

## ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ КАРБЕНДАЗИМА НА ЭНДОКРИННУЮ СИСТЕМУ И ПУБЕРТАТНОЕ РАЗВИТИЕ КРЫС-САМЦОВ

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

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

**РЕЗЮМЕ.** Цель работы изучить влияние Карбендазима на эндокринную систему на модели полового созревания крыс – самцов Wistar и проанализировать данные литературы для оценки возможного механизма повреждения ее функции.

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен в соответствии с Протоколом для скрининга эндокринных деструкторов на модели полового созревания отъёмышей крыс самцов (OPPTS 890.1500) на 45 крысах Wistar Han. Карбендазим (98%) вводился внутриматочечно в дозах 10 и 75 мг/кг массы тела.

**Результаты исследования.** Установлено, что Карбендазим по критерию «отделение препуция» не влияет на половое созревание самцов, однако в дозе 75 мг/кг тормозит рост животных, снижает массу семенников, увеличивает относительную массу гипофиза и надпочечников. Статистически достоверных изменений массы других андроген-зависимых органов не установлено. При гистологическом исследовании в семенниках выявлены десквамация и некроз герминативных клеток, уменьшение рядности и атрофия эпителия канальцев. В эпидидимисах – дегенеративно-дистрофические изменения эпителия протоков, десквамация и некроз эпителиоцитов, дистрофия эпителия выносящих канальцев и отсутствие сперматогенной субстанции.

**Заключение.** Карбендазим действует как эндокринный деструктор в дозах более 10 мг/кг массы тела. В основе влияния на эндокринную систему самцов лежит повреждение семенников. По критерию «отделение препуция» Карбендазим не влияет на половое созревание, однако в дозе 75 мг/кг тормозит рост крыс-самцов.

**Ключевые слова:** Карбендазим, эндокринная система, модель полового созревания молодых самцов крыс (OPPTS 890.1500), механизм действия, эндокринный деструктор.

Карбендазим, метил бензимидазол-2-илкарбамат (IUPAC), широко используется в различных странах мира как фунгицид в препаратах пестицидов и биоцидов. Относится к химическому классу бензимидазолов. Механизм биологического действия заключается во взаимодействии его с белками микротрубочек, которые образуют в митозе веретено, в результате чего происходит торможение размножения клеток грибов. Данный эффект наблюдается также в клетках млекопитающих и приводит к образованию хромосомных aberrаций и анеуплоидий [1,2].

Карбендазим относится к малотоксичным веществам. ЛД<sub>50</sub> для крыс-самок и самцов при пероральном и ингаляционном поступлении >5000 мг/кг. ЛД<sub>50</sub> для кролей при перкутанном поступлении > 10 000 мг/кг. Раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки, а также сенсibiliзирующим действием не обладает. Вместе с тем, это вещество обладает мутагенным, канцерогенным действием и оказывает токсическое действие на репродуктивную систему самцов. По критериям стабильности в воде и почве относится к пестицидам I класса опасности [1,2].

Несмотря на большой объем токсикологических исследований Карбендазима, данные о его влиянии на эндокринную систему противоречивы и не позволяют сделать однозначные выводы [4,5]. Поэтому данный вопрос является актуальным до настоящего времени.

Для определения ксенобиотиков, нарушающих функцию эндокринной системы – эндокринных деструкторов, был разработан Протокол-эксперимента по обнаружению изменений полового развития, функции щитовидной железы [5]. Он рекомендован в качестве альтернативного теста первого уровня, скрининга батареи тестов для выявления этих веществ.

**Цель работы.** Изучить влияние Карбендазима на эндокринную систему на модели полового созревания самцов крыс Wistar Han и проанализировать данные литературы для оценки возможного механизма повреждения ее функции.

**Материалы и методы.** Крысы Wistar Han были получены из SPF питомника мелких лабораторных животных ГП «Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя Министерства здравоохранения Украины» и размещены в «чистой» зоне вивария после отлучения от матери на 21 день развития. После проведения акклиматизации животные в течение 2 суток были взяты в эксперимент. Все животные по данным ветеринарного осмотра были здоровы. В исследованиях использовано 45 крыс-самцов со средней массой тела  $40 \pm 2$  г. После рандомизации крысы были распределены по группам (контрольная и две экспериментальные).

Животные размещались в «чистой» зоне вивария барьерного типа. Экспериментальные

животные находились в одинаковых условиях по 5 голов в клетке. Для подстилки использовалась стерилизованная не хлорированная пищевая бумага. Комната была обеспечена принудительной вентиляцией (12 объемов в час) подготовленным воздухом. Температура и относительная влажность воздуха регистрировались ежедневно, колебания температуры: 20–21°C, влажности: 40–50 %. Освещение в комнатах: лампы дневного света (12 часов света, 12 часов темноты). Во время эксперимента крысы получали сбалансированный гранулированный корм Альтромин (Германия) и обеззараженную фильтрованную воду.

В экспериментах использовали Карбендазим 98% технической производства компании DVA (Shanghai) Chemicals Co., Ltd (Китай). Выбранные для эксперимента дозы Карбендазима на уровне 10 и 75 мг/кг массы тела соответствуют недействующей и действующей дозам по данным токсикологической оценки его влияния на развитие потомства [1,2]. Растворы Карбендазима готовились ежедневно, *ex tempore* на обеззараженной фильтрованной воде с эмульгатором ОП-10, ГОСТ 8433-81. Для низкой дозы готовился 0,2 % раствор Карбендазима, для высокой — 1,5 %. Карбендазим вводили натошак внутрижелудочно с помощью металлического зонда в объеме 1мл/100 г массы тела животного. Контрольные животные получали 0,05 % раствор ОП-10 при таких же условиях. Коррекция доз проводилась каждые 3-4 дня в течение экспозиции с учетом динамики массы тела животных. Введение вещества — один раз в сутки в течение 30 дней (с 23 по 53 день от дня рождения животных).

Экспериментальные исследования проводились в соответствии с требованиями комиссии биоэтики, по гуманному обращению с животными [6]

Проводился ежедневный осмотр животных с целью выявления каких-либо отклонений, связанных с действием вещества, а именно: поведение, подвижность, аппетит, состояние шерстного покрова, кожи и слизистых оболочек животных. Кроме этого, учитывались такие показатели: выживаемость, отделение препуция (PPS), масса тела при PPS, общая динамика массы тела и прирост массы тела.

Через 24 часа после последнего введения исследуемого вещества проведена эвтаназия животных. Эвтаназия проводилась в CO<sub>2</sub> камере согласно требованиям Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕС [6].

Все животные подвергались патологоанатомическому вскрытию. Перед вскрытием проводился осмотр трупа животного и регистриро-

вались все отклонения от нормы. При вскрытии осуществлялось макроскопическое обследование органов и тканей животных согласно методическим рекомендациям. Оценивалась абсолютная масса гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, почек, печени, эпидидимисов, семенников, семенных пузырьков, простаты, комплекса мышц тазового дна (*levator ani/bulbocavernosus (LABC)*). Определялась относительная масса гипофиза, щитовидной железы, печени, надпочечников и почек. Согласно методическим указаниям [5] для гистологического анализа были отобраны щитовидная железа, семенники и эпидидимисы. Препараты готовились и окрашивались по стандартной методике гематоксилином и эозинном, общепринятыми в морфологических исследованиях методами [5, 8].

Гистодиагностика изменений в отобранных образцах осуществлялась с учетом комплекса основных показателей, в частности обращалось внимание на степень и характер повреждений, выразительность компенсаторных изменений [5, 7, 8].

Статистическая оценка динамики массы тела и ее прироста, а также абсолютной и относительной массы внутренних органов и других признаков полового созревания проводилась путем сравнения показателей в подопытных и контрольных группах в соответствии с методическими указаниями [5]. Близость распределения данных к нормальному устанавливали с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Вилькинсона. Гомогенность — по критериям Кохрана С., Хартли, Барлетта, Левина. В случае нормального распределения и гомогенности переменных использовался однофакторный анализ переменных ANOVA. Для проведения коррекции показателей относительно изменения массы тела и расчета скорректированного среднего (*adjusted means*) использовался ANCOVA. В качестве ковариационной переменной была взята масса тела животных на 23 день после рождения (PND23). При отсутствии нормального распределения применялся непараметрический критерий Манна-Уитни. Разница между показателями контрольных и подопытных животных была достоверной при  $p < 0,05$ . Для определения влияния вещества на показатели полового созревания согласно методическим рекомендациям использовался также коэффициент вариации CV. Оценку достоверности различий гистологических показателей проводили с помощью точного критерия Фишера [5, 9]. Статистические расчеты проводились с помощью пакета компьютерных программ Excell 2010, «Statistica 6.0».

**Результаты и их обсуждение.** На протяжении эксперимента ни в одной из подопытных групп гибели животных не наблюдалось. Поведение, внешний вид и двигательная активность — не изменялись. Животные охотно поедали корм и потребляли воду.

При воздействии Карбендазима в дозе 10 мг/кг м.т. в ходе эксперимента не наблюдалось различий в изменении массы тела крыс по сравнению с контрольными животными. Вместе с тем, у крыс, получавших дозу 75 мг/кг м.т., отмечено статистически достоверное снижение массы тела от 6 до 11%. Данный эффект проявился на 10-30 сутки эксперимента (рис.1).

Статистически значимых изменений прироста массы тела у животных, получавших низкую дозу вещества по отношению к контролю, не установлено. У животных, получавших высокую дозу вещества, изменение данного показателя в сторону понижения было выявлено на 7-21 сутки, и составляло 15 — 28%, а на 30 сутки — в пределах 11 % ниже контроля (табл.1).

Коэффициент вариации индивидуальных показателей массы тела у крыс, получавших высокую дозу, в отличие от животных, получавших низкую дозу, превышал значения контроля. Таким образом, по критериям системной токсичности, а именно «изменение массы и прироста массы тела» Карбендазим в дозе 75 мг/кг проявлял эффект.

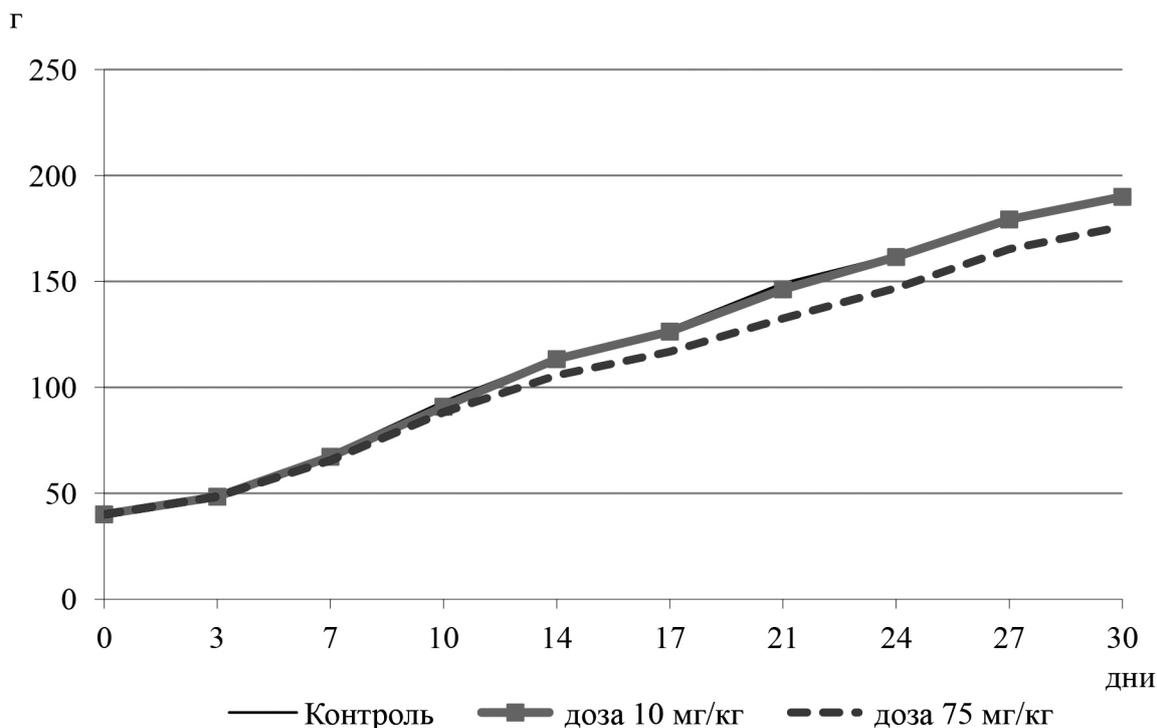
Результаты по определению показателей, характеризующих половое созревание крыс, представлены в табл. 2. Возраст полового

созревания крыс определялся по критерию «отделение препуция» (PPS) и выражался в сутках после рождения (PND).

Отделение препуция у крыс-самцов Wistar Han в контрольной группе происходило в среднем на 42,3 сутки. У животных, получавших Карбендазим как в маленькой, так и большой дозе этот показатель не отличался от контроля. Масса тела в период отделения препуция снижалась у животных, получавших высокую дозу вещества на 10,1 % ( $p \leq 0,05$ ). Кроме этого, у животных этой же группы такие показатели как «масса тела в конце опыта», «процентное соотношение к контролю окончательной массы тела» и «прирост массы тела в конце эксперимента» были статистически достоверно ниже контроля. Коэффициент вариации этих показателей в группе животных, получавших высокую дозу, был выше по сравнению с другими группами.

Таким образом, Карбендазим по критерию «отделение препуция» не влиял на возраст полового созревания крысят, однако в дозе 75 мг/кг угнетал рост животных. NOAEL действия препарата на половое созревание — 10 мг / кг.

Исследование органов и тканей подопытных животных проведено на 31 день (PND31) эксперимента. При внешнем осмотре и вскрытии как контрольных, так и подопытных животных не было выявлено каких-либо различий внешнего вида, формы, цвета и макроскопических изменений внутренних органов, включая органы эндокринной системы.



**Рис.1.** Динамика массы тела (г) крыс-самцов при воздействии Карбендазима

Прирост массы тела (г) крыс-самцов при воздействии Карбендазима

Сроки исследований (сутки)/Статистические параметры	3	7	14	21	30
Негативный контроль ( вода)					
M± SD	8,5±2,1	20,0±2,0	20,7±3,87	21,5±3,7	11,9±3,4
n	15	15	15	15	15
CV	24,8	10,0	18,6	17,3	19,2
Карбендазим (10 мг/кг)					
M± SD	8,3±2,6	18,9±3,2	22,5±4,2	19,9±4,1	10,7±2,4
n	15	15	15	15	15
p	0,88	0,26	0,23	0,29	0,25
CV	31	17	19	20	22
% от контр	98,4	94,3	108,7	92,9	89,4
Карбендазим (75 мг/кг)					
M± SD	8,4±2,6	17,1±6,3	17,5±5,4	15,7±5,4*	10,6±3,0
n	15	15	15	15	15
p	0,94	0,10	0,08	0,002	0,26
CV	31	37	31	34	28
% от контр	99,2	85,3	84,8	73,0	88,8

Примечание: \* p≤0,05

Органы половой сферы: семенники, эпидидимисы, семенные пузырьки и простата визуально были также без отклонений.

Результаты исследования влияния Карбендазима на состояние половых органов (семенники, эпидидимисы, простату, семенные пузырьки), органов эндокринной системы (гипофиз, щитовидная железа, надпочечники), печени и почек по критерию «абсолютная масса» и «относительная масса» представлены в табл. 3.

По результатам представленных данных у животных, получавших Карбендазим в дозе 10 мг/кг, статистически достоверных изменений абсолютной массы внутренних органов не установлено. Выявлено статистически недостоверные увеличения абсолютной массы гипофиза и семенных пузырьков на 12% и комплекса мышц (LABC) на 9%, печени, щитовидной железы и надпочечников на 4-5%, а также снижение массы простаты на 12%. Эти изменения находятся в пределах вариации данного показателя у контрольных животных.

В дозе 75 мг/кг наблюдается статистически достоверное увеличение абсолютной массы

гипофиза на 49%, эпидидимисов на 17-19% и снижение массы семенников на 28-30%. Изменения абсолютной массы других органов статистически незначимы. Отмечено снижение массы простаты на 11%, семенных пузырьков и LABC на 8%, печени, щитовидной железы и почек на 5%. Вместе с тем, происходит увеличение массы надпочечников – на 9%. Статистически достоверное увеличение относительной массы выявлено в гипофизе и надпочечниках на 62% и 19% соответственно.

При изучении зависимости доза–эффект с помощью регрессионного анализа установлена статистически достоверная корреляция между выявленными изменениями абсолютной массы гипофиза и семенников, относительной массы гипофиза и надпочечников. Коэффициент корреляции составлял 0,71 и 0,79, а также 0,77 и 0,65 соответственно (p≤0,05). Таким образом, Карбендазим в дозе 75 мг/кг вызывает у крысят снижение массы семенников, увеличение массы эпидидимисов, гипофиза и надпочечников.

Обзорный гистологический анализ препаратов щитовидной железы и семенников эпи-

**Обобщенные данные о половом созревании крыс-самцов:  
рост массы тела животных и сроки отделения препуции (PPS)**

Показатели	Статистические параметры	Негативный контроль (вода)	Карбендазим (10 мг/кг)	Карбендазим (75 мг/кг)
Возраст при PPS (PND) (сутки)	M± SD	42,3±2,0	42,2±1,9	42,3±1,6
	n	15	15	15
	CV	5	4	4
	p		0,85	1,00
Масса тела при PPS (г)	M± SD	149,6±10,1	146,9±10,9	134,5±14,8*
	n	15	15	15
	CV	7	7	11
	p		0,49	0,003
	% к контр.		98,2	88,9
Исходная масса тела (PND 23, г)	M± SD	48,5±3,91	48,4±4,2	48,4±4,0
	n	15	15	15
	CV	8,1	9	8
	p		0,96	0,96
	% к контр.		99,86	99,86
Масса тела в конце опыта (г)	M± SD	190,7±9,9 190,8	189,9±13,9 189,8	175,9±18,8* 175,9
	n	15	15	15
	CV	5	7	11
	p		0,86	0,01
	% к контр.		100,4	88,9
Процентное соотношение к контролю окончательной массы тела (%)			99,6	92,2*
Прирост массы тела	M± SD	150,7±8,8 150,8	150,1±12,7 149,9	135,9±18,4* 175,9
	n	15	15	15
	CV	6	8	14
	p		0,87	0,01
	% к контр.		100,7	85,7

Примечание: \*  $p \leq 0,05$

CV – коэффициент вариации

дидимисов у молодых крыс-самцов Wistar Han разных групп выявил ряд гистоструктурных изменений (табл. 4).

В щитовидной железе как контрольных, так и подопытных крыс отмечено умеренно выраженное полнокровие сосудов и капилляров, единичные или группами десквамированные тиреоциты и кистозная трансформация отдельных средних фолликулов. Данные изменения однотипны, а их количество приблизительно одинаково во всех экспериментальных группах.

В семенниках отмечена десквамация и некроз сперматогенных клеток, уменьшение рядности и атрофия сперматогенного эпителия. Десквамация в семенниках крысят в высокой дозе наблюдалась у 20 % животных, уменьшение рядности, некроз и атрофия – у 73% ( $p \leq 0,05$ ). В группе животных, получавших низкую дозу вещества, и в контроле (за исключением десквамации) – у 13 % животных (морфология десквамированных клеток сохранена) подобных проявлений не обнаружено.

## Абсолютная и относительная масса органов крысят при воздействии Карбендазима

Орган		Негативный контроль (вода)				Карбендазим (10 мг/кг)				Карбендазим (75мг/кг)			
		n	M	SD	CV	n	M	SD	CV	n	M	SD	CV
Печень (г)	U	15	10,8	1,0	9,2	15	11,2	1,1	9,4	15	10,4	1,8	1,8
	A		10,8				11,2				10,4		
	R		56,7	5,07	9		59,3	5,6	9		58,6	6,1	10
Почки (г)	U	15	1,7	0,1	7,8	15	1,7	0,2	9,4	15	1,6	0,2	12
	A		1,7				1,7				1,6		
	R		9,0	0,75	8		9,1	0,5	6		9,3	0,5	5
Гипофиз (мг)	U	15	6,7	0,9	13,5	15	7,5	1,9	25,5	15	9,9*	1,2	12
	A		6,7				7,5				9,9		
	R		35,0	5,0	14		39,8	10,3	26		56,9*	7,3	13
Над- почечники (мг)	U	15	45,0	3,9	9	15	45,9	3,7	8,2	15	48,9	2,9	6
	A		45,0				45,9				48,9		
	R		236,4	22,1	9		242,1	20,1	8		280,2*	27,2	10
Семенные пузырьки с жид- костью (мг)	U	15	397,3	117,1	29,5	15	446,0	90,1	20,2	15	366,7	85,2	23
	A		397,8				445,1				367,1		
Простата (мг)	U	15	172,7	52,8	30,6	15	150,7	30,1	20,0	15	154,7	37,8	24
	A		172,9				150,3				154,9		
LABC (мг)	U	15	547,3	120,9	22,1	15	595,3	105,2	17,7	15	504,7	71,7	14
	A		547,9				594,2				505,2		
Эпидиди- мис, левый (мг)	U	15	234,0	24,1	10,3	15	246,0	32,5	13,2	15	279,3*	66,2	24
	A		234,2				245,7				279,5		
Эпидиди- мис пра- вый (мг)	U	15	233,3	29,2	12,5	15	236,7	38,5	16,3	15	272,7*	50,4	18
	A		233,5				236,4				272,8		
Семенник левый (мг)	U		1262,0	116,3	9,2		1296,7	95,7	9,4		888,0*	151,1	17
	A		1262,4				1295,9				888,4		
Семенник правый (мг)	U		1282,0	104,5	8,2	15	1305,3	123,3	9,4		918,7*	172,4	19
	A		1282,4				1304,5				919,1		
	U	15	110,2	14,3	12,9	15	115,2	11,6	10,1	15	104,9	9,1	9
	A		110,2				115,2				105,0		
	R	15	577,6	68,8	12	15	608,6	65,2	11	15	602,2	75,8	13

Примечание \*-  $p \leq 0,05$ 

U(Unadjusted)-неоткорректированные показатели относительно PND23

A(Adjusted) — откорректированные показатели относительно PND23

R(Relative) — показатели относительно конечной массы тела

Гистоструктурные изменения в ткани щитовидной железы, семенниках и эпидидимисах животных

Гистоструктурные изменения	Негативный контроль (вода)	Карбендазим (10 мг/кг)	Карбендазим (75 мг/кг)
<b>n</b>	<b>15</b>	<b>15</b>	<b>15</b>
<i>Щитовидная железа</i>			
Умеренно выраженное полно- кровие сосудов и капилляров стромы	3(20%)	4(26%)	4(26%)
Единичные или группами десквамированные тиреоциты	4(26%)	4(26%)	4(26%)
Кистозная трансформация фолликулов	1(6%)	4(26%)	5(33%)
<i>Семенники</i>			
Полнокровие отдельных сосудов стромы	1(6%)	0	2(13%)
Десквамация клеток сперма- тогенного эпителия	2(13%)	0	3(20%)
- морфология клеток без изменений	2(13%)	0	0
- морфология клеток изменена	0	0	3(20%)
Очаговое уменьшение рядности сперматогенного эпителия	0	0	2(13%)
Уменьшение рядности спер- матогенного эпителия в соче- тании с атрофией эпителия извитых канальцев	0	0	11*(73%)
- сегментарная атрофия	0	0	7(47%)
- диффузная атрофия	0	0	4(26%)
<i>Эпидидимисы</i>			
Очаговые дегенеративно-дис- трофические изменения эпи- телия протоков	0	2(13%)	2(13%)
<i>Отек выносящих канальцев</i>			
Просветы выносящих каналь- цев заполнены микропузырь- ками и остатками клеточного детрита	0	2(13%)	3(20%)
- сегментарно	0	2(13%)	2(13%)
- диффузно	0	0	1(6%)
Просветы единичных вынося- щих канальцев заполнены небольшим количеством мик- ропузырьков и остатками кле- точного детрита, другие – без содержимого	0	0	11*(73%)
Диффузная дистрофия эпите- лия выносящих канальцев	0	0	3(20%)
Отек выносящих канальцев			3(20%)

В эпидидимисах в группе животных, получавших Карбендазим в дозе 75 мг/кг, отмечен отек выносящих канальцев (20%), диффузная дистрофия эпителия выносящих канальцев (20%), очаговые дегенеративно-дистрофические изменения эпителия протоков (13%), в просвете выносящих канальцев наличие микропузырьков и клеточного детрита (сегментарно – 13%, диффузно – 6%), небольшое количество микропузырьков и клеточного детрита в одних единичных канальцах и полное отсутствие содержимого в других (73 % ( $p \leq 0,05$ )). В группе, получавшей низкую дозу вещества, изменения проявились в виде дегенеративно-дистрофических изменений эпителия протоков (13%), а в просветах единичных выносящих канальцев отмечено наличие микропузырьков и остатков клеточного детрита (13 %). В контроле аналогичных проявлений не обнаружено.

#### **Обсуждение результатов исследования.**

Среди ключевых событий токсического действия Карбендазима на репродуктивную систему наиболее важным является его воздействие на сперматогенез. Полученные результаты подтверждают, что под влиянием Карбендазима в высокой дозе происходит нарушение гомеостаза андрогенов, а снижение их продукции в семенниках приводит к усилению их синтеза в надпочечниках при активации гипофиза. Эти данные также можно объяснить и результатами исследований у взрослых животных. При кастрации животных или снижении продукции тестостерона в семенниках наблюдается увеличение массы гипофиза за счет увеличения секреции гонадотропина (ФСГ, ЛГ, пролактин) и увеличение массы надпочечников с повышением синтеза адренокортикостероидов. Введение крысам андрогенов приводит к нормализации вышеупомянутых изменений [7].

Подобные результаты относительно действия Карбендазима на эндокринную систему получены на других моделях. Проведенных экспериментов по изучению влияния Карбендазима на эндокринную систему на модели полового созревания крыс самцов в доступной литературе не выявлено, однако имеются данные, в которых проводилось изучение репродуктивной токсичности данного вещества [18]. Показано, что воздействие Карбендазима в дозах 6,25, 12,5 и 25 мг/кг на беременных самок, а затем новорожденных самцов до 56 суток, не влияло на массу семенников, эпидидимисов, семенных пузырьков и на комплекс мышц тазового дна. Другие исследования выполнены на половозрелых самцах. При введении Карбендазима животным ежедневно в дозах 0, 150, 300, 600 мг/кг

м.т. в течение 15 недель были изучены изменения в тканях гипофиза, надпочечников, семенников, щитовидной и паращитовидной желез [10, 13]. Абсолютная и относительная масса семенников была значительно снижена в дозе 150мг/кг м.т. Повреждения обнаружены в тканях семенников, щитовидной и паращитовидной желез, надпочечников, тогда как в гипофизе патологических изменений не зафиксировано.

Исследования гонадотоксичности технического Карбендазима выполнены на крысах-самцах Вистар, получавших на протяжении 13 недель ежедневно внутрижелудочно вещество в дозах 25,0; 5,0 и 1,0 мг / кг [31]. Оценивали патоморфологические и спермато-логические показатели: продолжительность двигательной активности сперматозоидов, определяли количество подвижных сперматозоидов, их общее количество, а также число патологично измененных форм половых клеток. В диапазоне изучаемых доз эффект не установлен.

Следует отметить, что влияние Карбендазима на неполовозрелых и взрослых крыс – самцов несколько различается [11]. У половозрелых животных наблюдаются более выраженные повреждения семенников по сравнению с неполовозрелыми самцами. При гистологическом исследовании семенников крыс, получивших Карбендазим в дозе 164 мг/кг м.т. интраперитонеально, у неполовозрелых самцов на 30–35 сутки после рождения (PND) не обнаружено некрозов и отторжения сперматогенного эпителия.

Взаимодействие Карбендазима с тубулином семенников у половозрелых и неполовозрелых самцов было одинаковым. Существенно не отличалась и концентрация Карбендазима в сыворотке крови этих животных. Однако уровень Карбендазима в семенниках неполовозрелых самцов был в три раза ниже. При введении одинаковых доз вещества интратестикулярно этим животным у неполовозрелых самцов увеличилась частота случаев вакуолизации эпителия, десквамации клеток сперматогенного эпителия, однако не наблюдалось наличие некротических масс, как у взрослых животных (90–110 PND). Таким образом, уменьшение концентрации Карбендазима в семенниках неполовозрелых самцов лишь частично объясняет особенности его повреждающего действия на эти органы. Различная чувствительность двух возрастных групп может быть связана с отсутствием у неполовозрелых самцов продолговатых сперматид. Именно некрозы этих клеток и их отслоение в полость канальцев наблюдаются у взрослых самцов.

В тесте Гершбергера у кастрированных крыс Спрей Доули, Карбендазим в дозе 100 мг/кг

увеличивал вес простаты, но не влиял на другие тестостерон-зависимые органы [3]. В другом эксперименте, выполненном на этой модели, Карбендазим вводился крысам Wistar в дозах 0,20, 100, 200 мг/кг м.т. – статистически значимых изменений веса андроген-зависимых органов и тканей не обнаружено [4]. Эти данные подтверждают предположения о том, что выявленное в наших экспериментах дозозависимое изменение массы гипофиза и надпочечников связано с повреждением семенников и нарушением сперматогенеза.

Поскольку мишенью токсического действия Карбендазима являются семенники, происходит изменение уровня тестостерона и соответственно уровня других гормонов, регулирующих половую функцию. Прежде всего это фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ), секретлируемые гонадотропными клетками передней доли гипофиза. ФСГ воздействует на клетки Сертоли, которые в свою очередь стимулируют процесс гаметогенеза, активируя последовательную трансформацию сперматогоний в сперматоциты, то есть участвуют в сперматогенезе. ЛГ стимулирует клетки Лейдига к синтезу тестостерона, который отвечает за созревание сперматозоидов. Механизм, действующий по принципу обратной связи, поддерживает определенный гомеостаз этих и связанных с ними других гормонов в организме. Изменения содержания гормонов в сыворотке крови и в семенниках при воздействии Карбендазима на организм представлены в табл. 5 (литературные данные).

В субхроническом эксперименте при внутрижелудочном введении Карбендазима в дозах 0, 150, 300, 600 мг/кг на протяжении 15 недель было обнаружено снижение уровня общего тестостерона в сыворотке крови у животных, получавших большую и среднюю дозы вещества [12]. Вместе с тем, обнаружено снижение уровня метаболита тестостерона – дигидротестостерона в дозе 150 мг/кг. В других подобных исследованиях [13] Карбендазим вводили крысам в дозах 50, 100, 200, 400 мг/кг. Изменения уровня тестостерона в сыворотке крови крыс при введении Карбендазима в дозах 200 и 400 мг/кг не наблюдали, однако увеличивалась концентрация тестостерон-связывающих белков. Подобные результаты были получены в другом субхроническом исследовании [4]. Карбендазим в дозах 0,20, 100 и 200 мг/кг не влиял на изменение концентрации тестостерона как в сыворотке крови так и в тканях тестикул. В данном исследовании не установлено изменений концентрации в сыворотке крови ФГ. Уровень ЛГ гормона гипофиза был снижен в дозе 200 мг/кг. Дозозависимое увеличение ФГ и ЛГ было

выявлено в субхроническом эксперименте при пероральном введении крысам-самцам Карбендазима в дозах 50, 100, 200 и 400 мг/кг [15]. Уровень пролактина и тиреостимулирующего гормона оставался неизменным. Авторы отмечают, что изменения ФГ не связаны с усилением синтеза тестостерона, что указывает на нарушение сигнальной связи с клетками Сертоли. В другом исследовании при введении Карбендазима половозрелым самцам крыс Wistar [16] в дозе 25 мг /кг массы тела перорально в течение 48 дней наблюдалось снижение массы семенников, концентрации тестостерона и эстрадиола в сыворотке крови. Но он не оказывал влияния на массу тела крыс, концентрацию ЛГ и пролактина. После прекращения введения вещества при изучении восстановительных процессов через 48 дней вышеупомянутые эффекты исчезали.

При пероральном ежедневном введении Карбендазима крысам-самцам в дозах 0, 150, 300 и 600 мг/кг м.т. в течение 15 недель были изучены гистопатологические изменения в тканях гипофиза, надпочечников, щитовидной и парашитовидной железы, а также концентрация в сыворотке крови гормонов трийодтиронина (Т3), тироксина (Т4), тиреостимулирующего гормона (ТSH), адренокортикотропного гормона (АСТН) и гормона роста (GH). Обнаружены повреждения в ткани щитовидной и парашитовидной железы и надпочечников, тогда как в гипофизе патологических изменений не выявлено. В сыворотке крови наблюдалось значительное увеличение концентрации Т3 в дозе 300 и 600 мг/кг, тогда как уровень Т4, ТSH, АСТН и GH не отличался от контроля [10].

Однако в отличие от вышеприведенных результатов установлено, что при внутрижелудочном введении Карбендазима в течение 7 дней в дозах 0; 6,25; 12,5; 25; 50 и 100 мг/кг крысам-самцам происходит дозозависимое увеличение концентрации тестостерона и ФГ в сыворотке крови [14]. Антагонист Карбендазима Флутамид при подобном введении вызывал аналогичный эффект. Авторы не смогли объяснить полученный результат.

Резюмируя противоречивые данные вышеприведенных исследований, можно сделать заключение, что изменения уровня тестостерона, ФГ и ЛГ в сыворотке крови обусловлены воздействием Карбендазима на семенники. У кастрированных животных таких изменений не наблюдается. В результате такого воздействия Карбендазима изменяется структура семенников, что приводит к нарушению стероидогенеза, синтеза и транспорта тестостерона и других тканевых гормонов.

**Изменение содержания гормонов в сыворотке крови крыс  
при воздействии Карбендазима (литературные данные)**

Гормон	Доза мг/кг (продолжительность)	Эффект	Примечание, источник
Тестостерон в сыворотке крови	20; 100; 200 (10 суток)	н.р	Hershberger assay [4]
	50; 100; 200; 400 (13 нед)	↓ 200; 400	[15]
	150; 300; 600 (15 нед)	↓ 300; 600	[12]
	50, 100, 200, 400 (15 нед).	н.р	[13]
	6,25; 25; 100; 400 (1 нед)	↑ 6,25; — 400	[14]
	25 (7 нед)	↓ 25	[16]
Тестостерон в семенниках	20; 100; 200 (10 суток)	н.р	Hershberger assay [4]
	50; 100; 200; 400 (13 нед)	н.р ↑ 200; ↑ 400	[13]
Андрогенсвязывающие белки	50; 100; 200; 400 (13 нед)	↑ 200; ↑ 400	[13]
Дегидротестостерон	150; 300; 600 (15 нед)	↓ 150; 300; 600	[12]
Эстрадиол	25 (7 нед)	↓ 25	[16]
Фолликулостиму- лирующий гормон, ФСГ	20; 100; 200 (10 суток)	н.р	Hershberger assay [4]
	50; 100; 200; 400 (13 нед)	↑ 50-400	[15]
	6,25; 25; 100; 400 (7 нед)	↑ 6,25; — 400 (7)	[14]
Лютеинстимулирующий гормон, ЛГ	20;100;200 (10 суток)	н.р ↓ 200	Hershberger assay [4], [29]
	25 (7 нед)	н.р	[16]
	50; 100; 200; 400 (13 нед)	↑ 50-400	[15]
Пролактин	50; 100; 200 ; 400 (13 нед)	н.р	[15]
	25 (7 нед)	н.р	[16]
	50-100 (13 нед)	н.р	[13]
Адренотропный гормон, АКТГ	150; 300 ; 600 (15 нед)	н.р	[10]
Гормон роста	150; 300; 600 (15 нед)	н.р	[10]
Трийодотиронин, Т3	150; 300; 600 (15 нед)	↑ (300)	[10]
Тироксин, Т4	150; 300; 600 (15 нед)	н.р	[10]
Тиреостимулирующий гормон, ТСГ	150; 300; 600 (15 нед)	н.р	[10]
	50; 100; 200 400 (15 нед)	н.р	[15]

Изменений уровня гормонов гипофиза пролактина, тиреостимулирующего гормона, адренотропного гормона, гормона роста, а также гормона щитовидной железы - тироксина при воздействии Карбендазима на организм не обнаружено.

Механизм гонадотоксического действия Карбендазима у самцов изучен в ряде исследований [3,12,13,21].

Различная чувствительность тубулина цитоскелета грибов и млекопитающих к взаимодействию с бензимидазолами лежит в основе их использования человеком в качестве фунгицидов. Карбендазим обладает высоким

средством связывания с тубулином грибов, но низкой аффинностью связывания с тубулинами млекопитающих [11]. В концентрации 100 мкМ он не влиял на сборку тубулина и белков микротрубочек, выделенных из семенников и мозга крыс, тогда как другие известные ингибиторы этого процесса – колхицин и нокадазол оказывали сильный эффект в концентрациях 40 мкМ и 12,5 мкМ [24].

Влияние Карбендазима на цитоскелет может быть косвенно также оценено по индукции увеличения количества микроядер и диплоидных клеток. Показано, что эти эффекты в клетках семенников проявляются при воздей-

ствии Карбендазима в более низких дозах, чем в других тканях [26]. Одноразовое пероральное введение Карбендазима крысам Спрей Доули в дозах 0, 50, 100, 400 мг/кг вызывало увеличение микроядер в круглых сперматидях (начальный этап созревания) только в средней дозе [26]. С помощью иммуноцитохимических исследований авторы показали, что более чем 68 % микроядер сперматид животных, получавших дозу вещества 100 мг/кг, по сравнению с 30 % в контроле содержит кинетохоры. Поэтому они предположили, что вследствие токсического действия высокой дозы Карбендазима происходит элиминация сперматид с микроядрами. Повреждение сперматид приводит к образованию гигантских клеток с несколькими ядрами. Эффект Карбендазима в дозах 50-100 мг/кг наблюдается на всех стадиях сперматогенеза. Происходит некроз делящихся сперматоцитов на XIV стадии. В дальнейшем возникают все вышеописанные гистоморфологические изменения в тканях семенников – десквамация клеток сперматогенного эпителия и атрофия канальцев. NOEL для этого эффекта был ниже дозы 50 мг/кг. При изучении влияния Карбендазима, который ингибирует сборку микротрубочек, и его антагониста 2,5-гександиона, который, наоборот, ускоряет сборку микротрубочек, установлен синергизм токсического действия этих веществ на семенники крыс. Таким образом доказано, что в основе цитотоксического действия лежит нарушение целостности цитоскелета клеток Сертоли и их взаимоотношений со сперматогенными клетками, независимо от механизма с помощью которого они вызваны. Следствием такого нарушения является отторжение и некрозы этих клеток [28].

Клетки Сертоли располагаются в семявыносящих канальцах и являются их базовыми компонентами. Данные клетки активируются ФГ гипофиза и обеспечивают оптимальные условия для развития сперматозоидов, а после полового созревания они секретируют тканевые гормоны, регулирующие сперматогенез. In cellulo изучено влияние Карбендазима на пролиферацию клеток Сертоли и экспрессию в них белков цитоскелета – виментина,  $\alpha$ -тубулина и  $\beta$ -тубулина [23]. Снижение пролиферации клеток на 5 % обнаружено уже в концентрациях 0,1 и 1мкг/мл, однако статистически достоверный стойкий эффект – 31 и 34,87% наблюдался в более высоких концентрациях, а именно 10 и 100 мкг/мл. В этих концентрациях наблюдалось торможение экспрессии белков цитоскелета. Чувствительность к токсическому действию Карбендазима увеличивается по мере накопления на поверхности клеток Сертоли сперматогенных клеток, количество

которых нарастает с половым созреванием.

Интерстициальные клетки Лейдига также являются мишенью токсического действия Карбендазима [16, 21, 22]. Показано, что при воздействии Карбендазима в дозе 25 мг/кг, в течение 7 недель, на фоне снижения массы семенников и концентрации тестостерона в сыворотке крови у крыс-самцов Вистар, в клетках Лейдига происходит снижение активности ключевых ферментов биосинтеза половых гормонов таких как 3- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы и 17- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы, а также ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы, гамма-глутамилтранспептидазы, глюкоза-6-фосфатдегидрогеназы [16]. Значительно уменьшилось содержание в клетках Лейдига антиоксидантов - $\alpha$ -токоферола, аскорбиновой кислоты, восстановленного глутатиона,  $\beta$ -каротина. Эти изменения приводили к развитию окислительного стресса, о чем свидетельствует увеличение интенсивности перекисного окисления липидов и повышение концентрации активных форм кислорода. После отмены введения Карбендазима вышеупомянутые показатели были сходны с контрольной группой [16]. Таким образом, окислительный стресс, который развивается в результате воздействия Карбендазима, является одним из обратимых звеньев механизма его влияния на семенники. По данным гистоморфологических и биохимических исследований совместное введение различных антиоксидантов (экстракт солодки, витамин E) с Карбендазимом снижали его токсическое действие на семенники [21, 22].

Таким образом, другим ключевым событием в индукции Карбендазимом токсического эффекта в семенниках является развитие окислительного стресса и торможение стероидогенеза, что приводит к снижению синтеза тестостерона и эстрадиола.

Системного влияния Карбендазима через механизм блокирования сборки микротрубочек цитоскелета на органы эндокринной системы в исследованиях по изучению его токсического действия на организм не обнаружено. Между тем блокирование образования микротрубочек приводит к нарушению функционирования клеточных рецепторов и трансмембранных сигнальных систем клеток, а также мембраносвязанных ферментных систем [20,30].

В результате изучения влияния 55 пестицидов – потенциальных эндокринных деструкторов на активность ароматазы в клетках гранулезоклеточной опухоли человека, только беномил и его метаболит Карбендазим увеличива-

ли уровень экспрессии м-РНК этого фермента. Ароматаза относится к семейству цитохрома Р-450 (CYP19). Этот фермент является лимитирующим в реакциях превращения андрогенов в эстрогены и обеспечивает гомеостаз баланса между андрогенами и эстрогенами у обоих полов, в культуре клеток гранулезоклеточной опухоли яичника человека, линия KGN. Доказано, что выявленный эффект обусловлен блокированием сборки микротрубочек и изменением состояния цитоскелета и не реализуется через сАМР-зависимую сигнальную систему [20]. На основании данного теста Карбендазим авторы отнесли к потенциальным эндокринным деструкторам. Однако развитие этих исследований не последовало и дополнительной информации, позволяющей экстраполировать эти данные на организм человека, в литературе не найдено.

При изучении прямого взаимодействия Карбендазима с рецепторами эстрогенов hER $\alpha$ , hER $\beta$  и андрогенов hAR положительно эффекта в *in vitro* тесте Reporter Gene Assays на клетках яичника китайского хомячка не выявлено [17]. Результаты другой работы подтверждают это заключение [19]. Вместе с тем имеются данные, что Карбендазим индуцирует экспрессию генов и синтез андрогенных рецепторов в семенниках и в меньшей степени в простате и эпидидимисе крыс-самцов [14]. Статистически значимый эффект наблюдается в дозе 6,25 мг/кг. Антиандроген Флутамид при введении совместно с карбендазимом дозозависимо снижал данный эффект. По нашему мнению, такой эффект может быть индуцирован нарушением Карбендазимом функции семенников.

### Выводы

1. Карбендазим действует как эндокринный деструктор у крыс самцов, оказывая гонадотоксическое действие в дозах более 10 мг/кг массы тела.

2. Карбендазим по критерию «отделение крайней плоти» не влияет на половое созревание самцов, однако в дозе 75 мг/кг тормозит рост животных, снижает массу семенников, увеличивает массу гипофиза и надпочечников. Нарушение функции семенников приводит к активации гипофиза и надпочечников. Изменений со стороны других органов эндокринной системы не обнаружено.

3. Ключевым событием гонадотоксического эффекта является нарушение функции цитоскелета через механизм блокирования Карбендазимом сборки микротрубочек в клетках Сертоли и других клеток на всех стадиях сперматогенеза. Это приводит к снижению пролиферации, изменению их формы, экспрессии белков цитоскелета, нарушению межклеточной кооперации и авторегуляции их функций, следствием чего является десквамация, уменьшение рядности и атрофия сперматогенного эпителия. Изменяется активность ряда мембраносвязанных ферментов, в результате чего снижается синтез стероидов в клетках Лейдига и развивается окислительный стресс.

4. При изучении других механизмов нарушения Карбендазимом функции эндокринной системы установлено отсутствие прямого взаимодействия Карбендазима с рецепторами эстрогенов: hER $\alpha$ , hER $\beta$  и андрогенов- hAR. В культуре клеток гранулезоклеточной опухоли яичника человека, линия KGN, обнаружена индукция Карбендазимом активности ароматазы — фермента, который обеспечивает гомеостаз баланса между андрогенами и эстрогенами у обоих полов через механизм блокирования сборки микротрубочек. Показано, что Карбендазим активизирует экспрессию генов и синтез андрогенных рецепторов в семенниках и в меньшей степени в простате и придатках крыс-самцов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. IPCS. Environmental Health Criteria 149. Carbendazim.— WHO, 1993. — 132 p
2. Carbendazim (addendum) (JMPR evaluations 2005 Part II toxicological). Joint Meeting on Pesticide Residues: JMPR — 2005 — 20 p.
3. Rama E.M. Reproductive and possible hormonal effects of carbendazim / E.M.Rama, S. Bortolan, M.L.Vieira [et al.] // Regulatory Toxicology and Pharmacology — 2014. — №69(3). — P.476–86.
4. Song Yuan-chao, Yu Gong-chang, Wang Xiao-fen Effects of carbendazim on androgen levels in male rats // Journal of Toxicology — 2011 [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFD-TOTAL-WSDL201101007.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFD-TOTAL-WSDL201101007.htm)
5. U.S. Environmental Protection Agency. Endocrine Disruptor Screening Program, OCSPP Guideline 890.1500, Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile /Peripubertal Male Rats Assay, August 2011. — 19 p.
6. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe, 1986. — 51 p.
7. Guidelines for Histopathological Evaluation. Part 2: Male Reproductive System OECD — Электронный ресурс: [www.oecd.org/chemicalsafety/.../43754701.pdf](http://www.oecd.org/chemicalsafety/.../43754701.pdf)
8. Волкова О.В. Основы гистологии с гистохимической техникой / О.В. Волкова. — М.: «Медицина», 1982. — 304 с.
9. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Губенко, П.Н. Бабич — Киев: Морион, 2001. — 408 с.
10. Barlas N. Effects of carbendazim on rat thyroid, parathyroid, pituitary and adrenal glands and their hormones / N. Barlas, G. Selmanoglu, A. Kozkaya, S. Songür. // Hum Exp Toxicol. — 2002.— №21(4) — P. 217–221.

11. *Lim J.* Role of Testis Exposure Levels in the Insensitivity of Prepubertal Rats to Carbendazim-Induced Testicular Toxicity. *Fundam / J. Lim, M.G. Miller // Appl Toxicol.* –1997. – №37. – P.158–167.
12. Biochemical and Histopathological Effects of Carbendazim to Rat Male Reproduction/ N. Barlas, G. Selmanoglu, S. Songur [et al.]// *Pesticides* – 2002. – №17. – P. 59–71.
13. Serum and testicular testosterone and androgen binding protein profiles following subchronic treatment with carbendazim / G.L. Rehnberg, R.L. Cooper, J.M. Goldman [et al.]// *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1989. –№101 – P. 55–61
14. Carbendazim-Induced Androgen Receptor Expression Antagonized by Flutamide in Male Rats/ A-HUI HSU, CHI-UNG-WEI CHANG, MIN-CHEN CHEN [et al.]// *Journal of Food and Drug Analysis.* – 2011. – N 19, N 4 – P. 418–428
15. Effects of the Benomyl Metabolite, Carbendazim, on the Hypothalamic-Pituitary Reproductive Axis in the Male Rat / J.M. Goldman, G.L. Rehnberg, R.L. Cooper [et al.]// *Toxicology.* – 1989. – N57. –P. 173–182.
16. Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. // S. Rajeswary, B. Kumaran, R. Ilangoan [et al.]// *Reprod Toxicol.* – 2007. – Nov-Dec – N24(3-4):371–80. Epub 2007. – Apr 5.
17. Screening for Estrogen and Androgen Receptor Activities in 200 Pesticides by In Vitro Reporter Gene Assays Using Chinese Hamster Ovary Cells / Hiroyuki Kojima, Eiji Katsura, Shinji Takeuchi [et al.] // *Environmental Health Perspectives* . – 2004. – №112, 5. – P.524–531.
18. Antagonistic and Synergistic Effects of Carbendazim and Flutamide Exposures In Utero on Reproductive and Developmental Toxicity in Rats\ SHUI-YUAN LU , JIUNN-WANG LIAO, MIN-LIANG KUO [et al.] // *Journal of Food and Drug Analysis.* – V. 14. – №. 2. – 2006. – P. 120–132.
19. Functional genomics may allow accurate categorization of the benzimidazole fungicide benomyl: lack of ability to act via steroid-receptor-mediated mechanisms // T.Yamada, K.Sumida, K.Saito [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2005. – №205. – P. 11–30.
20. A Benzimidazole Fungicide, Benomyl, and Its Metabolite, Carbendazim, Induce Aromatase Activity in a Human Ovarian Granulosa-Like Tumor Cell Line (KGN)// H. Morinaga, T. Yanase, M. Nomura [et al.] // *Endocrinology.* – 2004. – №145. – P. 1860–1869.
21. *Sakr S.A.* Carbendazim-induced testicular damage and oxidative stress in albino rats: ameliorative effect of licorice aqueous extract / S.A. Sakr, S.Y. Shalaby // *Toxicol Ind Health.* –April, 2014. – №30(3). – P. 259–267.
22. Protective effect of vitamin E against carbendazim-induced testicular toxicity histopathological evidences and reduced residue levels in testis and serum/ S. Rajeswary, N. Mathew, M.A. Akbarsha [et al.]// *Arch Toxicol* – 2007. – N4;81(11). – P. 813–821.
23. Song Yuan Chao. Study on the Mechanism of the Carbendazim-induced Reproductive Toxicity in Male Rats. Abstract. – 2011. Электронный ресурс: www.dissertation-topic.net/doc/155382.
24. The role of GTP Binding and microtubule-associated proteins in the inhibition of microtubule assembly by carbendazim /Winder B.S. [et al.]// *Toxicol Sci.* – 2001 – №59. – P. 138–146.
25. Increased frequencies of diploid sperm detected by multicolour FISH after treatment of rats with carbendazim without micronucleus induction in peripheral blood erythrocytes/ J.M. De Stoppelaar, T. Van de Kuil, M. Bedaf [et al.]// *Mutagenesis.* – 1999. – N14. – P. 621–631
26. *Matsuo F.* The fungicide carbendazim induces meiotic micronuclei in the spermatids of the rat testis // F. Matsuo, M. Nakai, T. Nasu. *J. Vet. Med. Sci* –1999. – №61. – P. 573–576.
27. Acute and long-term effects of a single dose of the fungicide carbendazim (methyl 2-benzimidazole carbamate) on the male reproductive system in the rat / M. Nakai, R.A. Hess, B.J. Moore [et al.]// *J. Androl.* – №13. – P. 507–518.
28. *Markelewicz R.J. Jr.* 2,5-Hexanedione and Carbendazim Coexposure Synergistically Disrupts Rat Spermatogenesis Despite Opposing Molecular Effects on Microtubules / R.J.Jr.Markelewicz, S.J. Hall, K.Boekelheide // *Toxicol Sci.* – 2004 – №80. – P. 92–100.
29. Effects of subchronic exposure to carbendazim on spermatogenesis and fertility in male rats / G. Yu, Q. Guo, L. Xie [et al.] // *Toxicol Ind Health.* –2009. – N25(1). – P.41–47
30. *Manavathi B.* An inherent role of microtubule network in the action of nuclear receptor / B. Manavathi, F. Acconcia, S.K. Rayala, R. Kumar –PNAS. – 2006. – №103, 43. – P.15981–15986.
31. *Petrashenko L.P.* The Study of Fungicide Carbendazim Effect on Reproductive Function in Wistar Rats // L.P. Petrashenko, N.R. Shepelskaya, S.D. Sapoznikova// *Abstracts of EURO-TOX 2002.* – 15–18 September 2002. *Toxicology Letters.* –2002. –V.135, Suppl. 1. – P. 81.

#### ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ КАРБЕНДАЗИМУ НА ЕНДОКРИННУ СИСТЕМУ І ПУБЕРТАТНИЙ РОЗВИТОК САМЦІВ ЩУРІВ

Є. А. Баглий, Н.М.Недопитанська, В.С.Лісовська

**РЕЗЮМЕ. Мета.** Вивчити вплив Карбендазиму на ендокринну систему на моделі статевого дозрівання самців щурів Вістар і проаналізувати дані літератури для оцінки можливого механізму пошкодження її функцій.

**Матеріали та методи.** Експерименти виконані відповідно до Протоколу для скринінгу ендокринних дизрапторів за допомогою моделі статевого дозрівання молодих самців щурів (OPPTS 890.1500) на 45 щурах Wistar Han. Карбендазим (98%) вводився внутрішньошлунково в дозах 10 і 75 мг / кг маси тіла.

**Результати дослідження.** Встановлено, що Карбендазим за критерієм «відділення препуція» не впливає на статеве дозрівання самців, проте в дозі 75 мг/кг гальмує зростання маси тіла, знижує масу сім'яників, збільшує відносну масу гіпофіза та наднирників. Статистично достовірних змін маси інших андроген-залежних органів не встановлено. У гістологічних дослідженнях в сім'яниках виявлена десквамація та некроз гермінативних клітин, зменшення рясності та атрофія сперматогенного епітелію каналців, в епідидимісах — дегенеративно-дистрофічні зміни епітелію протоків, десквамація та некроз епітеліоцитів, дистрофія епітелію виносних каналців та відсутність сперматогенної субстанції. В групі контрольних тварин аналогічних змін не виявлено.

Відповідно до даних літератури, за статевого дозрівання і підвищення сперматогенезу гонадотоксичний ефект Карбендазиму збільшується — з'являються некрози і посилюється відторгнення сперматогенного епітелію.

**Висновок:** Карбендазим діє, як ендокринний деструктор у дозах більше 10 мг/кг маси тіла. В основі впливу карбендазиму на ендокринну систему самців лежить гонадотоксичний ефект.

За критерієм «відділення препуція» Карбендазим не впливає на статеве дозрівання щурів-самців, але в дозі 75 мг/кг гальмує ріст щурів-самців.

Ключові слова: Карбендазім, ендокринна система, модель статевого дозрівання молодих самців щурів (OPPTS 890.1500), механізм дії, ендокринний деструктор.

#### FEATURES OF CARBENDAZIM INFLUENCE ON THE ENDOCRINE SYSTEM AND PUBERTAL DEVELOPMENT OF MALE RATS

E. Bagley, N. Nedopitanska, V. Lisovska

**SUMMARY.** The purpose of this study is to determine the effects of Carbendazim on the endocrine system in Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/Peripubertal Male Rats Assay (OPPTS 890.1500), and review of published toxicological studies in the literature to assess the potential damage mechanism of its hormone function.

**Methods of Research.** The experiments were performed in accordance with the Protocol of the male pubertal assay (OPPTS 890.1500) Forty five healthy juvenile male rats Wistar Han were divided into three four groups: two exposure groups and a control group. Rats are exposed to the Carbendazim (98%) daily doses of 10 and 75 mg / kg by oral gavage from post-natal day (PND) 23 through PND 53. Possible hormonal effects of the Carbendazim were evaluated on through a review of published toxicological studies.

**Results.** Carbendazim has no effect on the pubertal of males by end point " Age preputial separation (PPS)", but at a dose of 75 mg / kg inhibits weight at PPS and growth. In this dose group Carbendazim decreased the weight of the testes and relative mass of the pituitary and adrenal glands was increased. Statistically significant changes in the mass of other androgen-dependent organs are not installed. Histopathological evaluation of the testes showed increased loss of germ cells and atrophy of seminiferous epithelium. In the epididymis was absence of sperm.

**Conclusion.** Carbendazim had no effect on sexual maturation of male rats. It acts as an endocrine disruptor at doses greater than 10 mg / kg body weight. The basis of the impact of carbendazim on the endocrine system of males is gonadotoxic effect.

Key words: Carbendazim, the endocrine system, Pubertal Male Rats Assay (OPPTS 890.1500), mechanism of action, an endocrine disruptor, rats Wistar Han.

Надійшла до редакції 26.06.2015 р.