг) у щурів у щитоподібній залозі спостерігали посилення ознак атрофічного гіпотиреозу, а в нирках були більш виразні гемодинамічні порушення у вигляді значного кровонаповнення судин. Потому за 104 тижні в тій же групі в частини самців у щитоподібній залозі виявили, на тлі посилення дисфункціональної паренхіматозної дегенерації, активацію процесів проліферації, зокрема фолікулярноцитарної гіперплазії ($p \leq 0,05$). У легенях і нирках у тварин вказаної групи виявляли зміни, що спричинені хімічним навантаженням пропізохлору загального системного характеру, зокрема відбувалось помітне кровонаповнення судин мікроциркуляторного русла зі стазами. У печінці вірогідно збільшувалася частота випадків гепатоцелюлярних некрозів і фокусних геморагій, що свідчить про гепатотоксичність пропізохлору. У групі тестування пропізохлору в низькій дозі (20 мг/кг) не спостерігали відмінностей від контролю в характері та кількості порушень в органах, що досліджували гістологічно.

У групі піддослідних тварин за однорічний термін не виявлено новоутворень та передпухлинних станів у щитоподібній залозі, печінці, нирках, шлунку, сім'яниках. За два роки у тварин виявлено 53 новоутворення, локалізація, гістологічний тип та розподіл яких за групами, представлені в табл. 2. Як видно з результатів, з-поміж досліджених органів-мішеней найбільше виявлено новоутворень у щитоподібній залозі (23 випадки). За гістогенезом пухлини щитоподібної залози в більшості випадків траплялися фолікулярноклітинні та С-клітинні. За даними історичного контролю у самців – щурів Wistar Han зустрічаються доброякісні фолікулярноклітинні пухлини в межах від 1,67 до 12,73 %, злаякісні – від 1,67 до 3,64 %, С-клітинні аденоми – від 3,64 до 18,33 %, С-клітинні карциноми – від 1,82 до 5,45 % [14]. Загалом частота пухлин у наших дослідженнях вкладається у вказані інтервали. Незначне збільшення частоти фолікулярноклітинних аденом щитоподібної залози у щурів третьої групи було статистично не достовірне. Але враховуючи непухлинні морфологічні зміни у тварин у високій дозі, що мали місце в щитоподібній

hypothyroidism symptoms, and in the kidneys there were more distinctive hemodynamic disorders in the form of significant vessels blood filling. After 104 weeks in the same group, in the thyroid gland of some males there was found, in the midst of increased dysfunctional parenchymal degeneration, the activation of proliferation processes, particularly in follicular-cell hyperplasia ($p \leq 0,05$). In the lungs and kidneys of this group animals, there were detected changes caused by the chemical load by propisochlor of a general systemic nature, in particular, there was a noticeable vessels blood filling of the microcirculatory channel with stasis. In the liver, the incidence of hepatocellular necrosis and focal hemorrhagic had probably increased, indicating the hepatotoxicity of propisochlor. In the low-dose propisochlor testing group (20 mg/kg), there were no differences from the control in nature and the number of disorders in the bodies examined histologically.

In the group of experimental animals for one year neither newgrowth nor precancerous conditions were found in the thyroid gland, liver, kidneys, stomach, testicles. During the two-year-period, 53 neoplasms were detected in animals, their localization, histological type and groupwise distribution was represented in Tab. 2. As it could be seen from the results, among the examined target organs, the greatest number of newgrowth had been detected in the thyroid gland (23 cases). According to the histogenesis of thyroid gland tumors in most cases there were follicular-cell and C-cell. By reference to historical control, the Wistar Han male rats had benign follicular-cell tumors in the range from 1,67 to 12,73 %, malignant – from 1,67 to 3,64 %, C-cell adenomas – from 3,64 to 18,33 %, C-cell carcinomas – from 1,82 to 5,45% [14]. In general, the frequency of tumors in our studies fits into these intervals. A slight increase in the incidence of follicular-cell adenomas in thyroid glands of the third group rats was not statistically significant. But taking into account the non-neoplastic morphological changes in high-dose animals that occurred in the thyroid gland over a 12-month period – increased symptoms of atrophic hypothy-

залозі за 12-місячний термін – посилення ознак атрофічного гіпотиреозу, який притаманний контрольним тваринам, а в 24-місячний термін – на тлі посилення дисфункціональної паренхіматозної дегенерації, активацію процесів проліферації, зокрема нодулярної фолікулярноцитарної гіперплазії, можна говорити про позитивну тенденцію щодо залози при застосуванні пропізохлору, що підтверджують інші дослідження [4, 8]. Хоча автори попередніх робіт вважають, що пухлини щитоподібної залози у щурів у довгострокових досліджах не екстраполюються на людей через специфіку механізму дії у щурів за допомогою модуляції осі гіпоталамус-гіпофіз-щитоподібна залоза-печінка [7].

Гістоморфологічний спектр виявлених пухлин щурів як контрольних, так і піддослідних груп характеризувався спонтанною онкопатологією для даного виду, статі та лінії тварин [14] і відповідно до історичного контролю лабораторії. Частота новоутворень і коефіцієнт множинності у щурів-самців Wistar Han не мали статистично вірогідної різниці між групами. Не встановлено збільшення частоти пухлин залежно від дози пропізохлору.

Аналізуючи ступінь малигнізації пухлин, як видно з даних табл. 2, між кількістю злоякісних новоутворень у щурів піддослідних і контрольних груп різниці не виявлено ($p > 0,05$). Злоякісних пухлин у кожній із груп було набагато менше, ніж доброякісних. Метастатичні пухлини були діагностовані у тварин усіх груп, але за чисельністю, локалізацією та поширенням не мали відхилень між групами. Це не дозволяє оцінювати виявлені випадки метастазування як вплив пропізохлору на стадію прогресії в канцерогенезі. Таким чином, згідно з експериментальними даними не встановлено збільшення частоти пухлин та переваг їхньої специфічності гістогенезу залежно від дози дії пропізохлору.

Відомо, що канцерогенез пов'язаний зі скороченням тривалості життя. У нашому експерименті середня тривалість життя щурів, що не мали новоутворень, є терміном термінальної евтаназії (104 тижні), а латентний період виявлених пухлин знаходиться в межах від 100 до 102 тижнів.

roidism, which is peculiar to the control animals, and within 24-months period – in the midst of increased dysfunctional parenchymal degeneration, activation of proliferation processes, in particular, nodular follicular-cell hyperplasia, we could talk about a positive trend in the gland with the propisochlor usage, what was confirmed by other investigations [4, 8]. Although the authors of previous researches believed that thyroid tumors in rats in long-term experiments had been not extrapolated to humans due to the specific mechanism of action in rats by modulating the hypothalamic-pituitary-thyroid-liver axis [7].

The histomorphological spectrum of detected tumors in rats of both control and experimental groups was characterized by spontaneous oncopathology for this species, sex and lineage of animals [14] and in accordance with the historical control of the laboratory. The newgrowth incidence and multiplicity factor of Wistar Han male rats did not have a statistically significant difference between the groups. There wasn't detected any increase in the frequency of tumors depending on the propisochlor dose.

Analyzing the degree of tumors' malignancy, as it could be seen from the Tab. 2, no difference was found between the number of malignant neoplasms in rats of experimental and control groups ($p > 0.05$). There were far fewer malignancies in each group than benign ones. Metastatic tumors were diagnosed in animals of all groups, but there were no differences between groups in number, location and distribution. This fact did not allow to evaluate the detected cases of metastasis as the propisochlor effect on the progression stage in carcinogenesis. Thus, according to experimental data, there was detected neither increase in the frequency of tumors nor the advantages of their histogenesis specificity depending on the dose of propisochlor.

It is known that carcinogenesis is associated with the life expectancy reduction. In our experiment, the average life expectancy of rats without neoplasms was the term of terminal euthanasia (104 weeks), and the latency period of detected tumors was in the range from 100 to 102 weeks. The time peri-

Терміни перших пухлин у групах зафіксовані при загибелі тварин на 60, 50 та 76 тижнях, відповідно. Як зазначено вище, це були в 1 та 3 групах саркоми м'яких тканин і в 2 групі – карцинома молочної залози. Таким чином, одержані результати свідчать про те, що величина латентного періоду пухлин у всіх групах припадає на останній триместр тривалості життя лабораторних щурів, що збігається із геріатричною фазою.

Як видно з табл. 1 та 2, на всіх етапах аналізу показників канцерогенного ефекту статистично не встановлено достовірної різниці поміж групами.

Висновки. Таким чином, аналіз одержаних даних дозволив дійти висновків:

1. Проведені дослідження показали, що пропізохлор, 95 % технічний за 2-річний період у дозах 20 та 200 мг/кг/добу не проявив канцерогенної дії. Введення пропізохлору не впливало на виживання і тривалість життя щурів – самців Wistar Han, не спричиняло збільшення кількості тварин з пухлинами, коефіцієнта множинності, співвідношення доброякісних та злоякісних пухлин, а також не призводило до скорочення їхнього латентного періоду. Залежності «доза-ефект» не спостерігалось.

2. За загальнотоксикологічними критеріями (зниження маси тіла, гепатотоксичність, гіперплазія щитоподібної залози) висока доза (200 мг/кг) відповідала максимально переносимій дозі (МПД), а NOAEL становив 20 мг/кг маси тіла.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

od of the first tumors in the groups was recorded at the death of animals at the 60th, 50th and 76th weeks, respectively. As it was mentioned above, there were in groups 1 and 3 the soft tissue sarcoma and in group 2 – breast carcinoma. Thus, the obtained results had indicated that the latent period of tumors in all groups accrued to the last trimester of laboratory rats' life expectancy, which coincided with the geriatric phase.

As it could be seen from Table 1 and 2, at all stages of the analysis of carcinogenic effect indicators it wasn't statistically detected the significant difference between the groups.

Conclusins. Thus, the analysis of the obtained data allowed us to conclude:

1. The investigation displayed that 95% technical propisochlor, during a 2-year period at doses of 20 and 200 mg/kg/day had not performed the carcinogenic effects. The propisochlor exposure had not affected the survival and life expectancy of Wistar Han male rats, had not increased the number of animals with tumors, multiplicity factor, the ratio of benign and malignant tumors, and had not reduced their latency. No dose-response relationship had been observed.

2. According to the general toxicological criteria (body weight loss, hepatotoxicity, hyperplasia of the thyroid gland), the high dose (200 mg/kg) corresponded to the maximum tolerable dose (MTD), and NOAEL was 20 mg/kg body weight.

Conflict of interest. The Authors declare no conflict of interest.

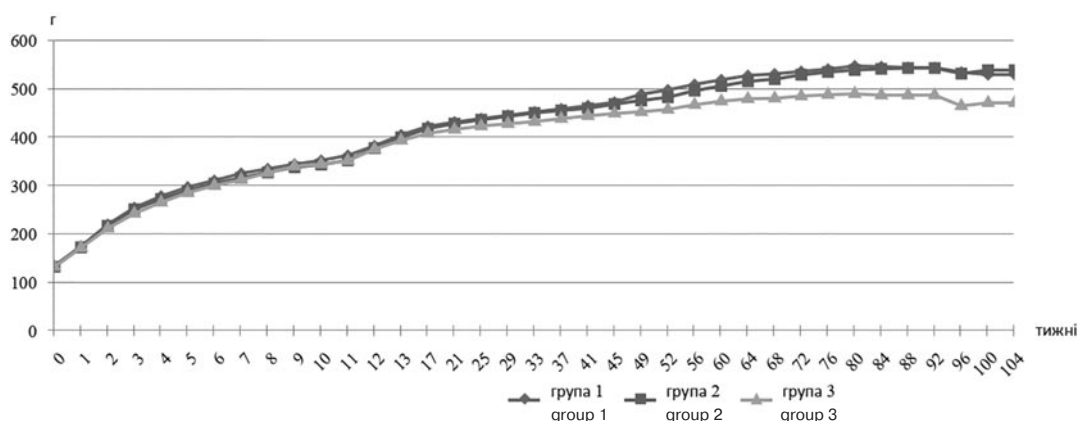


Рис. 1. Графік маси тіла тварин: 1 група – контроль; 2 група – доза пропізохлору 20 мг/кг; 3 група – доза пропізохлору 200 мг/кг

Fig. 1. Graph of animals' body weight: group 1 – control; group 2 – dose of propisochlor 20 mg/kg; group 3 – dose of propisochlor 200 mg/k

Експериментальні дані, одержані за експозиції пропізохлору на організм щурів /
Experimental data from propisochlor exposure to rats' bodies

Показники, абс. (%) / Indicators, abs. (%)	Група перша (контроль)/ Group one (control)	Група друга (пропізохлор 20 мг/кг) / Group two (propisochlor 20 mg/kg)	Група третя (пропізохлор 200 мг/кг) / Group three (propisochlor 200 mg/kg)
Тижні / Weeks	104	104	104
n	45	45	45
Ефективне число / Effective number	45 (100)	45 (100)	45 (100)
Death of animals	6 (13)	8 (18)	10 (22)
Фатальні причини загибелі: / Fatal causes of death:	6 (13)	8 (18)	10 (22)
запальні процеси / inflammatory processes	1 (2)	3 (7)	3 (7)
пухлини / tumors	4 (9)	3 (7)	4 (9)
не встановлено / not detected	1 (2)	2 (4)	3 (7)
Біохімія сироватки крові, 52 тижні / Serum biochemistry, 52 weeks:	(n = 5)	(n = 5)	(n = 5)
АЛТ в СК, Од/л / ALT in СК, u/l	61,51 ± 4,91	54,54 ± 8,03	41,60 ± 6,50
АСТ в СК, Од/л / AST in СК, u/l	119,77 ± 11,50	117,41 ± 7,88	101,71 ¹ ± 6,40
104 тижні / 104 weeks:	(n = 10)	(n=10)	(n=10)
АЛТ в СК, Од/л / ALT in СК, u/l	35,62 ± 3,43	34,55 ± 3,33	34,37 ± 4,40
АСТ в СК, Од/л / AST in СК, u/l	120,77 ± 14,41	119,62 ± 10,28	110,45 ± 14,52
Маса надниркової залози (пара), 104 тижні / Adrenal mass (pair), 104 weeks:	(n = 39)	(n = 37)	(n = 35)
М, г / M, g	0,072 ± 0,010	0,065 ¹ ± 0,012	0,064 ² ± 0,012
Median	0,071	0,064	0,067
Непухлинна патологія, 104 тижні / Non-neoplastic pathology, 104 weeks:	(n = 38)	(n = 40)	(n = 37)
щитоподібна залоза/ thyroid gland/ фолікулярноклітинна гіперплазія / follicular-cell hyperplasia	3 (8)	8 (20)	101 (27)
печінка/ liver/ гепатоклітинний некроз / hepatocellular necrosis	(n = 44) 0	(n = 43) 4 (9)	(n = 38) 11 ¹ (29)
Загиблі тварини з пухлинами / Dead animals with tumors	5 (11)	4 (9)	6 (13)
Середня тривалість життя, дні / Average life expectancy, days	718 ± 51	703 ± 87	704 ± 85
Кількість тварин з пухлинами / Number of animals with tumors	16 (36)	14 (31)	15 (33)
Кількість пухлин / Number of tumors	20 (44)	16 (36)	17 (38)
Коефіцієнт множинності, R / Multiplicity factor, R	1,25	1,14	1,13
Співвідношення добро-/злякисних пухлин / The ratio of benign / malignant tumors	13/7 (65/35)	9/7 (56/44)	13/4 (76/24)
Категорія першої пухлини / Category of the first tumor	фатальна	фатальна	випадкова
Латентний період першої пухлини, дні / Latent period of the first tumor, days	421	353	533
Середній латентний період пухлин, дні / The average latent period of tumors, days	710	703	715

Примітки: ¹ – достовірна різниця відносно контролю при p < 0,05; ² – достовірна різниця відносно контролю при p < 0,01. / Notes: ¹ – significant difference relative to control at p < 0,05; ² – significant difference relative to control at p < 0,01.

Частота пухлин щурів, виявлена за 104 тижні дослідження /
The incidence of rat tumors detected during the 104-week-investigation

Локалізація та тип пухлин, абс. (%) / Localization and type of tumors, abs. (%)		Група перша (контроль) / Group one (control)	Група друга (пропізохлор 20 мг/кг)/ Group two (propisochlor 20 mg/kg)	Група третя (пропізохлор 200 мг/кг) / Group three (propisochlor 200 mg/kg)
п	п	45	45	45
ГПОФІЗ: без пухлин	PITUITARY: no tumors	43 (96)	45 (100)	44 (98)
Аденома (д)	Adenoma (e)	0	0	1 (2)
Аденокарцинома (з)	Adenocarcinoma (h)	2 (4)	0	0
ТИМУС: без пухлин	THYMUS: no tumors	44 (98)	45 (100)	45 (100)
Тимома (д)	Timoma (e)	1 (2)	0	0
ЛІМФОВУЗЛИ:	LYMPH NODES:			
без пухлин	no tumors	44 (98)	44 (98)	44 (98)
Карцинома (м)	Carcinoma (m)	0	1 (2)	0
Саркома (м)	Sarcoma (m)	1 (2)	0	1 (2)
ШЛУНОК: без пухлин	STOMACH: no tumors	45 (100)	45 (100)	44 (98)
Аденома передшлунка (д)	Pancreatic adenoma (b)	0	0	1 (2)
ПІДШЛУНКОВА ЗАЛО- ЗА: без пухлин	PANCREAS: no tumors	45 (100)	44 (98)	42 (93)
Аденома острівковоклі- тинна (д)	Islet cell adenoma (b)	0	1 (2)	1 (2)
Аденокарцинома ацинар- ноклітинна (з)	Acinar cell adenocarcinoma (c)	0	0	1 (2)
Фібросаркома (м)	Fibrosarcoma (m)	0	0	1 (2)
СЕЛЕЗІНКА: без пухлин	SPLEEN: no tumors	45 (100)	45 (100)	44 (98)
Саркома (м)	Sarcoma (m)	0	0	1 (2)
НАДНИРКОВІ ЗАЛОЗИ:	ADRENAL GLANDS:			
без пухлин	no tumors	44 (98)	45 (100)	45 (100)
Саркома низькодиферен- ційована (м)	Low-grade sarcoma (m)	1 (2)	0	0
НИРКИ: без пухлин	KIDNEYS: no tumors	45 (100)	45 (100)	44 (98)
Саркома (м)	Sarcoma (m)	0	0	1 (2)
СІМ'ЯНІ ПУХІРЦІ:	SEMINAL VESICLES:			
без пухлин	no tumors	43 (96)	45 (100)	45 (100)
Аденокарцинома (з)	Adenocarcinoma (c)	2 (4)	0	0
СІМ'ЯНИКИ: без пухлин	TESTES: no tumors	44 (98)	45 (100)	44 (98)
Лейдигома (д)	Leydigoma (b)	1 (2)	0	1 (2)
СЕЧОВИЙ МІХУР:	BLADDER:			
без пухлин	no tumors	44 (98)	45 (100)	45 (100)
Папілома (д)	Papilloma (b)	0	1 (2)	0
М'ЯКІ ТКАНИНИ: без пухлин	SOFT TISSUES: no tumors	43 (96)	43 (96)	42 (93)
Фібросаркома (з)	Fibrosarcoma (c)	1 (2)	2 (4)	3 (7)
Саркома низько- диференційована (з)	Low-grade sarcoma (c)	1 (2)	0	0
ШКІРА: без пухлин	SKIN: no tumors	44 (98)	45 (100)	45 (100)
Карцинома сквамозноклі- тинна (з)	Squamous-cell carcinoma (c)	1 (2)	0	0

Частота пухлин шурів, виявлена за 104 тижні дослідження (продовження)/
The incidence of rat tumors detected during the 104-week-investigation (continuation)

Локалізація та тип пухлин, абс. (%) / Localization and type of tumors, abs. (%)		Група перша (контроль) / Group one (control)	Група друга (пропізохлор 20 мг/кг)/ Group two (propisochlor 20 mg/kg)	Група третя (пропізохлор 200 мг/кг) / Group three (propisochlor 200 mg/kg)
МОЛОЧНІ ЗАЛОЗИ:	BREAST GLANDS:			
без пухлин	no tumors	43 (96)	44 (98)	44 (98)
Аденома (д)	Adenoma (e)	1 (2)	0	0
Фібroadенома (д)	Fibroadenoma (b)	0	0	1 (2)
Цистпапілома (д)	Cyst papilloma (b)	1 (2)	0	0
Карцинома (з)	Carcinoma (h)	0	1 (2)	0
n	n	38	40	37
ЩИТОПОДІБНА	THYROID GLAND:			
ЗАЛОЗА: без пухлин	no tumors	31 (82)	31 (78)	30 (81)
Аденома С-клітина (д)	C-cell adenoma (b)	3 (8)	3 (8)	0
Аденома фолікулярноклітинна (д)	Follicular-cell adenoma (b)	4 (11)	2 (5)	6 (16)
Аденома епідермоїдна (д)	Epidermoid adenoma (b)	0	0	1 (3)
Карцинома С-клітина (з)	C-cell carcinoma (c)	0	2 (5)	0
Карцинома фолікулярноклітинна (з)	Follicular-cell carcinoma (c)	0	1 (3)	0
Карцинома низькодиференційована (з)	Low-grade carcinoma (c)	0	1 (3)	0
n	n	26	18	18
ПАРАЩИТОПОДІБНА	PARATHYROID			
ЗАЛОЗА: без пухлин	GLAND: no tumors	26 (100)	17 (94)	18 (100)
Аденома (д)	Adenoma (e)	0	1 (6)	0
n	n	43	40	39
ЛЕГЕНІ: без пухлин	LUNGS: no tumors	40 (98)	38 (100)	36 (100)
Гемангіоендотеліома (д)	Hemangioendothelioma (d)	1 (2)	0	0
Карцинома (м)	Carcinoma (m)	1 (2)	2 (5)	1 (3)
Саркома (м)	Sarcoma (m)	0	0	2 (5)
Саркома низькодиференційована (м)	Low-grade sarcoma (m)	1 (2)	0	0
n	n	44	43	38
ПЕЧІНКА: без пухлин	LIVER: no tumors	42 (95)	41 (95)	35 (92)
Аденома гепатоцелюлярна (д)	Hepatocellular adenoma (e)	1 (2)	1 (2)	1 (3)
Карцинома (м)	Carcinoma (m)	0	1 (2)	0
Саркома (м)	Sarcoma (m)	0	0	2 (5)
Саркома низькодиференційована (м)	Low-grade sarcoma (m)	1 (2)	0	0
Доброякісні пухлини:	Benign tumors:	13 (29)	9 (20)	13 (29)
Злоякісні пухлини:	Malignant tumors:	7 (16)	7 (16)	4 (9)
Метастатичні пухлини, фактичні / за локалізацією	Metastatic tumors, actual / localization	2 (4)/5 (11)	2 (4)/4 (9)	3 (7)/9 (20)

Примітки: пухлина (д) – доброякісна; (з) – злоякісна; (м) – метастатична. /
Notes: tumor (b) – benign; (c) – cancerous; (m) – metastatic.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Київ: Довідкове видання; 2020. 896 с.
2. Miklaszewska K, Adamczewski K. Weed control efficacy of propisochlor in wheat, barley, maize, root crops and pea. *Journal of Plant Protection Research*. 2003;41(4):341–7.
3. ECHA Committee for Risk Assessment, RAC. Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Acetochlor (ISO). Adopted 04 December 2014. Доступ: <http://echa.europa.eu/harmonised-classification-and-labelling-consultation>.
4. Ki-Hyun Kim, Ehsanul Kabir, Shamin Ara Jahan. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*. 2017;575:525–35.
5. Kerry D, Nancy M, Alberto P. A survey of EPA. OPP and open literature on selected pesticide chemicals: Mutagenicity and carcinogenicity of selected chloraacetamidids and related compounds. *Mutat Res Genetic Toxicol Environ Mutagen*. 1999;5:8.
6. Lewis KA, Tzilivakis J, Warner D, Green, A. An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: an International Journal*. 2016;22(4):1050–64.
7. Державні санітарні правила і гігієнічні норми «Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності». ДСанПіН 8.8.1.2.002–98.
8. European Food Safety Authority; Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance propisochlor. *EFSA Journal*. 2010;8(9):1769.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 51 p.
10. OECD. Guidance document 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and carcinogenicity Studies, Supporting Test Guidelines 451, 452 and 453. Series on Testing and Assessment №116. Paris: OECD; 2021. 156 p.
11. GLP. Directive 2004/10/EC, of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004. “Statement of GLP compliance №G–042” issued by SNAS 09/03/2015.
12. Turusov VS, Mohr U. Pathology of tumors in laboratory animals. Tumours in the rat. Second Edition. Lyon: IARC Scientific Publications. 1990;1(99):754.
13. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat. *Toxicological Pathology*. 2010;38:5–81.
14. Лапач СН, Губенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион; 2001. 408 с.
15. Giknis MLA, Clifford CB. Spontaneous Neoplasms and Survival in Wistar Han Rats: Compilation of Control Group Data. Charles River Laboratories. 2003, 25 p.

REFERENCES

1. Perelik pestytsydiv i ahrokhimikativ, dozvolenykh do vykorystannya v Ukraini. Kyiv: Dovidkove vydannia; 2020. 896 s.
2. Miklaszewska K, Adamczewski K. Weed control efficacy of propisochlor in wheat, barley, maize, root crops and pea. *Journal of Plant Protection Research*. 2003;41(4):341–7.
3. ECHA Committee for Risk Assessment, RAC. Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Acetochlor (ISO). Adopted 04 December 2014. Доступ: <http://echa.europa.eu/harmonised-classification-and-labelling-consultation>.
4. Ki-Hyun Kim, Ehsanul Kabir, Shamin Ara Jahan. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*. 2017;575:525–35.
5. Kerry D, Nancy M, Alberto P. A survey of EPA. OPP and open literature on selected pesticide chemicals: Mutagenicity and carcinogenicity of selected chloraacetamidids and related compounds. *Mutat Res Genetic Toxicol Environ Mutagen*. 1999;5:8.
6. Lewis K, Tzilivakis J, Warner D, Green, A. An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: an International Journal*. 2016;22(4):1050–64.
7. Derzhavni sanitarni pravyla i hihienichni normy «Hihienichna klasyfikatsiia pestytsydiv za stupenem nebezpechnosti». DSanPiN 8.8.1.2.002–98.
8. European Food Safety Authority; Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance propisochlor. *EFSA Journal*. 2010;8(9):1769.
9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 51 p.
10. OECD. Guidance document 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and carcinogenicity Studies, Supporting Test Guidelines 451, 452 and 453. Series on Testing and Assessment №116. Paris: OECD; 2021. 156 p.
11. GLP. Directive 2004/10/EC, of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004. “Statement of GLP compliance №G–042” issued by SNAS 09/03/2015.
12. Turusov V, Mohr U. Pathology of tumors in laboratory animals. Tumours in the rat. Second Edition. Lyon: IARC Scientific Publications. 1990;1(99):754.
13. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat. *Toxicological Pathology*. 2010;38:5–81.
14. Lapach SN, Gubenko AV, Babich PN. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniyem Excel. Kiyev: Morion; 2001. 408 s.
15. Giknis M, Clifford C. Spontaneous Neoplasms and Survival in Wistar Han Rats: Compilation of Control Group Data. Charles River Laboratories. 2003, 25 p.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Решавська Олена Вікторівна – старший науковий співробітник лабораторії патології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

Недопитанська Надія Миколаївна – кандидат біологічних наук, учений секретар Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

Баглій Євген Ананійович – доктор медичних наук, провідний науковий співробітник лабораторії патології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

Усенко Тетяна Вікторівна – кандидат біологічних наук, науковий співробітник лабораторії патології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

Ткаченко Людмила Володимирівна – біолог лабораторії патології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна

Ключинська Тетяна Іванівна – біолог лабораторії патології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна

Вербова Тетяна Вікторівна – старший лаборант з вищою освітою лабораторії патології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Reshavska Olena – Senior Researcher of the Pathology Laboratory of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.

Nedopytanska Nadiya – Candidate of Biological Sciences, Scientific Secretary of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.
Bagliy Yevhen – Doctor of Medical Sciences, Leading Researcher of the Pathology Laboratory of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.

Usenko Tetiana – Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Pathology Laboratory of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.

Tkachenko Lyudmyla – Biologist of the Pathology Laboratory of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.

Klyuchynska Tetiana – Biologist of the Pathology Laboratory of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.

Verbova Tetiana – Senior Laboratory Assistant (with higher education) of the Pathology Laboratory of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), 6 Heroiv Oborony st, 03127, Kyiv, Ukraine.

Стаття надійшла до редакції 07.02.2022

The article was received by the editors 02.07.2022