



ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПАСНОСТИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ТИАБЕНДАЗОЛА (Е 233)

Н.Р. Шепельская, доктор мед. наук, Л.П. Иванова, кандидат мед. наук, Л.И. Григоренко
ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности
имени академика Л.И. Медведя МЗ Украины», г. Киев, Украина

РЕЗЮМЕ. Цель. Изучение и оценка гонадотоксической активности пяти образцов генериков тиабендазола, воспроизводимых различными фирмами КНР.

Методы. Исследования проведены в экспериментах на самцах и самках крыс Wistar Han при ежедневном внутривнутреннем введении с помощью зонда в течение 11 недель самцам и 10 недель самкам в дозах 0,0 – 10,0 – 30,0 мг/кг массы тела.

Результаты. Из пяти образцов пестицидов генериков четыре оказали токсическое влияние на репродуктивную функцию самок и самцов крыс в дозе 30 мг/кг массы тела. Патологические изменения затрагивают преимущественно морфо-функциональные показатели состояния семенников и их придатков, а также процессы спермато- и овогенеза, что приводит к пониженной жизнеспособности эмбрионов на этапе доимплантационного периода развития и к нарушению оплодотворяющей функции сперматозоидов у самцов.

Выводы. Выявлена потенциальная возможность неблагоприятного воздействия тиабендазола, загрязняющего пищевые продукты, на репродуктивное здоровье человека. Безопасной недеиствующей дозой (NOEL) по репродуктивной токсичности в условиях проведенных экспериментов является доза 10 мг/кг массы тела.

Ключевые слова: пестициды, репродуктивная токсичность.

Вступление. Предупреждение вредного воздействия ксенобиотиков, поступающих в организм человека из различных объектов окружающей среды, — одна из приоритетных задач превентивной токсикологии. В ряде случаев такими объектами могут быть продукты питания, вода и напитки, содержащие токсичные пищевые добавки или остаточные количества химических средств защиты растений. Решение этой задачи сводится к минимизации загрязнения биосферы и продуктов питания химическими соединениями, а также к оценке риска их применения. Как известно, «оценка риска — это процесс, с помощью которого дается научное заключение о потенциальной возможности тестируемого агента вызвать токсический эффект у человека и устанавливаются безопасные уровни его воздействия» [1]. Одним из главных компонентов оценки риска химических веществ, в частности пестицидов и пищевых добавок, является идентификация опасности, предполагающая получение и оценку данных о токсичности тестируемого соединения с последующей

экстраполяцией экспериментально полученных данных на человека и установлением безопасных уровней воздействия — Reference Dose (RfD) или Reference Concentration (RfC). Представленные в настоящем сообщении исследования генериков тиабендазола, загрязняющего пищевые продукты как в качестве пестицида, так и в качестве пищевой добавки, проведены с целью идентификации опасности и оценки риска репродуктивной токсичности для человека пяти образцов этого препарата, воспроизводимых различными фирмами КНР.

Тиабендазол [2-(4-тиазолил)-1H-бензимидазол] — высокоэффективный фунгицид системного действия класса бензимидазолов. В сельском хозяйстве используется для аэрозольной обработки зерновых культур, подсолнечника, гороха, риса, сои, рапса, кукурузы, картофеля и томатов против возбудителей грибковых инфекций [2]. Обладает широким спектром фунгицидного действия, поэтому активно применяется также в пищевой промышленности в качестве пищевой

добавки, эффективно действуя против болезней сельскохозяйственной продукции при хранении, образуя на их поверхности долго сохраняющийся (до 6 месяцев) защитный слой [3]. При этом необходимо учитывать, что пищевая добавка свободно проникает внутрь обработанных продуктов, становясь т.о. пищевым контаминантом.

Механизм действия тиабендазола заключается в ингибировании биосинтеза нуклеиновых кислот ДНК и РНК грибов-патогенов, а также подавлении важной фазы деления ядра клеток фитопатогенов — формирования протоплазматических нитей, нарушающим их репродуктивную функцию [4].

По данным литературы [5-7], оригинальный тиабендазол по параметрам острой пероральной токсичности относится к 4 классу опасности согласно ДСанПиН 8.8.1.2.002-98 [8], ЛД₅₀ для крыс 3330 мг/кг, для мышей 3810 мг/кг. При субхроническом воздействии (90 дней) NOEL (No-Observed-Effect Level) для крыс — 9 мг/кг, собак — 35 мг/кг. В хронических экспериментах NOEL для крыс и собак — 10 мг/кг, мышей — 6 мг/кг. Основным в характере токсического действия тиабендазола является тиреотропный и гепатотропный эффекты, анемия.

Тиабендазол обладает слабым мутагенным действием. У самок крыс выявлено увеличение частоты опухолей щитовидной железы, NOEL — 10 мг/кг. NOEL по эмбриотоксическому действию для крыс — 10 мг/кг, кроликов — 24 мг/кг, мышей — 25 мг/кг. Учитывая качественную и количественную характеристику параметров токсичности тиабендазола, по международной классификации данной

пищевой добавке был присвоен статус «опасная» для здоровья [9].

В больших дозах, даже при однократном воздействии, тиабендазол может вызывать токсический эффект, сопровождающийся рвотой, тошнотой, диареей, головными болями, головокружением, сонливостью, потерей аппетита, усталостью, лихорадкой, темной мочой и пожелтением кожи и глаз. При контакте с добавкой Е 233 велика вероятность развития кожных заболеваний [10].

Материалы и методы исследований. Все образцы тиабендазола технического были предоставлены заказчиками однократно на весь курс исследований (табл. 1).

Документация на методы синтеза изучаемого соединения и методы определения представленного образца, его состав, химическую идентичность, чистоту, стабильность и другие параметры, необходимые для его характеристики, принадлежит заказчику, который несет за нее полную ответственность.

Перед началом эксперимента 20,0 г изучаемого вещества было отобрано в плотно закупоренную стеклянную емкость и хранилось в тех же условиях, что и основная масса изучаемого соединения. Эта навеска хранится в архиве отдела экспериментальной токсикологии и отдаленных последствий действия.

Схема исследований образца № 1. Исследования репродуктивной токсичности технического тиабендазола выполнены на 180 крысах Wistar Han обоего пола. Подопытные самцы крыс Wistar Han получали тиабендазол ежедневно (кроме субботы и воскресенья) внутривентрикулярно с помощью зонда в течение 11 недель. По окончании

Таблица 1

Исследуемые образцы тиабендазола

Данные о веществе	Образцы тиабендазола под кодовыми номерами				
	1	2	3	4	5
Чистота	99,5 %	98 %	98 %	98 %	95,5 %
Внешний вид	Порошок белого цвета	Порошок белого цвета	Порошок белого цвета	Порошок белого цвета	Порошок кремового цвета
Хранение	Воздухо- и светонепроницаемый контейнер, при температуре не выше 20°C				

запланированного периода затравки часть животных спаривалась с интактными самками. На 20-й день беременности самок умерщвляли и определяли у них показатели, характеризующие репродуктивную функцию. Оставшиеся подопытные самцы использовались для изучения морфо-функциональных показателей.

Подопытные самки получали тиабендазол в течение 10 недель. На протяжении последних 2-х недель периода затравки у самок изучали цикличность и продолжительность эстрального цикла. По окончании затравки подопытные самки спаривались с интактными самцами. На 20-й день беременности самок умерщвляли и у них регистрировали показатели, характеризующие состояние функции воспроизведения потомства.

Схема исследований образцов № 2 и № 3. Исследования репродуктивной токсичности каждого из двух указанных образцов технического тиабендазола выполнены на 90 крысах Wistar Han обоего пола. Подопытные самки получали тиабендазол в течение 10 недель. На протяжении последних 2-х недель периода затравки у самок изучали цикличность и продолжительность эстрального цикла. По окончании затравки подопытные самки спаривались с интактными самцами. На 20-й день беременности самок умерщвляли и у них регистрировали показатели, характеризующие состояние функции воспроизведения потомства.

Схема исследований образцов № 4 и № 5. Исследования репродуктивной токсичности каждого из двух образцов технического тиабендазола выполнены на 120 крысах Wistar Han обоего пола. Подопытные самцы крыс Wistar Han получали тиабендазол ежедневно (кроме субботы и воскресенья) внутривентрикулярно с помощью зонда в течение 11 недель. По окончании запланированного периода затравки часть животных спаривалась с интактными самками. На 20-й день беременности самок умерщвляли и у них определяли показатели, характеризующие репродуктивную функцию. Оставшиеся подопытные самцы использовались для изучения морфо-функциональных показателей.

Все животные, вскрывавшиеся в ходе эксперимента, подвергались тщательному макроскопическому исследованию. У 10 самцов из подопытных и контрольной групп опреде-

ляли коэффициенты относительной массы семенников и придатков.

Животные. Крысы Wistar Han (самцы и самки) были получены из питомника SPF животных ДП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И.Медведя».

Для изучения репродуктивной токсичности образца тиабендазола № 1 была получена партия животных из 80 самцов массой от 90 до 110 г и 100 самок массой от 80 до 90 г. В каждом эксперименте по изучению образцов № 2 и 3 использовано по 30 самцов массой от 80 до 110 г и по 60 самок массой от 75 до 90 г. Для исследований образцов № 4 и 5 — по 60 самцов массой от 80 до 100 г и по 60 самок массой от 70 до 90 г.

7 дней продолжался адаптационный период, в течение которого животные адаптировались к новым условиям и переходили на рацион вивария Центра. За животными осуществлялось ежедневное наблюдение. Перед началом воздействия масса тела самцов составляла от 110 до 140 г, масса самок — от 95 до 115 г.

Условия содержания животных. Животные были размещены в специально оборудованном помещении, доступ в которое был ограничен. Комната обеспечивалась принудительной вентиляцией (12 объемов в час), которая исключала рециркуляцию воздуха. Температура и относительная влажность воздуха регистрировались ежедневно, колебания температуры составляли от 20 до 25 °С, влажности — от 40 до 60 %. Освещение было естественным.

Обеспечение водой. Животные получали питьевую воду без ограничения из стеклянных бутылок объемом 0,5 литра через стеклянные наконечники.

Рацион. На протяжении всего эксперимента крысы получали ad libitum сбалансированный гранулированный автоклавированный корм производства Альтромин (Германия).

Тип клеток и количество животных в клетке. Животные содержались в клетках типа Т4. Корпус клетки (40x30x15 см) изготовлен из полисульфурана (материала устойчивого к автоклавированию), сверху накрыт металлической съемной решеткой. Подстилка из стерилизованной, не хлорированной пищевой бумаги сменялась 2 раза в неделю. Клетки мылись и обеззараживались 1 раз в неделю.

В различные стадии эксперимента максимальное количество крыс в одной клетке было:

Стадии исследования	Количество животных	
	самки	самцы
1) Период адаптации	5	5
2) Затравка	5	5
3) Изучение функциональных показателей состояния гонад	5	5
4) Спаривание	2	1
5) Самки до 20-го дня беременности	3	

Затравка препаратом. Полученные животные были распределены по клеткам и наблюдались в течение периода адаптации. При наличии признаков какой-либо патологии или значительном отклонении от средней массы животные выбраковывались. Каждому животному был присвоен индивидуальный номер, маркировка осуществлялась нанесением меток 1 % водно-спиртовым раствором метиленового синего и насыщенным водным раствором пикриновой кислоты.

На клетку наклеивалась этикетка с указанием названия пестицида, номера хоздоговора, номеров животных, пола, номера группы и величины дозы испытуемого соединения. Изучаемое соединение вводили экспериментальным животным в виде свежеприготовленной водной суспензии ежедневно, кроме субботы и воскресенья, внутривентрально с помощью зонда.

Дозы. Во всех экспериментах подопытные и контрольные животные получали тиабендазол в следующих дозах (табл. 2).

Параллельно с контрольными и подопытными животными содержались интактные самцы (30) и самки (60), предназначенные для спаривания. Интактные животные были также распределены по группам и промаркированы.

Приготовление вводимого раствора и введение. Для приготовления рабочих суспензий ежедневно готовились растворы изучаемого соединения. Растворы вводились из расчета по 0,5 мл на 100 грамм массы тела животных. (По мере роста животных количество приготавливаемой суспензии увеличивалось).

Контрольным животным вводилась дистиллированная вода с эмульгатором в эквивалентных количествах.

Введение осуществлялось с помощью зонда из нержавеющей стали с оливой на конце (модифицированная игла для инъекций, ГОСТ 25377-82) диаметром 1,6 мм и длиной 60 мм, насаженного на медицинский шприц объемом 2 или 5 мл (ГОСТ 64-1863-80). Для коррекции количества вводимого раствора в соответствии с увеличением массы тела животные еженедельно взвешивались.

Признаки общетоксического действия. Все животные на протяжении всего периода исследования ежедневно обследовались с целью регистрации каких-либо видимых признаков реакции на воздействие изучаемого соединения.

Масса тела. Подопытные самцы взвешивались еженедельно в течение всего периода затравки. Подопытные самки взвешивались еженедельно до периода спаривания и на 0, 6, 13 и 20 дни post coitum.

Таблица 2

Дозовый режим введения тиабендазола экспериментальным животным

№ образцов	№ группы	Дозовый уровень мг/кг массы тела	Количество животных
1, 4, 5	1 (самцы)	0,0	20
1, 2, 3	1 (самки)	0,0	20
1, 4, 5	2(самцы)	10,0	20
	3 (самцы)	30,0	20
1, 2, 3	2 (самки)	10,0	20
	3 (самки)	30,0	20

Эстральные циклы. В течение последних 2-х недель периода затравки у подопытных самок ежедневно исследовали вагинальные мазки с целью определения продолжительности всего эстрального цикла, частоты и длительности его отдельных стадий. Мазки также готовили с первого дня подсаживания интактных самцов к подопытным самкам и подопытных самцов к интактным самкам для определения момента спаривания.

Морфо-функциональные показатели состояния семенников. По окончании запланированного периода затравки из подопытных групп в произвольном порядке отбирали 10 самцов, которые подвергались исследованию морфо-функционального состояния гонад. Животных взвешивали, умерщвляли, вскрывали брюшную полость, извлекали правый семенник, отделяли придаток семенника, тщательно освобождая от жировой ткани, и взвешивали извлеченные органы. Заранее готовили лабораторные пробирки с 2-мя мл физиологического раствора в каждой, которые маркировали в соответствии с количеством и номерами подопытных самцов и содержали в микротермостате типа МТ-03 при температуре 37°C.

Затем на подогретое часовое стекло наливали около 0,5 мл физиологического раствора из соответствующей пробирки, помещали в него придаток, рассекали его вдоль, после чего физиологический раствор вместе с рассеченным эпидидимусом возвращали в ту же пробирку, тщательно соскабливая стеклянной палочкой остатки тканей. Содержимое пробирки интенсивно встряхивали и погружали в водяной термостат.

После этого образовавшуюся взвесь сперматозоидов лейкоцитарным меланжером набирали до первой метки и разводили физиологическим раствором (температура 37°C) до 2-й метки, меланжер встряхивали, спускали 2 капли и образованной суспензией заполняли подогретую до 35-37°C камеру Горяева (модель 851, МРТУ 64-1-816-63) для счета форменных элементов крови. В 100 больших квадратах подсчитывали общее количество сперматозоидов и количество двигающихся спермиев. Определяли количество аномальных сперматозоидов.

Процедура спаривания. По окончании запланированного периода затравки 10 подопытных самцов спаривали с интактными

самками, а подопытных самок — с интактными самцами (в соотношении 1 самец к 2 самкам). Каждое утро на протяжении периода спаривания готовили вагинальные мазки для каждой самки, которые исследовали на наличие сперматозоидов. День обнаружения спермиев в вагинальном содержимом самки принимался за 0 день беременности. После установления факта спаривания самку отсаживали в отдельную клетку и прекращали взятие мазков. Продолжительность периода спаривания не превышала 3-х недель.

Прекоитальный интервал. Определяли время, прошедшее от момента подсаживания самцов к самкам до момента установления факта оплодотворения.

Показатели репродуктивной способности. На 20-й день беременности интактных самок, спаренных с подопытными самцами, и подопытных самок, забеременевших от интактных самцов, умерщвляли, вскрывали брюшную полость, извлекали и вскрывали матку, затем подсчитывали и регистрировали для каждой самки:

- а) общее количество желтых тел в яичниках;
- б) количество мест имплантации;
- в) количество резорбированных зародышей и плодов;
- г) количество мертвых плодов;
- д) количество живых плодов;
- е) наличие грубых аномалий развития у плодов;
- ж) среднюю массу плодов;
- з) общую массу пометов.

Терминальные исследования. Подопытные самцы, спаривавшиеся с интактными самками, и интактные самцы, подсаженные к подопытным самкам, по окончании периода спаривания исключались из эксперимента.

Всех забеременевших самок умерщвляли на 20-й день беременности. Оплодотворенных, но не забеременевших самок, умерщвляли на 20-й день предполагаемой беременности.

Самок, у которых в течение 3-х недель спаривания факт оплодотворения так и не был зарегистрирован, в случае отсутствия явных признаков беременности умерщвляли, вскрывали и исследовали через три недели после окончания периода спаривания.

Умерщвление животных осуществлялось путем помещения их в камеру с парами хлороформа.

Макропатология. Все подопытные самцы и самки, вскрывавшиеся в ходе эксперимента,

подвергались макроскопическому обследованию. Процедура вскрытия включала в себя ознакомление с результатами наблюдения за животными в течение эксперимента и обследование внутренних органов грудной и брюшной полостей. Регистрировали обнаруженные изменения и отклонения. Семенники и придатки семенников от 10 подопытных и контрольных самцов выделяли и взвешивали.

Обработка данных. Данные были представлены в виде средних групповых значений (\bar{X}) со стандартной ошибкой среднего значения ($\pm S \bar{x}$) (там, где это было необходимо), вычисленной по следующей формуле:

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum(\bar{x}-x)^2}{(n-1)n}}$$

где X — индивидуальное значение показателя в вариационном ряду (памет рассматривался в качестве статистической единицы), \bar{X} — среднее групповое значение показателя, n — число измерений.

Масса тела. Статистическая обработка значений массы тела для самок и самцов была проведена для каждого срока взвешивания.

Эстральный цикл. Были подсчитаны средние значения и средние квадратические ошибки продолжительности эстрального цикла и каждой его стадии для контрольной и подопытной групп самок.

Прекоитальный интервал. Значение прекоитального интервала высчитывалось по формуле:

$$\frac{\sum (\text{День периода спаривания}) \times (\text{к-во самок, спарившихся в этот день})}{\text{Общее количество спарившихся самок}}$$

Количество сперматозоидов (общее и подвижных). Подсчитанное в 100 больших квадратах камеры Горяева число сперматозоидов умножали на 100 000 и получали количество спермиев, содержащихся в 2-х мл суспензии.

Способность к спариванию и плодовитость. Для каждой группы и пола животных были определены следующие индексы:

$$\text{Индекс спаривания} = \frac{\text{Кол-во спарившихся ж-х}}{\text{Кол-во спаривавшихся ж-х}} \times 100$$

$$\text{Индекс зачатия} = \frac{\text{Кол-во забеременевших ж-х}}{\text{Кол-во спарившихся ж-х}} \times 100$$

$$\text{Индекс фертильности} = \frac{\text{Кол-во забеременевших ж-х}}{\text{Кол-во спаривавшихся ж-х}} \times 100$$

$$\text{Индекс беременности} = \frac{\text{Кол-во самок с живыми плодами}}{\text{Кол-во забеременевших самок}} \times 100$$

Анализ массы внутренних органов. Средние групповые значения и средние квадратические ошибки были подсчитаны для абсолютной и относительной массы внутренних органов, выделенных при вскрытии животных.

Статистическая оценка. Статистическая значимость межгрупповых различий всех показателей ($P < 0,05$), за исключением индексов, спаривания, зачатия, фертильности и беременности, оценивалась по критерию t — теста Стьюдента. При оценке значимости межгрупповых различий величин упомянутых индексов ($P < 0,05$) использовался критерий Фишера F .

Результаты Образец № 1.

Самцы. Тиабендазол в испытанных дозах не оказывал видимого влияния на общее состояние подопытных самцов и не вызывал смертности животных. Регистрация массы тела подопытных и контрольных животных показала, что испытуемый препарат не индуцирует изменений массы тела подопытных самцов.

При макроскопическом обследовании семенников и придатков не обнаружено видимой патологии этих органов. При изучении морфофункциональных показателей состояния половых желез не наблюдается достоверных изменений общего количества сперматозоидов, количества подвижных и патологических форм сперматозоидов, а также величин абсолютной массы семенников и их придатков.

Большинство intactных самок было покрыто подопытными самцами в первую же стадию эструса. Значение величины прекоитального интервала в подопытных группах достоверно не отличались от контроля. Индекс спаривания самцов статистически значимо не отличался от контроля. Наблюдалась не резко выраженная тенденция к снижению их оплодотворяющей способности и плодовитости в

обеих подопытных группах, о которых судили по индексам зачатия и фертильности интактных самок (100–95–85 % в 1, 2 и 3 группах соответственно).

Тиабендазол не оказал отрицательного влияния на остальные изучаемые показатели воспроизведения потомства у самцов (количество живых плодов F1 генерации, число погибших до имплантации зародышей и плодов, процент доимплантационной гибели, а также число и процент постимплантационной гибели).

Самки. Тиабендазол не оказал влияния на общее состояние самок, получавших препарат. Клинических проявлений токсического действия препарата не отмечалось.

Регистрация массы тела подопытных и контрольных самок в период затравки показала, что тестируемый препарат не индуцирует достоверного снижения массы тела подопытных самок обеих групп по сравнению с контролем.

В течение 2-х недельного периода наблюдения за эстральным циклом у самок подопытных групп не зафиксировано статистиче-

ски достоверных изменений продолжительности стадий цикла по сравнению с контролем. Большинство подопытных самок спарилось с интактными самцами в первую же стадию эструса.

Величины индексов спаривания, зачатия, фертильности и беременности в группах животных, получавших тиабендазол, статистически значимо не изменялись по сравнению с контролем, но наблюдалась тенденция к снижению этих показателей (100–85–90 % в 1, 2 и 3 группах соответственно).

У подопытных самок при воздействии максимальной дозы достигают уровня достоверности патологические изменения ряда показателей функции воспроизведения потомства. В этой группе статистически достоверно снизилось среднее количество живых плодов и статистически значимо увеличилось абсолютное и относительное количество погибших до имплантации зародышей. Снижение размера пометов привело к статистически достоверному снижению массы пометов (табл. 3).

Таблица 3

Суммарные показатели состояния репродуктивной функции самок, получавших образец тиабендазола № 1

Показатели	Стат. показатели	Доза тиабендазола, мг/кг		
		0,0	10,0	30,0
Индекс спаривания, %	\bar{X}	100	100	100
Индекс зачатия, %	\bar{X}	100	85	90
Индекс фертильности, %	\bar{X}	100	85	90
Индекс беременности, %	\bar{X}	100	100	100
Количество желтых тел	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	12,0±0,3	11,5±0,3	11,3±0,5
Количество живых плодов в помете	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	10,3±0,5	9,4±0,7	7,7±0,7 ²⁾
Число погибших до имплантации зародышей	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	0,9±0,3	1,7±0,6	2,6±0,6*
% доимплантационной гибели	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	7,3±2,7	15,0±5,6	22,2±4,0**
Число погибших после имплантации зародышей, плодов	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	0,8±0,4	0,5±0,2	0,9±0,2
% постимплантационной гибели	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	6,6±3,3	3,9±1,3	9,4±2,5
Общая масса пометов, г	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	37,5±2,0	33,8±2,4	27,7±2,0***
Средняя масса плодов, г	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	3,7±0,1	3,7±0,1	3,6±0,2

Примечание: * — $P < 0,02$ по отношению к контролю; ** — $P < 0,002$ по отношению к контролю; *** — $P < 0,001$ по отношению к контролю

Во второй подопытной группе достоверных изменений изучаемых параметров по сравнению с контролем не зарегистрировано.

Образцы № 2 и 3.

Тиабендазол не оказал влияния на общее состояние самок, получавших препарат. Клинических проявлений токсического действия тиабендазола не отмечалось. Регистрация массы тела подопытных и контрольных самок показала, что тестируемые препараты не индуцируют статистически достоверного снижения массы тела подопытных самок в период затравки. В период беременности масса тела подопытных самок также не изменялась по сравнению с контролем. В течение 2-х недельного периода наблюдения за эстральным циклом у подопытных самок не зафиксировано статисти-

чески достоверных изменений продолжительности цикла и отдельных его стадий.

Большинство подопытных самок спарилось с интактными самцами в первую же стадию эструса. Величина длительности прекоитального интервала в подопытных группах находилась в пределах физиологических колебаний и достоверно не отличалась от контроля. В четырех подопытных группах и в контроле все самки спарились в течение трехнедельного периода спаривания. Однако в отличие от контрольных самок не все подопытные самки забеременели после установления факта спаривания, что нашло свое отражение в некотором снижении индексов зачатия и фертильности (табл. 4).

Образец тиабендазола № 2 не оказал статистически достоверного токсического влияния на изучаемые репродуктивные парамет-

Таблица 4

Суммарные показатели состояния репродуктивной функции самок, получавших образцы тиабендазола № 2 и 3

Показатели	Стат. показатели	Доза тиабендазола, мг/кг				
		Контроль	Образец № 2		Образец № 3	
			0,0	10,0	30,0	10,0
Индекс спаривания, %	X	100	100	100	100	100
Индекс зачатия, %	X	100	90	90	95	90
Индекс фертильности, %	X	100	90	90	95	90
Индекс беременности, %	X	100	100	100	100	100
Количество желтых тел	X	11,80	11,78	11,22	11,42	11,06
	Sx ±	0,31	0,34	0,36	0,50	0,51
Количество живых плодов в помете	X	10,40	9,67	9,33	9,16	8,61*
	Sx ±	0,54	0,56	0,43	0,55	0,63
Гибель до имплантации	X	0,95	1,11	1,11	1,42	1,50
	Sx ±	0,34	0,44	0,29	0,54	0,48
% доимплантационной гибели	X	8,27	9,35	9,85	11,27	15,82
	Sx ±	3,12	3,91	2,75	4,02	5,53
Гибель после имплантации	X	0,45	1,00	0,78	0,84	0,94
	Sx ±	0,14	0,25	0,21	0,37	0,24
% постимплантационной гибели	X	3,96	8,57	6,97	6,12	7,80
	Sx ±	1,25	1,93	1,84	2,46	1,89
Общая внутриутробная гибель	X	1,4	2,11	1,89	2,26	2,44**
	Sx ±	0,24	0,35	0,25	0,46	0,36
Общая масса пометов, г	X	40,02	34,38	33,86	34,83	31,12**
	Sx ±	2,69	2,18	1,80	2,38	2,26
Средняя масса плодов, г	X	3,82	3,52	3,61	3,81	3,65
	Sx ±	0,10	0,12	0,11	0,10	0,06

Примечание: * — P < 0,05 по отношению к контролю; ** — P < 0,02 по отношению к контролю

ры в подопытных группах по сравнению с контролем (табл. 4).

Что касается образца № 3, этот препарат при воздействии в большей дозе не индуцировал статистически достоверного изменения таких параметров, как количество овулировавших яйцеклеток, до- и постимплантационная гибель эмбрионов и плодов, однако отрицательная тенденция к изменению перечисленных показателей в конечном итоге реализовалась статистически достоверным увеличением общей эмбриональной гибели и уменьшением количества живых плодов. Следует отметить, что и масса плодов в этой группе, хотя и недостоверно, снижалась по сравнению с контролем, в результате чего общая масса пометов также достоверно снизилась по сравнению с контролем (табл. 4). У самок, получавших меньшую дозу препарата, статистически значимых изменений перечисленных параметров по сравнению с контролем не зарегистрировано.

Образцы № 4 и 5.

Тиабендазол в испытанных дозах не оказывал видимого влияния на общее состояние подопытных самцов и не вызывал смертности

животных. Регистрация массы тела подопытных и контрольных животных показала, что испытуемый препарат в испытанных дозах не обладает системным токсическим эффектом и не оказывает достоверно значимого влияния на динамику массы тела подопытных самцов по сравнению с контролем.

При макроскопическом обследовании семенников и их придатков не обнаружено видимой патологии этих органов.

При изучении морфо-функциональных показателей состояния половых желез у подопытных самцов не наблюдается достоверного изменения таких параметров, как общее количество сперматозоидов, количество подвижных спермиев, процент патологических форм сперматозоидов

У самцов, получавших образец тиабендазола № 4 в дозе 30 мг/кг массы тела, увеличивается абсолютная масса придатков семенников, а у самцов, подвергавшихся воздействию образца № 5, при воздействии максимальной дозы наблюдаются достоверное повышение среднегрупповых величин абсолютной массы придатков и величин относительной массы семенников и их придатков по сравнению с контролем (табл. 5).

Таблица 5

Суммарные морфо-функциональные показатели состояния семенников у самцов, подвергавшихся воздействию тиабендазола

Показатели	Стат. показатели	Образец № 4			Образец № 5		
		Доза тиабендазола, мг/кг			Доза тиабендазола, мг/кг		
		0,0	10,0	30,0	0,0	10,0	30,0
Общее количество сперматозоидов, млн.	X Sx ±	155,90 7,67	157,00 11,45	154,20 8,25	151,10 8,18	138,20 5,43	140,40 5,73
Количество подвижных спермиев, млн.	X Sx ±	76,40 3,50	75,60 6,39	76,90 5,33	69,70 5,23	59,80 4,69	63,50 1,94
% подвижных сперматозоидов	X Sx ±	49,32 1,64	48,35 2,21	49,72 1,61	46,05 2,17	43,01 2,39	45,49 1,10
% патологических форм	X Sx ±	0,66 0,26	0,57 0,15	0,60 0,20	0,54 0,16	0,49 0,14	0,61 0,15
Масса семенников, г	X Sx ±	3,60 0,09	3,51 0,09	3,75 0,10	3,32 0,06	3,35 0,09	3,43 0,05
Масса придатков, г	X Sx ±	1,04 0,02	1,01 0,02	1,11** 0,02	1,12 0,03	1,07 0,02	1,24** 0,03
Коэффициент относительной массы семенников	X Sx ±	10,58 0,21	10,31 0,28	11,03 0,29	11,45 0,23	12,03 0,38	12,33* 0,29
Коэффициент относительной массы придатков	X Sx ±	3,07 0,05	2,99 0,10	3,26* 0,08	3,88 0,13	3,86 0,11	4,47*** 0,12

Примечание: * — P < 0,02 по отношению к контролю; ** — P < 0,01 по отношению к контролю; *** — P < 0,002 по отношению к контролю

Большинство самок было покрыто самцами в первую же стадию эструса. Значение величины прекоитального интервала в подопытных группах статистически достоверно не изменилось по отношению к контролю.

Оплодотворяющая способность самцов и их плодовитость, о которых судили по индексам зачатия и фертильности забеременевших от них интактных самок, у животных, получавших образец № 5, не изменились. Однако эти показатели статистически достоверно снизились у самцов, подвергавшихся воздействию образца № 4 в большей дозе. Указанные патологические изменения свидетельствуют о том, что тиабендазол в большей дозе оказал отрицательное влияние на функциональную полноценность сперматозоидов подопытных самцов, что отразилось также и на изменении показателей внутриутробного развития зародышей F1 поколения, проявляющегося статистически достоверным повышением процента доимплантационных потерь (табл. 6).

Показатели внутриутробного развития плодов F1 у интактных самок, спаренных с самцами, получавшими образец тиабендазола № 5, статистически значимо не изменялись по отношению к контролю.

Обсуждение результатов. Результаты проведенных исследований позволяют прийти к заключению, что фунгицид тиабендазол в эксперименте на животных оказывает токсическое действие на репродуктивную функцию самок и самцов крыс Wistar Han и, таким образом, представляет потенциальную опасность для репродуктивного здоровья человека. Из пяти образцов пестицидов генериков четыре оказали токсическое влияние на репродуктивную функцию самок и самцов крыс в дозе 30 мг/кг массы тела. Один образец тиабендазола (№ 2) в этой дозе не индуцировал изменений репродуктивных параметров у самок, что теоретически не исключает его токсического действия на репродуктивную систему самцов в условиях проведенного эксперимента. Установлена зависи-

Таблица 6

Суммарные показатели состояния репродуктивной функции интактных самок, забеременевших от самцов, получавших образец тиабендазола № 4

Показатели	Стат. показатели	Доза тиабендазола, мг/кг		
		0,0	10,0	30,0
Индекс спаривания, %	\bar{X}	100	95	100
Индекс зачатия, %	\bar{X}	100	94,74	75*
Индекс фертильности, %	\bar{X}	100	90	75*
Индекс беременности, %	\bar{X}	100	100	100
Среднее количество желтых тел на самку	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	12,65 0,59	12,72 0,45	12,47 0,24
Среднее количество живых плодов на самку	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	10,95 0,42	10,61 0,60	10,33 0,60
Среднее число погибших до имплантации зародышей на самку	\bar{X} $Sx \pm$	0,85 0,30	1,72 0,35	1,80 0,48
% доимплантационной гибели	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	5,71 1,81	14,38 4,31	14,70* 3,92
Среднее число погибших после имплантации зародышей, плодов на самку	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	0,85 0,23	0,39 0,11	0,33 0,20
% постимплантационной гибели	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	6,34 1,74	3,11 0,94	2,65 1,59
Общая масса пометов, г	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	40,22 1,52	37,97 2,10	39,99 2,31
Средняя масса плодов, г	\bar{X} $S\bar{x} \pm$	3,68 0,06	3,62 0,08	3,92 0,16

Примечание: * — $P < 0,05$ по отношению к контролю

мость «доза-ефект». Избирательной половой чувствительности к этому препарату не обнаружено. Безопасной недействующей дозой по репродуктивной токсичности в условиях проведенных экспериментов является доза 10 мг/кг массы тела. Наблюдается некоторая вариабельность степени выраженности обнаруженных изменений, однако в целом прослеживается определенная качественная корреляция индуцированных нарушений. Патологические изменения затрагивают преимущественно морфо-функциональные показатели состояния семенников и их придатков, а также процессы спермато- и овогенеза, что приводит к пониженной жизнеспособности эмбрионов на этапе доимплантационного периода развития и к нарушению оплодотворяющей функции сперматозоидов у самцов.

Результаты первого проведенного исследования одного из образцов (№ 1) и оценка риска его репродуктивной токсичности явились основанием для пересмотра и снижения величины допустимой суточной дозы (ДСД) тиабендазола в Украине с 0,3 мг/кг (ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001 [11]) до 0,1 мг/кг (постановление Главного государственного санитарного врача Украины №4 от 01.03.11 г.), что, кстати, привело к гармонизации этой

дозы с соответствующими RfD этого препарата, принятыми в США и Евросоюзе. Однако необходимо отметить, что в большинстве развитых стран, в частности в странах Евросоюза, тиабендазол запрещен к использованию в качестве пищевой добавки [12] и применяется исключительно как средство защиты растений. В Украине тиабендазол также не используется, как пищевая добавка, однако импортируемые продукты [13] (бананы, цитрусовые, яблоки, овощи, вина и многие другие) могут содержать это соединение в дозах, суммарно значительно превышающих ДСД тиабендазола для человека, что ставит перед контролирующими органами весьма сложную и ответственную задачу предотвращения неблагоприятного воздействия этого контаминанта на репродуктивное здоровье человека.

К сожалению, в настоящий момент в Украине в условиях переходного периода и гармонизации с международными требованиями не существует государственной службы санитарного контроля и системы текущего надзора за безопасностью пищевых продуктов, однако будущим, вновь создаваемым контролирующим органам необходимо будет учитывать эту весьма непростую ситуацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment. EPA/630/R-96/009. Federal Register 61, №212):56274-56322 – Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1996. – 126 p. – URL: <http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/REPRO51.PDF>.
2. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні: Каталог / [упоряд. В.У. Ящук, А.П. Корецький, В.М. Ващенко та ін.]. – Київ: ТОВ «Юнівест Медіа», 2014. – 832 с.
3. Зинченко В.А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность. / В.А. Зинченко. – М.: «Колос», 2012. – 127 с.
4. Гольшин Н.М. Фунгициды. / Н.М. Гольшин. – М.: «Колос», 1993. – 319 с.
5. Tomlin D. S. P. The Pesticide Manual : Fifteenth Edition / Ced. D. S. P. Tomlin. / Hampshire: British Crop Protection Council, UK, 2009. – 1457 p.
6. EPA, EXTNET, 1996. – The Extension Toxicology Network. Pesticide Information Profiles (PIP) [Electronic resource]. – URL: <http://www.extoxnet.orst.edu>.
7. Tiabendazole. Pesticide residues in food – 2006: Part II Toxicological. – Rome: IPCS WHO, 2006. – P. 429–450.
8. Пестициди. Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності: ДСанПіН 8.8.1.2.002-98. – [затв. МОЗ України 28.09.98 №2] // Зб. Важливих офіційних матеріалів з санітарних та протиепідемічних питань. – Київ, 2000. – Т. 9. – Ч. 1. – С. 249–266.
9. Вред пищевого консерванта Е 233 Тиабендазол [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://findfood.ru/component/pishevoj-konservant-E233-tiabendazol>.
10. E233 (Тиабендазол) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://zdorovyie24.ru/content>.
11. Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді водоем, ґрунті: ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001. затв. МОЗ України 20.09.01 №137. – Київ, 2001. – 244 с.

12. Regulation (Ec) No 1333/2008 of the European Parliament And Of The Council on food additives // Official Journal of the European Union. – 2008. – URL: https://www.fsai.ie/uploadedFiles/Consol_Reg1333_2008.pdf.
13. Food Additive Status List [[Electronic resource]. – URL: <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm091048.htm#ftnT>

ІДЕНТИФІКАЦІЯ НЕБЕЗПЕЧНОСТІ РЕПРОДУКТИВНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТІАБЕНДАЗОЛУ (E 233)

Н.Р. Шепельська, Л.П. Іванова, Л.І.Григоренко
ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України», м. Київ, Україна

РЕЗЮМЕ. Мета. Вивчення та оцінка гонадотоксичної активності п'яти зразків генериків тіабендазолу, що виробляються різними фірмами КНР.

Методи. Дослідження проведені в умовах експериментів на самцях та самках щурів Wistar Han при щоденному внутрішньошлунковому введенні за допомогою зонда протягом 11 тижнів для самців та 10 тижнів для самок у дозах 0,0 – 10,0 – 30,0 мг/кг маси тіла.

Результати. Результати проведених досліджень свідчать про те, що з п'яти зразків пестицидів генериків чотири проявили токсичний вплив на репродуктивну функцію самців та самок щурів у дозі 30 мг/кг маси тіла. Патологічні зміни стосуються переважно морфо-функціональних показників стану сім'яників та їх придатків, а також процесів спермато- і овогенезу, що призводить до низької життєздатності ембріонів на етапі доімплантаційного періоду розвитку та можуть порушувати запліднюючу функцію сперматозоїдів у самців.

Висновки. Виявлено потенційну можливість негативного впливу тіабендазолу, який забруднює харчові продукти, на репродуктивне здоров'я людини. Безпечною недіючою дозою (NOEL) за показниками репродуктивної токсичності в умовах проведених дослідів є доза 10 мг/кг маси тіла.

Ключові слова: тіабендазол, репродуктивна токсичність.

IDENTIFICATION OF THIABENDAZOLE (E 233) REPRODUCTIVE TOXICITY

N. Shepelskaya, L. Ivanova, L. Grigorenko
L.I. Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety,
Ministry of Health of Ukraine (State Enterprise) Kyiv, Ukraine

SUMMARY. Objectives. The purpose of this study was to assess *in vivo* the gonadotoxic activity of five thiabendazole generics manufactured by various Chinese companies.

Methods. The studies were conducted in male and female Wistar Han rats. Thiabendazole was administered orally by gavage in dose levels of 0.0 – 10.0 – 30.0 mg/kg body weight five days per week for 11 weeks for males and 10 weeks for females.

Results. The obtained data showed that four thiabendazole samples caused a toxic effect on the reproductive function of male and female rats at a dose of 30.0 mg / kg body weight. Pathological changes mainly affected the morpho-functional parameters of the testicles and epididymis, as well as processes of sperm and oogenesis, which leads to reduced viability of embryos at the stage of preimplantation development and cause dysfunction of the fertilizing sperm activity in males.

Conclusion. The analysis of these dates allows us to conclude that the NOEL thiabendazole for reproductive toxicity 10.0 mg/kg/day for both sex of animals.

Key words: thiabendazole, reproductive toxicity.

Надійшла до редакції 04.07.2016 р.