
КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

SHORT COMMUNICATIONS

УДК 614.8:[615.9:661.744.224]

ВЛИЯНИЕ ДИИЗОННИЛФТАЛАТА НА ЭНДОКРИННУЮ СИСТЕМУ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ КРЫС

В. А. ГРЫНЧАК¹⁾

¹⁾Научно-практический центр гигиены, ул. Академическая, 8, 220012, г. Минск, Беларусь

Изучено состояние эндокринной системы самцов потомства белых крыс, подвергнутых воздействию нового пластификатора диизонилфталата в период беременности. Дозы 100 и 1000 мг/кг характеризовались достоверным повышением уровня общего тироксина в 2,3 и 2,0 раза, тиреотропного гормона – в 2,3 и 2,1 раза, снижением концентрации тестостерона в 2,9 и 2,3 раза соответственно. Установленные изменения гормонального профиля у самцов потомства свидетельствуют о развитии тиреотоксикоза и первичной тестикулярной недостаточности с вовлечением в патологический процесс гипофиза и (или) гипоталамуса. В эксперименте установлена максимальная недействующая доза 10 мг/кг диизонилфталата, применение которой у беременных самок не оказывало влияния на гормональный статус потомства в постнатальном периоде развития.

Ключевые слова: диизонилфталат; эндокринная система; гормоны; постнатальное развитие; лабораторные животные.

EFFECT OF DIISONONYL PHTHALATE ON THE ENDOCRINE SYSTEM OF GENERATION OF WHITE RATS

V. A. HRYNCHAK^a

^aScientific Practical Centre of Hygiene, 8 Akademičnaja Street, Minsk 220012, Belarus

We studied the state of the endocrine system of males of the offspring of white rats subjected to the action of the new plasticizer diisononyl phthalate during pregnancy. The effect of doses of 100 and 1000 mg/kg was characterized by a staggering increase in total thyroxine levels by 2.3 and 2.0 times, thyroid stimulating hormone by 2.3 and 2.1 times, a decrease

Образец цитирования:

Грынчак ВА. Влияние диизонилфталата на эндокринную систему потомства белых крыс. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология.* 2018;3:79–84.

For citation:

Hrynchak VA. Effect of diisononyl phthalate on the endocrine system of generation of white rats. *Journal of the Belarusian State University. Biology.* 2018;3:79–84. Russian.

Автор:

Виталий Александрович Грынчак – младший научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии.

Author:

Vitali A. Hrynchak, junior researcher of the laboratory of preventive and ecological toxicology.
grinchakva@gmail.com
ORCID: 0000-0002-4119-1793

in testosterone concentration of 2.9 and 2.3 times, respectively. The established changes in the hormonal profile indicate the development of thyrotoxicosis and primary testicular insufficiency in male descendants involving the pathological process of the pituitary and (or) hypothalamus. In the experiment, the most inactive dose was 10 mg/kg of diisononyl phthalate, the effect of which on pregnant females had no effect on the hormonal status of offspring in the postnatal period of development.

Key words: diisononyl phthalate; DINP; phthalate; reproductive toxicity; hormones; testosterone.

Введение

В настоящее время широкое применение для производства изделий на полимерной основе находит новое соединение – диизононилфталат (ДИНФ), химические свойства которого позволяют отказаться от существующих пластификаторов – дибутилфталата и диоктилфталата.

По данным Всемирной организации здравоохранения, фталаты оказывают негативное воздействие на эндокринную и нервную системы, обладают способностью индуцировать ряд отдаленных эффектов, включая канцерогенные [1]. Соединения с такими свойствами присутствуют в составе упаковки для пищевых продуктов, в бытовой технике, изделиях медицинского назначения, игрушках для детей и т. д.

Токсичность фталатов для человека и среды его обитания в целом изучена хорошо. Законодательно установлены допустимые уровни миграции в водную и воздушную среды диметилфталата, диэтилфталата, диметилтерефталата, диоктилфталата и дибутилфталата [2]. В то же время отсутствуют требования гигиенической безопасности к продукции, содержащей ДИНФ, что не дает оснований считать ее надежной для потребителя.

Чтобы обеспечить безопасное обращение изделий на полимерной основе, следует провести токсиколого-гигиеническую оценку с обоснованием гигиенического регламентирования ДИНФ. Анализ литературы показывает, что сведения о биологических свойствах данного соединения представлены эпизодично, практически отсутствуют данные об уровне его токсичности и опасности, не выявлены закономерности токсикодинамики, нет описаний механизмов негативного действия [1]. Поэтому необходимо установить лимитирующие показатели вредности и допустимые уровни миграции ДИНФ из полимерной продукции.

Одним из компонентов оценки риска воздействия вредного химического фактора на здоровье человека является идентификация опасности репродуктивной токсичности в опытах на целостном организме теплокровных животных [3; 4]. На первоначальном этапе изучения репродуктивной токсичности нами показано, что внутрижелудочное введение ДИНФ самкам на протяжении периода беременности характеризуется увеличением общей постимплантационной, эмбриональной и постнатальной смертности, а также инициирует формирование внешних и внутренних пороков (в том числе и сочетанных) развития эмбрионов, таких как микрофтальмия, анэнцефалия, гидроцефалия, акрания, микрогнатия, гипоплазия легкого, отсутствие межжелудочковой перегородки, эвентрация кишечника и (или) печени [5].

Для выявления механизмов вредного действия нового пластификатора требуется изучить состояние эндокринной системы (гормонального статуса) потомства белых крыс, подвергнутых затравке ДИНФ в период беременности, что и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы исследования

Объект исследования ДИНФ – сложный эфир фталевой кислоты, представляющий собой прозрачную бесцветную маслянистую жидкость, без запаха, практически нерастворимую в воде; регистрационный номер CAS: 28553-12-0, эмпирическая формула $C_{26}H_{42}O_4$, молекулярный вес 418,62 г/моль, плотность 0,97 г/см³.

Эксперимент проводили на 50 рандомбредных половозрелых крысах-самках с массой тела 160–180 г. При постановке исследования обращали внимание на полноценность пищевого рациона и тщательность ухода за животными, так как каждый из этих факторов сам по себе может оказать влияние на состояние эмбрионального и постнатального развития потомства.

При отборе крыс-самок руководствовались наличием у них нормального эстрального цикла, включающего все 4 стадии общей продолжительностью 4–6 дней и характеризующегося ритмичностью. При наличии фазы эструса проводили спаривание самок с самцами (в вечернее время). Самок подсаживали к одной и той же группе самцов в соотношении 2 : 1 [6].

Первый день беременности устанавливали на основании обнаружения сперматозоидов в вагинальном мазке нормально циклирующих самок. Схема эксперимента предусматривала многократное внутрижелудочное введение ДИНФ на протяжении 20 дней беременности самкам крыс, распределенным по

10 особей в 5 подопытных группах. Группе I (контрольная) вводили дистиллированную воду в объеме 2 мл, опытные группы получали ДИНФ в дозах: II – 10 мг/кг массы тела, III – 100 мг/кг, IV – 1000 мг/кг, V – 10 000 мг/кг.

Самки в каждой группе на 22-й день беременности приносили помет. По достижении потомством трехмесячного возраста самцов умерщвляли методом мгновенной декапитации. Для характеристики функционального состояния организма подопытных животных определяли уровни гормонов в сыворотке крови самцов потомства – тиреотропного гормона, общего тироксина, свободного тироксина, свободного трийодтиронина, тиреоглобулина, кортизола, дегидроэпиандростерона-сульфата, 17-ОН-прогестерона, прогестерона, тестостерона, эстрадиола, лютеотропного и фолликулостимулирующего гормонов. Изучение проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением наборов фирмы ХЕМА (Россия) на автоматическом фотометре для микропланшетов ELX808 BioTek Instruments Inc. (США).

Обращение с животными соответствовало международным требованиям [7].

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми статистическими методами. При оценке различий между группами использовали параметрический *t*-критерий Стьюдента. Количественные параметры представлены в виде среднего значения *M* и 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На протяжении эксперимента регистрировали случаи гибели крысят в группе V, а к окончанию опыта уровень постнатальной смертности потомства самок белых крыс, получавших ДИНФ в дозе 10 000 мг/кг, превысил контрольный на 22,7 % ($p < 0,05$) [5] – в связи с этим изучение гормонального статуса животных данной группы не проводили.

Воздействие ДИНФ в дозах 100 и 1000 мг/кг на протяжении беременности белых крыс вызывало у самцов их потомства достоверное повышение уровней общего тироксина в 2,3 и 2,0 раза, тиреотропного гормона – в 2,3 и 2,1 раза, снижение концентрации тестостерона – в 2,9 и 2,3 раза (соответственно группы III и IV) по сравнению с контролем. В диапазоне изученных доз ДИНФ не оказывал влияния на уровни свободного трийодтиронина и свободного тироксина, кортизола, дегидроэпиандростерона-сульфата, 17-ОН-прогестерона, прогестерона, эстрадиола, лютеотропного и фолликулостимулирующего гормонов, тиреоглобулина у животных в постнатальном периоде. Доза 10 мг/кг ДИНФ не приводила к сдвигам гормонального статуса самцов потомства группы II и в условиях данного эксперимента является максимальной недействующей (см. таблицу).

**Показатели гормонального статуса потомства (самцов) крыс
при внутрижелудочном введении ДИНФ беременным самкам, *M* (95 % ДИ)**

**Indicators of the hormonal status of the offspring (males)
of rats with intragastric injection of DINP to pregnant females, *M* (95 % CI)**

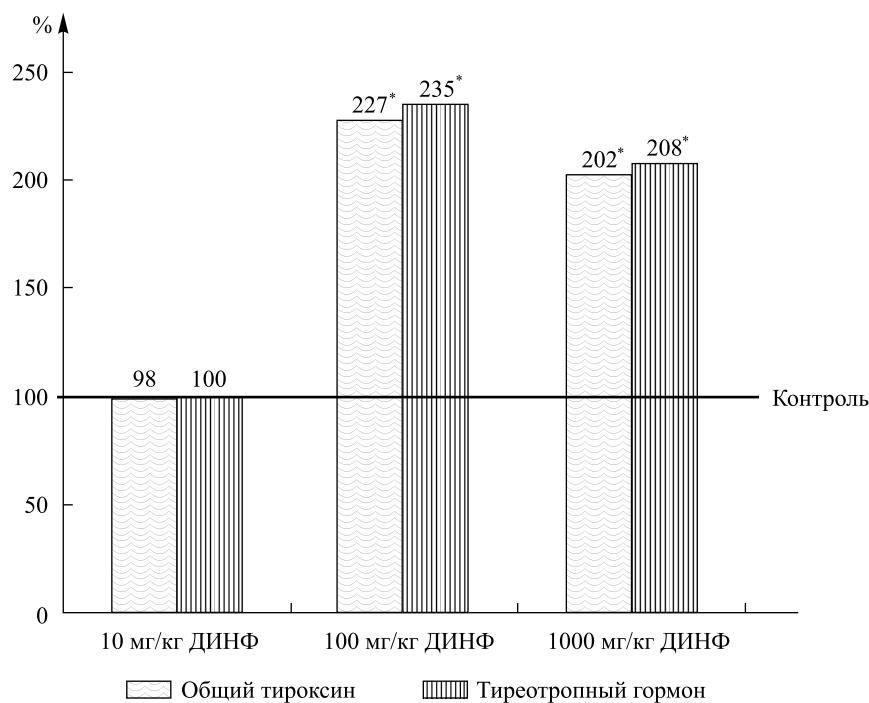
Показатели	Группа сравнения, уровень воздействия ДИНФ			
	I, контроль	II, 10 мг/кг	III, 100 мг/кг	IV, 1000 мг/кг
Свободный трийодтиронин, пмоль/л	6,69 (6,02–7,36)	6,44 (5,80–7,07)	6,43 (6,12–6,73)	6,20 (5,66–6,74)
Свободный тироксин, пмоль/л	13,8 (10,3–17,3)	13,8 (9,5–18,2)	20,1 (11,1–29,1)	12,2 (8,2–16,2)
Общий тироксин, нмоль/л	24,9 (10,2–39,6)	24,4 (13,7–35,0)	56,5 (40,3–72,7)*	50,3 (28,3–72,2)*
Тиреотропный гормон, мМЕ/л	1,06 (0,82–1,29)	1,06 (0,91–1,22)	2,49 (0,94–4,04)*	2,20 (0,99–3,41)*
Тиреоглобулин, нг/мл	57,3 (31,1–83,4)	67,3 (26,2–108,3)	71,8 (31,8–111,7)	82,4 (27,6–137,1)
Кортизол, нмоль/л	32,9 (18,5–47,3)	30,4 (17,5–43,2)	23,7 (9,2–38,1)	27,5 (10,4–44,6)
Дегидроэпиандростерон-сульфат, мкг/мл	0,040 (0,026–0,063)	0,036 (0,027–0,046)	0,029 (0,020–0,038)	0,029 (0,021–0,038)

Окончание таблицы
Ending table

Показатели	Группа сравнения, уровень воздействия ДИНФ			
	I, контроль	II, 10 мг/кг	III, 100 мг/кг	IV, 1000 мг/кг
17-ОН-прогестерон, нмоль/л	0,48 (0,22–0,73)	0,53 (0,29–0,76)	0,28 (0,06–0,49)	0,46 (0,28–0,65)
Прогестерон, нмоль/л	25,4 (18,1–32,7)	18,4 (11,6–25,2)	23,3 (14,6–32,0)	19,1 (12,9–25,3)
Тестостерон, нмоль/л	23,3 (16,5–30,1)	22,3 (16,7–27,8)	7,9 (3,6–12,2)*	10,2 (5,9–14,4)*
Эстрадиол, нмоль/л	0,22 (0,20–0,24)	0,22 (0,20–0,24)	0,22 (0,17–0,26)	0,23 (0,20–0,26)
Лютеотропный гормон, МЕ/л	0,16 (0,04–0,28)	0,19 (0,09–0,28)	0,26 (0,07–0,45)	0,31 (0,05–0,58)
Фолликулостимулирующий гормон, МЕ/л	0,45 (0,04–0,86)	0,38 (0,08–0,67)	0,65 (0,18–1,12)	0,84 (0,30–1,38)

*Различия статистически достоверны, $p < 0,05$.

Как следует из приведенных данных, у животных в постнатальном периоде развития изучаемый фталат вызывает гиперфункцию щитовидной железы вторичного характера с локализацией патологического процесса в звене управления: гипофизе и (или) гипоталамусе. На это прежде всего указывает увеличение уровня тиреотропного гормона на 135 и 108 % с одновременным повышением количества общего тироксина на 127 и 102 % для доз 100 и 1000 мг/кг ДИНФ соответственно (рис. 1). Эти гормональные сдвиги свидетельствуют о развитии тиреотоксикоза [8], вызванного повреждающим действием ДИНФ в период эмбриогенеза.



*Различия статистически достоверны, $p < 0,05$.

Рис. 1. Уровень общего тироксина и тиреотропного гормона в сыворотке крови у потомства (самцов) белых крыс при внутрижелудочном введении ДИНФ беременным самкам

Fig. 1. Level of total thyroxine and thyroid-stimulating hormone in blood serum in offspring (males) of white rats with intragastric injection of DNP to pregnant females

Важной особенностью токсического действия ДИНФ является его антиандрогенная активность, которая проявляется у самцов потомства снижением уровня тестостерона на 66 и 56 % при воздействии доз 100 и 1000 мг/кг соответственно. С учетом тенденции к увеличению продукции гонадотропинов (лютеотропного и фолликулостимулирующего гормонов) при воздействии указанных доз ДИНФ (рис. 2) такие нарушения в системе гипоталамус – гипофиз – половые железы указывают на наличие первичной тестикулярной недостаточности [8].

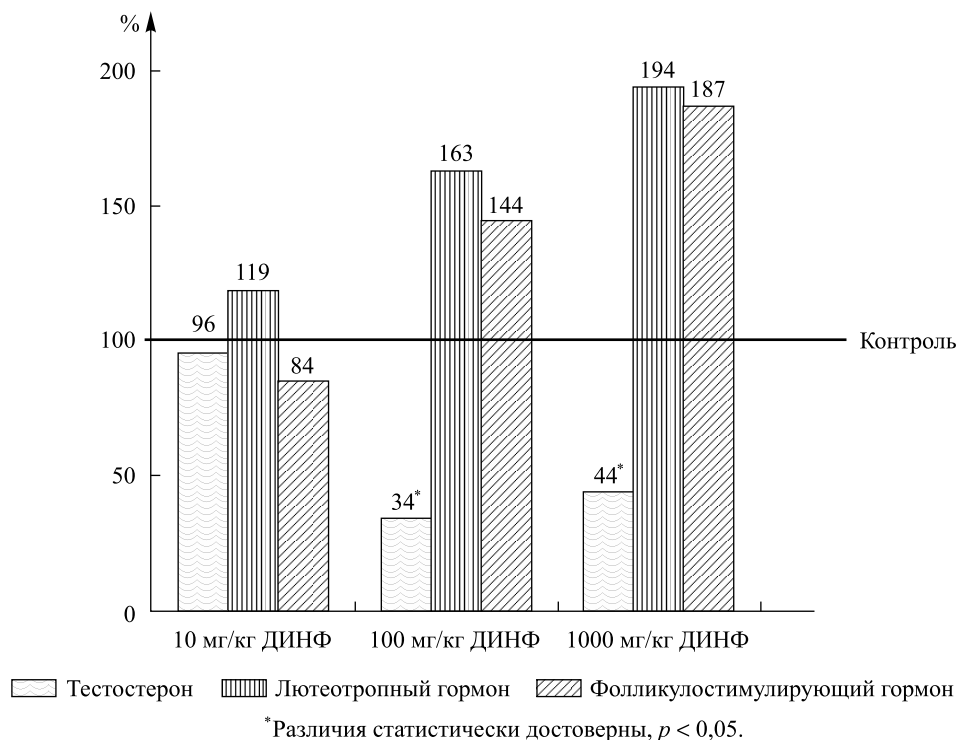


Рис. 2. Уровень тестостерона, лютеотропного и фолликулостимулирующего гормонов в сыворотке крови у потомства (самцов) белых крыс при внутрижелудочном введении ДИНФ беременным самкам

Fig. 2. Level of testosterone, luteotropic and follicle-stimulating hormones in blood serum in offspring (males) of white rats with intragastric injection of DINP to pregnant females

Таким образом, изучение гормонального статуса потомства белых крыс выявило сдвиги постнатального развития, вызываемые воздействием ДИНФ в период беременности, которые проявляются нарушением функции эндокринной системы: щитовидной и половых желез, затрагивая систему обратной регуляции головной мозг – эндокринная железа. Изменение функционирования структур головного мозга у потомства может быть связано с наличием тератогенных эффектов изучаемого соединения – анэнцефалией, гидроцефалией, акранией, зарегистрированных в период эмбриогенеза [5].

Заключение

На этапе изучения репродуктивной токсичности нового пластификатора ДИНФ получены сведения, подтверждающие его способность оказывать неблагоприятное влияние на эндокринную систему потомства белых крыс, подвергавшихся воздействию данного вещества в период беременности. Изменения гормонального профиля свидетельствуют о развитии тиреотоксикоза и первичной тестикулярной недостаточности у самцов потомства с вовлечением в патологический процесс гипофиза и (или) гипоталамуса. В эксперименте установлена максимальная недействующая доза 10 мг/кг ДИНФ, воздействие которой на беременных самок не оказывало влияния на гормональный статус потомства в постнатальном периоде развития.

Библиографические ссылки

1. Грынчак ВА, Сычик СИ. Актуальные проблемы безопасного обращения диизонил фталата. *Труды Белорусского государственного университета. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем.* 2016; 11(2):36–46.
2. Требования к изделиям медицинского назначения и медицинской технике. В: *Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю): утверждены решением Комиссии Таможенного союза от 28 мая 2010 г. № 299.* Глава II, раздел 18. С. 1141–1259.

3. Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values for Health-based Exposure limits. *World Health Organization. IPCS Environmental Health Criteria 170* [Internet]. [Cited 2018 January 4];1994:75. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/40675>.

4. *Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment*. United States Environmental Protection Agency; September 1996. p. 163.

5. Грынчак ВА, Сычик СИ, Власенко ЕК, Ильюкова ИИ, Рябцева СН. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия диизононилфталата. *Токсикологический вестник*. 2017;5:22–27.

6. Белецкая ЭН, Онул НМ. Влияние цинка на репродуктивную функцию экспериментальных животных. *Микроэлементы в медицине*. 2014;15(2):22–28.

7. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington: National academies press; 1996. 128 p.

8. Камышников ВС. *Лабораторная диагностика внутренних и хирургических болезней*. Минск: Адукацыя і выхаванне; 2012.

References

1. Hrynchak VA, Sychik SI. [Actual problems of safe handling of diisononyl phthalate]. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i molekulyarnye osnovy funkcionirovaniya biosistem* [Proceedings of the Belarusian State University. Physiological, biochemical and molecular basis of functioning of biosystems]. 2016;11(2):36–46. Russian.

2. [Requirements for medical devices and medical equipment: approved]. In: *Edinye sanitarno-epidemiologicheskie i gigienicheskie trebovaniya k tovaram, podlezhashchim sanitarno-epidemiologicheskemu nadzoru (kontrolyu): utverzhdeny resheniem Komisii Tamozhennogo soyuza ot 28 maya 2010 g. № 299* [Uniform sanitary and epidemiological and hygienic requirements for goods subject to sanitary and epidemiological surveillance (control): approved by the Decision of the Commission of the Customs Union of 28 May 2010 No. 299]. Chapter II, section 18. p. 1141–1259. Russian.

3. Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values for Health-based Exposure limits. *World Health Organization. IPCS Environmental Health Criteria 170* [Internet]. [Cited 2018 January 4];1994:75. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/40675>.

4. *Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment*. United States Environmental Protection Agency; September 1996. p. 163.

5. Hrynchak VA, Sychik SI, Vlasenko EK, Ilyukova II, Ryabtseva SN. Study of embryotoxic and teratogenic action of diisononyl phthalate. *Toxicological Review*. 2017;5:22–27. Russian.

6. Beletskaya EN, Onul NM. Zinc influence on reproductive function of experimental animals. *Trace elements in medicine*. 2014;15(2):22–28. Russian.

7. *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington: National academies press; 1996. 128 p.

8. Камышников ВС. *Лабораторная диагностика внутренних и хирургических болезней* [Laboratory diagnostics of internal and surgical diseases]. Минск: Адукацыя і выхаванне; 2012. Russian.

Статья поступила в редакцию 29.03.2018.

Received by editorial board 29.03.2018.