

Читать
онлайнRead
online

Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г., Мирошникова Д.И., Беляева Н.Н., Вострикова М.В.

Актуальные проблемы гигиены и токсикологии пестицидов на основе глифосата

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Мытищи, Россия

Введение. В течение нескольких десятилетий глифосат является одним из наиболее широко используемых в мире гербицидов, но вопрос о безопасности глифосата и его коммерческих составов до сих пор остаётся спорным.

Материалы и методы. Установлены параметры острой пероральной и дермальной токсичности глифосата для крыс. Изучено раздражающее действие на кожу и слизистые оболочки глаз (крысы, кролики), сенсибилизирующее действие на морских свинках. С целью установления степени повреждающего действия на организм при длительном введении проводилось изучение хронического действия глифосата кислоты. О токсическом действии судили по изменению интегральных, гематологических, биохимических и физиологических показателей. Через 12 мес от начала эксперимента проводили патоморфологические исследования животных всех групп.

Результаты. По результатам выполненных исследований установлены параметры токсичности и класс опасности согласно гигиенической классификации пестицидов и агрохимикатов (МР 1.2.0235–21 от 15.02.2021 г.) глифосата кислоты при воздействии на организм теплокровных животных.

Ограничения исследования. При установлении параметров токсикометрии глифосата кислоты внутригрупповое количество крыс составляло в зависимости от решаемых задач 6–8 особей, что представляет собой достаточную референтную выборку.

Заключение. На основании исследований, выполненных на лабораторных животных, подтверждено, что NOEL глифосата составляет 100 мг/кг массы тела, что соответствует 2000 мг/кг корма (ppm). Изложенное свидетельствует, что доза 2000 ppm намного превышает величины МДУ глифосата в сое на уровне 20 ppm (в 100 раз) и 0,15 ppm (более чем в 13 000 раз). Таким образом, можно сделать заключение о том, что максимально допустимый уровень глифосата в сое 20 мг/кг не оказывает вредного воздействия и не представляет реального риска для населения.

Ключевые слова: токсикологические исследования; глифосата кислота; соевая диета

Соблюдение этических стандартов. Заключение Этического комитета ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора № 11 от 26.09.2022 г.

Для цитирования: Ракитский В.Н., Чхвиркия Е.Г., Мирошникова Д.И., Беляева Н.Н., Вострикова М.В. Актуальные проблемы гигиены и токсикологии пестицидов на основе глифосата. *Гигиена и санитария*. 2022; 101(10): 1233–1239. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-10-1233-1239> <https://elibrary.ru/grcmea>

Для корреспонденции: Мирошникова Дарья Игоревна, канд. мед. наук, науч. сотр. отд. здорового и безопасного питания ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи. E-mail: miroshnikovadi@ferisman.ru
Вострикова Марина Валерьевна, мл. науч. сотр. отд. токсикологии и гигиены окружающей среды ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи. E-mail: vostrikovamv@ferisman.ru

Участие авторов: Ракитский В.Н. — концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи; Чхвиркия Е.Г. — концепция исследования, обсуждение статьи; Мирошникова Д.И. — концепция исследования, проведение эксперимента, подготовка материала, обзор литературы, статистический анализ, написание текста; Беляева Н.Н. — выбор показателей, стереометрическое и морфометрическое определение показателей, статистический анализ, написание и обсуждение статьи; Вострикова М.В. — подготовка материала, определение части показателей с их стереометрической и морфометрической оценкой, написание статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Поступила: 08.09.2022 / Принята к печати: 03.10.2022 / Опубликована: 23.10.2022

Valerii N. Rakitskiy, Elena G. Chkhvirkia, Darya I. Miroshnikova, Natalya N. Belyaeva,
Marina V. Vostrikova

Actual problems of hygiene and toxicology of pesticides based on glyphosate

Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation

Introduction. For several decades, glyphosate has been one of the most widely used herbicides in the world, but the safety of glyphosate and its commercial formulations is still controversial.

Materials and methods. The parameters of acute oral and dermal toxicity of glyphosate in rats have been established. An irritant effect on the skin and mucous membranes of the eyes (rats, rabbits), a sensitizing effect on guinea pigs were studied. To establish the degree of damaging effect on the body during its long-term administration, there was made a study of the chronic effect of glyphosate acid and specially prepared soybeans at doses of 0, 0.15, 20, 200, 2000 and 20,000 ppm. The toxic effect was judged by changes in integral, hematological, biochemical and physiological parameters. After 12 months from the beginning of the experiment, pathomorphological studies of animals of all groups were performed. There was performed a complete necropsy of the bodies of rats.

Results. Based on the results of the studies, the parameters of toxicity and hazard class were established, according to the hygienic classification of pesticides and agrochemicals (MP 1.2.0235–21 dated February 15, 2021) of glyphosate acid when exposed to the body of warm-blooded animals.

Limitations. When setting the parameters of glyphosate acid toxicometry, the intragroup number of rats was 6–8 animals, depending on the tasks being solved, which is a sufficient reference sample.

Conclusion. Based on studies performed on laboratory animals, the maximum inactive level (NOEL) of glyphosate is confirmed to be 100 mg/kg body weight, which corresponds to 2000 mg/kg feed (ppm). The foregoing indicates that the dose of 2000 ppm is much higher than the MRLs of glyphosate in soy

at the level of 20 ppm (100 times) and 0.15 ppm (more than 13,000 times). Thus, it can be concluded that the maximum allowable level of glyphosate in soy of 20.0 mg/kg does not have a harmful effect and does not represent a real risk to the population.

Keywords: toxicology researches; glyphosate acid; soy diet

Compliance with ethical standards. Conclusion of the Ethics Committee of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation, No. 11 dated September 26, 2022.

For citation: Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G., Miroshnikova D.I., Belyaeva N.N., Vostrikova M.V. Actual problems of hygiene and toxicology of pesticides based on glyphosate. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2022; 101(10): 1233-1239. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2022-101-10-1233-1239> <https://elibrary.ru/rpcmea> (In Russian)

For correspondence: *Daria I. Miroshnikova*, MD, PhD, researcher of the Department of Healthy and safe nutrition, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation. E-mail: miroshnikovadi@ferisman.ru
Marina V. Vostrikova, MD, junior researcher of the Department of Toxicology and Environmental Hygiene of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation. E-mail: vostrikovamv@ferisman.ru

Information about authors:

Rakitskiy V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9959-6507> Chkhvirkiya E.G., <https://orcid.org/0000-0003-4543-7364>
Miroshnikova D.I., <https://orcid.org/0000-0001-5648-6669> Belyaeva N.N., <https://orcid.org/0000-0003-2504-9815>
Vostrikova M.V., <https://orcid.org/0000-0003-4090-5202>

Contribution: *Rakitskiy V.N.* – research concept, research design, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article; *Chkhvirkiya E.G.* – the concept of the study, discussion of the article; *Miroshnikova D.I.* – research concept, experiment, material preparation, literature review, statistical analysis, article writing; *Belyaeva N.N.* – selection of indicators, stereometric and morphometric determination of indicators, statistical analysis, writing and discussion of the article; *Vostrikova M.V.* – preparation of material, determination of some indicators with their stereometric and morphometric assessment, writing an article. *All authors* are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: September 8, 2022 / Accepted: October 3, 2022 / Published: October 23, 2022

Введение

В течение последних десятилетий глифосат является одним из наиболее широко используемых в мире гербицидов [1–5], но вопрос о безопасности глифосата и его коммерческих составов до сих пор остаётся спорным. Пестициды на основе глифосата применяются для уничтожения однолетних и двухлетних однолетних и многолетних сорняков в сельском и лесном хозяйстве, на землях сельскохозяйственного назначения. Воздействие глифосата на здоровье человека изучали государственные агентства (EPA, 1993, 2002), компании, продающие глифосат [1–5] и независимые эксперты [6–8]. Эти исследования содержат противоречивые мнения относительно отдалённых эффектов глифосата и его коммерческих составов.

В марте 2015 г. Международное агентство по изучению рака (МАИР) Всемирной организации здравоохранения отнесло глифосат к классу 2A как вероятный канцероген для человека. В ноябре 2017 г. Комиссия по канцерогенным факторам Министерства здравоохранения Российской Федерации присвоила глифосату класс 2C. Несмотря на это, до сих пор ведутся споры о возможном канцерогенном действии глифосата. Остаются открытыми многие вопросы, касающиеся сохранения глифосата в объектах окружающей среды, поступления в организм человека и животных, отдалённых последствий его действия, что является важным основанием для проведения дополнительных исследований.

Цель исследования – токсикологическая оценка воздействия глифосата в сое на лабораторных животных в условиях хронического эксперимента.

Обеспечение надлежащего качества исследований регулировалось соблюдением нормативных внутренних документов: стандартных операционных процедур (СОП). При выполнении настоящей исследовательской работы¹ метрологическое обеспечение² подтверждено наличием свидетельств о поверке или аттестации оборудования³, исполь-

¹ Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека: Руководство. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. 639 с.

² Об обеспечении единства измерений (с изменениями от 13 июля 2015 г.): Федеральный закон от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ. URL: <https://docs.cntd.ru/document/902107146>

³ Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий / ГОСТ ISO/IEC 17025. М.: Стандартинформ, 2019. 32 с.

зуемого в исследованиях, проведением регулярного технического обслуживания и проверок (контроля), калибровок приборов, обеспечением должных параметров микроклимата в помещениях^{4,5}.

Материалы и методы

Определение параметров острой пероральной и дермальной токсичности. Для моделирования острого отравления и определения среднесмертельной дозы животным однократно через внутрижелудочный зонд вводили раствор глифосата кислоты, проводили наблюдения за состоянием и поведением животных в течение двух недель, фиксировали сроки их гибели. Испытывали дозу 5000 мг/кг м. т.

Для установления параметров острой дермальной токсичности на кожу крыс (по 6 животных в группе) глифосата кислоту наносили на выстриженный участок бока в дозе 2000 мг/кг массы тела.

Изучение раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки. Местнораздражающее действие изучалось при однократном нанесении на кожу кроликам (3 животных) 85%-го раствора глифосата в количестве 0,5 мл при экспозиции 4 ч с последующим смытием. При оценке раздражающего действия на кожу фиксировали характер изменений кожи на месте аппликации, утолщение кожной складки. В конъюнктивальный мешок правого глаза кроликов (3 животных) вносили глифосата кислоту в нативном виде в количестве 50 мг, для оценки раздражающего действия на слизистую оболочку глаза левый глаз служил контролем. Период наблюдения составлял 14 дней.

Изучение сенсibilизирующего действия глифосата кислоты. Исследование сенсibilизирующего действия препарата проводили на морских свинках белой масти методом внутрикожной сенсibilизации. Подопытным животным однократно вводили 200 мкг вещества в кожу внешней поверхности ушной раковины с последующим (через 10 дней) эпукутаным нанесением вещества в разведениях, не оказывающих раздражающего действия, и тестированием на противоположном боку животных после 7 накожных

⁴ Менеджмент организации. Системы менеджмента измерений. Требования к процессам измерений и измерительному оборудованию. ГОСТ Р ИСО 100012–2008. М.: Стандартинформ, 2009. 25 с.

⁵ Аттестация испытательного оборудования. ГОСТ Р 8.568–2017. М.: ГОССТАНДАРТ России. 15 с.

аппликаций (провокационная проба). Для получения адекватных результатов тестирования используются максимальные концентрации вещества, не оказывающие раздражающего эффекта при однократном нанесении у интактных животных. В качестве разрешающей дозы используются эпикутанные, конъюнктивальные и внутрикожные пробы. Оценку кожной реакции проводили через 24 и 48 ч после эпикутанной пробы. С целью выбора концентрации при постановке кожных тестов определяли порог первичного раздражающего действия вещества, для чего интактным морским свинкам наносили на кожу бока различные концентрации: в виде нативного препарата, 10%-го и 50%-го растворов в течение 7 дней. Концентрация, не вызывающая признаков раздражения, была использована в качестве разрешающей и тестирующей.

Для оценки иммунологической реактивности в крови морских свинок через 48 ч после провокационной пробы проводили определение такого информативного показателя, как реакция специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ), подсчитывали состав лейкоцитарной формулы крови.

Показатель РСЛЛ рассчитали на основе относительного процента лизиса по формуле:

$$\text{РСЛЛ} = \frac{L_{\text{контроль}} - L_{\text{опыт}}}{L_{\text{контроль}}} \cdot 100,$$

где L – абсолютное количество лейкоцитов.

Реакция расценивалась как положительная при показателе 10% и выше.

Специфический лизис лейкоцитов наступает при действии очень небольшого количества аллергена. Его оценка основана на учёте количественного изменения сенсibilизированных клеток, связанного с включением компонента в формирование иммунного комплекса, происходящего на поверхности клеток и приводящего к их повреждению и лизису.

Изучение хронического действия глифосата кислоты на теплокровных животных при потреблении с соей. С целью установления степени повреждающего действия глифосата на организм при длительном введении проводилось изучение хронического действия глифосата кислоты и специально подготовленной сои (термически обработанной для дезактивации ингибитора трипсина) [9] в дозах 0; 0,15; 20; 200; 2000 и 20 000 ppm (опытные группы I, II, III, IV, V). Для сравнения были выделены две группы контроля: 1к – на стандартной диете, 2к – с добавлением сои. О токсическом действии судили по изменению интегральных, гематологических, биохимических и физиологических показателей в течение 12 мес.

В цельной крови животных регистрировались следующие гематологические показатели: концентрация эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарная формула.

Изучены следующие биохимические показатели: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), общий белок, альбумин, мочевая кислота, глюкоза, мочевины, триглицериды, холестерин, амилаза, холинэстераза, креатинин, хлориды.

Проведены исследования по определению активности ферментативных показателей системы антиоксидантной защиты организма: супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, каталазы.

Проведена оценка суммационно-порогового показателя (СПП, в вольтгах), а также показателей поведенческих реакций (общая активность, длина пути, время отдыха, норковый рефлекс, ориентировочная реакция).

Животные и условия их содержания. Объектом исследования явились двухмесячные конвенциональные половозрелые крысы-самцы в количестве 230 особей в виварии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, морские свинки, кролики. Содержание животных в виварии и уход за ними осуществлялись в соответствии

с СанПиН 3.3686–21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Сотрудниками вивария, в соответствии с установленными нормами, проводилось приготовление кормов, расчёт рациона, непосредственное кормление и снабжение водой через оборудованные в клетках поильники.

Животные были получены из питомника Филиал «Андреевка» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства России (Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА). Кролики и морские свинки получены из питомника ФГУП «Опытно-производственное хозяйство «Манихино». Животные находились в карантине в течение 7 дней до начала эксперимента, содержались на стандартной диете вивария. Питьевую воду лабораторные животные получали *ad libitum*. В качестве корма использовался полноценный сухой комбикорм, рецепт ПК-120 (ООО «Лабораторкорм», Россия). Корм, исходя из норм суточного потребления и количества животных, давали крысам один раз в день, с утра. Кролики и морские свинки имели круглосуточный доступ к корму.

Работа с животными проводилась согласно протоколам, изложенным в международных рекомендациях, в соответствии с этическими нормами и принципами, изложенными в Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. В работе с животными учитывали рекомендации, изложенные в правилах этического (гуманного) обращения ЕС [10, 11].

Забор образцов крови у животных, биохимический анализ. Забор крови для биохимического и гематологического исследования проводили в разные сроки эксперимента: 3; 6 и 12 мес от начала воздействия. Цельную кровь от каждого животного забирали в пробирку Eppendorf объёмом 1,5 мл и две микрокуветы с ЭДТА на 200 мкл. Пробирки Eppendorf центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об./мин в микроцентрифуге СМ-50 (ELMI) и получали из них 500 мкл сыворотки.

Гематологические показатели регистрировали в цельной крови животных с помощью автоматического гематологического анализатора Abacus Junior (Vet) (Австрия).

Биохимические исследования, включая определение активности антиоксидантных ферментов, выполнены на автоматическом биохимическом анализаторе Chem Well 2900 фирмы Awareness Technology Inc. (США) с использованием диагностических наборов реактивов производства Hospitex Diagnostics S.r.l. (Италия) и Randox Laboratories Ltd (Великобритания). Активность каталазы определена колориметрическим методом, основанным на способности пероксида водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс (Королюк М.А., 1988).

Забор органов у животных, патоморфологический анализ. Через 12 мес от начала эксперимента была проведена эвтаназия животных в CO₂-боксе, патологоанатомическое вскрытие. Проводили патоморфологические исследования животных всех групп. При некропсии исследовали внешнее состояние тела, внутренних поверхностей и проходов, полости черепа, брюшной и тазовой областей с находящимися в них органами и тканями, шею с органами и тканями, каркас и скелетно-мышечную систему.

В 10%-м забуференном нейтральном формалине фиксировали 13 органов: щитовидную железу, тимус, сердце, лёгкое (участок левой доли), желудок (фундальную часть), печень (левую долю), селезёнку, поджелудочную железу (желудочно-селезёночную часть), подвздошную и толстую кишку, почки, надпочечники, семенники. После фиксации материал промывали в проточной воде, кусочки размером 0,3 × 0,5 см подвергали дегидратации в изопропиловом спирте восходящей концентрации и пропитывали парафином в автоматической системе для гистологической обработки тканей карусельного типа, модель

Таблица 1 / Table 1

Состав лейкоцитарной формулы морских свинок ($n = 8$) при изучении сенсibilизирующего действия глифосата кислоты, $M \pm m$
 The composition of the leukocyte formula of guinea pigs ($n = 8$) in the study of the sensitizing effect of glyphosate acid, $M \pm m$

Группа Group	Состав лейкоцитарной формулы, % / Composition of the leukocyte formula, %				
	лимфоциты lymphocytes	нейтрофилы neutrophils	эозинофилы eosinophils	моноциты monocytes	базофилы basophils
Контроль / Control	38.39 ± 2.65	50.26 ± 1.97	1.99 ± 0.19	5.84 ± 0.94	3.32 ± 0.63
Опыт / Experiment	35.46 ± 2.93	54.59 ± 3.56	1.39 ± 0.23	6.07 ± 0.51	2.61 ± 0.42

STP-120 (Microm, Германия), заливку в парафин производили с помощью станции для заливки блоков ЕС-350 I и ЕС-350 II (Microm, Германия).

Гистологические срезы (толщиной 5–10 мкм) готовили с помощью ротационного микротомы НМ-325 с системой переноса срезов (Microm, Германия). Срезы окрашивали гематоксилин-эозином по стандартной методике на автоматическом приборе Tissue-Tek® DRS™ 2000 фирмы Sakura (Япония) и заключали под покровное стекло вручную. Морфологический анализ микроскопических препаратов проводили с помощью системы Vision Morpho, состоящей из микроскопа MT53001L, Meiji Techno (Япония), цифровой видеокамеры, компьютера с программным обеспечением. Использовали морфологический, морфометрический и стереометрический анализ: на экран компьютера накладывалась сетка 1 × 1 см для определения процента (%) долей (площадей), занимаемых разными участками среза. Оценка показателей проводилась в процентах как число учитываемых показателей к общему числу просчитанных и в баллах, когда учитывался показатель по альтернативному признаку: 0 – 1 балл, а если определялась степень выраженности изучаемого показателя, то в баллах (0 – 1 – 2 – 3).

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных данных [12–15] проводили с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel, Statistica 10.0. Для определения нормальности распределения полученных значений применяли W -критерий Шапиро–Уилка, равенство дисперсий проверяли критерием Ливиня. Для определения статистической значимости различий непрерывных величин использовали t -критерий. В случае нормального распределения непрерывные переменные представлены в виде $M \pm m$ (среднее ± стандартное отклонение). Для всех проведённых анализов различия считались статистически значимыми при двустороннем уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Определение параметров острой токсичности глифосата кислоты. На крысах-самцах при внутрижелудочном введении водного раствора глифосата кислоты была испытана доза 5000 мг/кг массы тела. Клинической картины интоксикации и гибели животных не наблюдалось. Таким образом, LD_{50} глифосата кислоты при пероральном введении для крыс-самцов составила > 5000 мг/кг м. т.

Однократное нанесение крысам-самцам вещества на выстриженный участок бока в дозе 2000 мг/кг м. т. не вызвало гибели животных и видимых признаков интоксикации. Таким образом, LD_{50} глифосата кислоты при дермальном воздействии составила > 2000 мг/кг м. т.

Изучение раздражающего действия глифосата кислоты на кожу и слизистую оболочку глаза. При изучении раздражающего действия на кожу кроликов отмечалась слабая гиперемия, проходящая через 2 сут. Раздражающее действие на слизистую оболочку глаза изучалось при внесении вещества в количестве 50 мг в конъюнктивальный мешок правого глаза трёх кроликов, другой глаз служил контролем. После внесения вещества у кроликов наблюдались блефароспазм, слезотечение, слабый отёк век и гиперемия конъюнктивы. Симптомы раздражения сохранялись до 8 сут.

Результаты изучения сенсibilизирующего действия глифосата кислоты. Оценка результатов подсчёта состава лейкоцитарной формулы (табл. 1), а также показателя РСЛЛ (табл. 2) достоверных изменений у подопытных животных по сравнению с контролем не выявила.

Полученные результаты позволяют сделать вывод об отсутствии у глифосата кислоты сенсibilизирующих свойств.

Результаты многократного воздействия глифосата кислоты на животных при потреблении с соей. При оценке суммационно-порогового показателя (СПП, в вольтах), а также поведенческих реакций (общая активность, длина пути, время отдыха, норковый рефлекс, ориентировочная реакция) статистически значимых отличий выявлено не было.

В результате потребления глифосата кислоты с соей в течение трёх месяцев получено статистически значимое нарастание тромбоцитов в дозе 20 000 ppm по сравнению с контролем 1К; сравнение с контролем 2К (контроль с соей) не выявило подобных изменений. Отмечено нарастание активности ЩФ, АЛТ, содержания альбумина, холестерина и глюкозы. При этом стоит отметить, что достоверные изменения относительно контроля 2К наблюдаются только в нарастании активности ЩФ и повышении содержания холестерина. Статистически значимых изменений активности ферментов системы антиоксидантной защиты в крови крыс относительно контрольных значений на данном сроке выявлено не было.

При оценке гематологических показателей крови лабораторных животных статистически значимых изменений в опытных дозах по сравнению с контрольными значениями через 6 мес выявлено не было. Через 6 мес от начала затравки глифосата кислотой с соей получено достоверное снижение активности АСТ, ЛДГ, ЩФ и содержания креатинина, триглицеридов, хлоридов при воздействии дозы 20 000 ppm по сравнению с контролем 1К. Отмечается статистически значимое снижение активности АСТ в дозе 20 000 ppm по сравнению со значениями контрольной группы 2К. Статистически значимых изменений активности ферментов системы антиоксидантной защиты и содержания карбонильных производных белков в крови крыс относительно контрольных значений через 6 мес от начала затравки выявлено не было.

При оценке гематологических показателей крови лабораторных животных через 12 мес статистически значимые

Таблица 2 / Table 2

Результаты оценки сенсibilизирующего действия глифосата кислоты ($n = 8$), $M \pm m$

Results of evaluation of the sensitizing effect of glyphosate acid ($n = 8$), $M \pm m$

Группа животных Group of animals	Кожные пробы, % Skin tests, %	Показатель РСЛЛ Response of specific lysis of leukocytes (RSLI) indicator
Контроль / Control	Отрицательные Negative	4.62 ± 0.86
Опыт / Experiment	Отрицательные Negative	5.35 ± 0.95

Таблица 3 / Table 3

Результаты статистически значимых изменений гематологических и биохимических показателей крови крыс через 12 мес потребления глифосата кислоты с соей ($n = 8$), $M \pm m$ **Results of statistically significant changes of hematological and biochemical parameters in rat blood 12 months later consumption of glyphosate acid with soy ($n = 8$), $M \pm m$**

Параметр Parameter	Контроль / Control		Доза (Dose), ppm				
	1К	2К	0.15	20	200	2 000	20 000
<i>Гематологические показатели / Hematological indicators</i>							
Эритроциты, RBC, $10^{12}/л$ Erythrocytes, RBC, $10^{12}/L$	6.4 ± 0.9	6.7 ± 0.7	7.1 ± 0.8	6.9 ± 0.7	6.1 ± 0.7	7.2 ± 0.6	7.2 ± 0.3*
Гемоглобин, HGB, г/л Hemoglobin, HGB, g/L	120 ± 10.8	123 ± 17.4	120.3 ± 19.5	119.6 ± 12.6	116.2 ± 13.5	126.9 ± 11.9	132.4 ± 7.1*
Тромбоциты, PLT, $10^9/л$ Platelets, PLT, $10^9/L$	390.7 ± 90.6	527.3 ± 129.9	558.2 ± 273.9	549.3 ± 279.3	436.7 ± 164.3	532 ± 260.5	729.7 ± 193.5*
<i>Биохимические показатели / Biochemical parameters</i>							
АСТ, Ед/л AST, U/L	228.5 ± 16.1	204.3 ± 24.9	228.8 ± 35.6	210.1 ± 29.9	207.9 ± 21.3	202.8 ± 37.1	185.7 ± 29.9*
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/L	2.6 ± 0.3	2.3 ± 0.4	2.7 ± 0.5	2.2 ± 0.5	2.6 ± 0.5	2.4 ± 0.4	2.7 ± 0.2**
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, $\mu\text{mol}/L$	80.5 ± 6.3	76.5 ± 7.8	72.7 ± 8.7	77.5 ± 7.8	74.2 ± 5.2	79.5 ± 9.8	72.4 ± 2.9*

Примечание. Здесь и в табл. 4: статистически значимые отличия ($p < 0,05$): * – от контрольной группы 1К; ** – от контрольной группы 2К.
 Note: Here and in Table 4: * statistically significant differences ($p < 0.05$): * from the control group 1K; ** from the control group 2K.

изменения наблюдаются только в высшей опытной дозе (20 000 ppm) по сравнению с контрольными значениями и проявляются в увеличении содержания эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов (табл. 3). Через 12 мес от начала затравки глифосата кислотой с соей получено достоверное снижение активности АСТ и содержания креатинина при воздействии высшей дозы по сравнению с контролем 1К, повышение содержания холестерина в той же дозе относительно группы 2К (см. табл. 3). Статистически значимых изменений активности ферментов системы антиоксидантной защиты и содержания карбонильных производных белков в крови крыс относительно контрольных значений через 12 мес от начала затравки выявлено не было (табл. 4), за исключением высшей дозы, при которой отмечается снижение активности глутатионредуктазы в дозе 20 000 ppm относительно двух групп контроля.

Остальные опытные дозы не проявили эффекта при воздействии на теплокровных животных в хроническом эксперименте с добавлением в рацион сои.

Результаты патоморфологических исследований органов и тканей животных. В сердце и семеннике в 12-месячном эксперименте во всех группах среди изученных показателей статистически не выявлено отличий. У отдельных животных во всех группах встречаются увеличенное количество клеток

Лейдига, искривление и слияние семенных канальцев, а также в просвете некоторых семенных канальцев встречаются группы сперматогенных клеток.

В 12-месячном эксперименте во всех группах среди изученных показателей статистически не выявлено отличий. В тимусе крыс в 12-месячном эксперименте во всех группах среди изученных показателей статистически не выявлено отличий. В лёгких животных в 12-месячном эксперименте при максимальном воздействии глифосата кислоты отмечена тенденция к более чем двукратному превышению доли эмфизематозной ткани. При снижении воздействующей дозы среди изученных показателей статистически не выявлено отличий. В почках, печени, желудке, тонкой и толстой кишке крыс в 12-месячном эксперименте во всех изученных группах статистически не выявлено отличий показателей.

В поджелудочной железе при максимальном воздействии глифосата кислоты отмечена тенденция к развитию липоматоза в 12-месячном эксперименте. При снижении воздействующей дозы среди изученных показателей статистически не выявлено отличий.

В щитовидной железе крыс в 12-месячном эксперименте во всех изученных группах статистически не выявлено отличий показателей. Однако и в контрольной группе животных (группа 1К), и при воздействии глифосата кислоты

Таблица 4 / Table 4

Активность ферментов системы антиоксидантной защиты в крови крыс через 12 мес потребления глифосата кислоты с соей ($n = 8$), $M \pm m$ **Activity of enzymes of the antioxidant defense system in the blood of rats 12 months later consumption of glyphosate acid with soy ($n = 8$), $M \pm m$**

Параметр Parameter	Контроль / Control		Доза (Dose), ppm				
	1К	2К	0,15	20	200	2000	20 000
GLUT PER	1761.9 ± 254.8	1893.2 ± 173.6	1863.8 ± 335.9	1971 ± 93.2	1873.7 ± 110.7	1962.1 ± 105.1	1966.8 ± 169.1
SOD	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.3	0.86 ± 0.4	1.3 ± 0.4	1 ± 0.5	1.44 ± 0.4	1.5 ± 0.4
GLUT RED	67.9 ± 7.3	68.7 ± 7.3	60.4 ± 10.8	62.1 ± 5.2	61.7 ± 12.1	60.8 ± 13.9	58.3 ± 4.2* **
Каталаза / Catalase	290.2 ± 286.2	286.4 ± 277	270.7 ± 29.8	311.7 ± 35.8	285.4 ± 50.2	277.3 ± 9.9	269.1 ± 54.6

(группа V) встречаются как небольшие узелки изменённой интерфолликулярной ткани, так и массивные локусы изменённой интерфолликулярной ткани в центре щитовидной железы.

В надпочечной железе животных в 12-месячном эксперименте во всех изученных группах статистически не выявлено изменений изученных показателей. В каждой из изученных групп встречаются по 1–2 крысы с пролиферацией мозгового вещества и его эктопией в сетчатую зону, а также расширением кровенаполненных синусоидных капилляров в мозговом веществе.

Обсуждение

Различные точки зрения на токсичность глифосата привели к серьёзным разногласиям в научном сообществе. Ограничения и рекомендации по улучшению нормативной оценки рисков для человека от воздействия гербицидов на основе глифосата широко обсуждались и ранее [16–18].

До настоящего времени глифосатсодержащие пестициды применялись и применяются в нашей стране лишь в качестве гербицидов и при соблюдении регламентов, исключающих их попадание на культурные растения (включая плодоносящие кустарники и плодовые деревья), остаточные количества глифосата в выращиваемой сельскохозяйственной продукции практически отсутствуют. Это и позволило ранее установить МДУ для сои на уровне чувствительности метода – 0,15 мг/кг (аналогичный подход используется в большинстве стран мира). Однако в последние годы в ряде стран стала применяться технология десикации отдельных культур (соя, подсолнечник и др.), то есть обработка растений за 10–14 дней до уборки урожая. Проведение десикации обусловило наличие остатков глифосата в обрабатываемых культурах, и поэтому в ЕС и в мире (в том числе в США, где впервые разработан глифосат) была организована работа по изучению и регламентации остаточных количеств глифосата. На основе полученных результатов был, в частности, установлен MRL (МДУ) для сои на уровне 20 мг/кг.

Заключение

По результатам выполненных исследований установлены параметры токсичности и классы опасности (MP 1.2.0235–21⁶) глифосата кислоты при воздействии на организм теплокровных животных: LD₅₀ перорально для крыс > 5000 мг/кг м. т. (4-й класс опасности); LD₅₀ дермально для крыс > 2000 мг/кг м. т. (4-й класс опасности); не выявлено сенсibilизирующего (морские свинки) и раздражающего действия на кожу (кролики, крысы) (4-й класс опасности);

⁶ Гигиеническая классификация пестицидов и агрохимикатов по степени опасности. Методические рекомендации. МР 1.2.0235–21 от 15.02.2021 г.

отмечено умеренно выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаз (3А класс)^{6,7,8,9}.

При оценке гематологических показателей крови лабораторных животных статистически значимые изменения наблюдаются только через 12 мес в высшей опытной дозе (20 000 ppm) по сравнению с контрольными значениями и проявляются в увеличении содержания эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов.

Через 6 мес от начала потребления глифосата кислоты с соей получено достоверное снижение активности АСТ, ЛДГ, ЩФ и содержания креатинина, триглицеридов, хлоридов при воздействии высшей дозы 20 000 ppm по сравнению с контролем 1Кк. Отмечается статистически значимое снижение активности АСТ в дозе 20 000 ppm по сравнению со значениями контрольной группы 2К. Через 12 мес от начала потребления глифосата кислоты с соей получено достоверное снижение активности АСТ и содержания креатинина при воздействии высшей дозы по сравнению с контролем 1К, повышение содержания холестерина в той же дозе относительно группы 2К.

Статистически значимых изменений активности ферментов системы антиоксидантной защиты в крови крыс относительно контрольных значений через 6 мес от начала заправки выявлено не было. Через 12 мес отмечается снижение активности глутатионредуктазы в дозе 20 000 ppm относительно двух групп контроля.

Остальные опытные дозы не проявили эффекта при воздействии на организм теплокровных животных в хроническом эксперименте с соей.

Исследование 12-месячного перорального воздействия глифосата кислоты на самцах белых крыс в дозах 0,0075 мг/кг (группа I), 1 мг/кг (группа II), 10 мг/кг (группа III), 100 мг/кг (группа IV), 1000 мг/кг (группа V) по структурно-функциональным показателям выявило по сравнению с контролем недействующие дозы для различных изученных органов:

- глифосата кислота в максимальной дозе 1000 мг/кг м. т. (20 000 ppm, группа V) не действует на тонкую и толстую кишку, печень, почку, селезёнку, семенник, сердце, тимус, надпочечную и щитовидную железы;
- глифосата кислота в дозе 100 мг/кг м. т. (2000 ppm, группа IV) не действует на лёгкие и поджелудочную железу.

По результатам хронического эксперимента установлена величина недействующей дозы NOEL 100 мг/кг м. т. Таким образом, результаты проведённых исследований не противоречат ранее установленным параметрам токсичности глифосата кислоты.

⁷ The Pesticide Manual, Fifteenth Edition / British Crop Production Council. Ed. Tomlin C.D.S. 2009. 1457 с.

⁸ Toxicological Profile for Glyphosate. ODC, 2020. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp214.pdf>

⁹ Glyphosate. EPA. <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/glyphosate>

Литература

(п.п. 1–8, 10–12, 14–18 см. References)

9. Петибская В.С. Пути снижения трипсингибирующей активности сои. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. 2000; (1): 6–8.
13. Данилова Л.А., ред. *Справочник по лабораторным методам исследования*. СПб.: Питер; 2003.

References

1. Benbrook C.M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ. Sci. Eur.* 2016; 28(1): 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
2. Defarge N., Spiroux de Vendômois J., Séralini G.E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicol. Rep.* 2017; 5: 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.025>
3. Portier C.J., Armstrong B.K., Baguley B.C., Baur X., Belyaev I., Bellé R., et al. Differences in the carcinogenic evaluation of glyphosate between the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European Food Safety Authority (EFSA). *J. Epidemiol. Community Health.* 2016; 70(8): 741–5. <https://doi.org/10.1136/jech-2015-207005>
4. Duke S.O. The history and current status of glyphosate. *Pest. Manag. Sci.* 2018; 74(5): 1027–34. <https://doi.org/10.1002/ps.4652>
5. Tsai W.T. Trends in the use of glyphosate herbicide and its relevant regulations in Taiwan: A water contaminant of increasing concern. *Toxics.* 2019; 7(1): 4. <https://doi.org/10.3390/toxics7010004>
6. Mink P.J., Mandel J.S., Scurman B.K., Lundin J.I. Epidemiologic studies of glyphosate and cancer: a review. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2012; 63(3): 440–52. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.05.012>
7. Kier L.D., Kirkland D.J. Review of genotoxicity studies of glyphosate and glyphosate-based formulations. *Crit. Rev. Toxicol.* 2013; 43(4): 283–315. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.770820>

Original article

8. Kogevinas M. Probable carcinogenicity of glyphosate. *BMJ*. 2019; 365: 11613. <https://doi.org/10.1136/bmj.11613>
9. Petibskaya V.S. Ways to reduce the trypsin-inhibiting activity of soy. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Pishchevaya tekhnologiya*. 2000; (1): 6–8. (in Russian)
10. Burcham P.C. *An Introduction to Toxicology*. Berlin: Springer Science & Business Media; 2014.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes with amends by Regulation (EU) 2019/1010 of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019.
12. Corder G.W., Foreman D.I. *Nonparametric Statistics: A Step-by-Step Approach*. New York: John Wiley & Sons; 2014.
13. Danilova L.A., ed. *Handbook of Laboratory Research Methods [Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya]*. St. Petersburg: Piter; 2003. (in Russian)
14. Campbell M.J., Machin D., Walters S.J. *Medical Statistics: a Textbook for the Health Sciences*. New York: John Wiley & Sons; 2010.
15. Shapiro S.S., Wilk M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*. 1965; 52(3/4): 591–611.
16. Myers J.P., Antoniou M.N., Blumberg B., Carroll L., Colborn T., Everett L.G., et al. Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environ. Health*. 2016; 15: 19. <https://doi.org/10.1186/s12940-016-0117-0>
17. Mertens M., Höss S., Neumann G. et al. Glyphosate, a chelating agent-relevant for ecological risk assessment? Text: visual. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018; 25(6): 5298–317. Epub 2018 Jan 2. PMID: 29294235; PMCID: PMC5823954. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1080-1>
18. Richmond M.E. Glyphosate: A review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species. Text: visual. *J Environ Stud Sci*. 2018; (8): 416–34. <https://doi.org/10.1007/s13412-018-0517-2>