

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ

Е.К. Власенко, С.И. Сычик

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Минск,
Республика Беларусь
e-mail: evgenii_vlasenko@mail.ru, rspch@rspch.by*

Введение

Регуляторами роста растений являются физиологически активные вещества природного происхождения или синтезированные искусственно, которые в условиях агропромышленного применения целенаправленно воздействуют на интенсивность и направленность процессов морфогенеза растений [1]. Применение указанных препаратов позволяет более эффективно использовать сдвиги в обмене веществ и развитии сельскохозяйственных культур и тем самым способствует повышению урожайности, улучшению качества, условий уборки и хранения плодов. В зависимости от цели и направления использования регуляторы роста растений разделяют на следующие подгруппы: ауксины, антиауксины, цитокинины, дефолианты, этиленпродуценты, гиббереллины, ингибиторы роста растений, ретарданты, стимуляторы роста растений и неклассифицированные регуляторы роста растений [2]. Регуляторы роста растений чрезвычайно разнородны по строению, происхождению и принадлежат к самым различным классам химических соединений [3, 4]. Регуляторы роста растений являются, в основном, биопестицидами, включают в себя группу биорациональных и подгруппу биохимических пестицидов, не включены в Классификацию пестицидов по опасности, рекомендованную ВОЗ (2010) [5]. В этой связи методическая схема испытаний их опасности не всегда соответствует традиционно применяемой. Эти средства обычно оказывают минимальные токсические эффекты на организм животных и людей, не обладают персистирующими свойствами. Значительная часть существующих регуляторов роста растений представлена именно биохимическими средствами [2 – 4, 6].

В отношении дефолиантов, ретардантов, десикантов и некоторых других, как правило, веществ синтетического происхождения общепринято, что их токсиколого-гигиеническая оценка и гигиеническое нормирование осуществляются в соответствии с требованиями действующих ТНПА [2, 7, 8]. Эту группу представляют около двухсот различных производных бензотриазинов, пиразолов, фенилмочевины, пиримидинов, бензтиазолов, индолов [9].

Что же касается представителей из иных групп регуляторов роста растений (включая фитогормоны и подобные им вещества), то к настоящему времени научно-практические аспекты регулирования их безопасного содержания в объектах среды обитания человека требуют дальнейшего совершенствования [10].

Очевидно, что данная частная, однако весьма многогранная и сложная задача токсиколого-гигиенической оценки регуляторов роста растений требует актуализации не только практической методологии исследований, но и активной разработки ряда теоретических вопросов.

Действующая схема медико-биологических испытаний [8] основана на результатах длительных фундаментальных исследований пестицидов в целом и, в частности, основные ее положения поэтапно изложены в Инструкции по токсиколого-гигиенической оценке регуляторов роста растений [2].

Следует отметить, что в основу данных исследований должен быть положен системный подход, один из принципов которого – разделение изучаемого многовекторного явления (в нашем случае токсичность и опасность регуляторов роста растений) на основные

составляющие (блоки или этапы исследований), между которыми устанавливают разнообразные взаимосвязи с целью выделения главенствующих, ведущих, определяющих жизнеспособность организма при различных способах и режимах моделирования токсической нагрузки.

Первый этап медико-биологических (токсиколого-гигиенических) исследований включает в себя ряд разноплановых исследований на лабораторных животных (белые мыши и крысы, кролики, морские свинки) в условиях применения различных способов и режимов однократного воздействия на организм регуляторов роста растений.

Верхняя граница токсичности

На первом этапе исследований предусматривается установление верхних параметров токсичности веществ при их ингаляционном, эпикутанном и интрагастральном введении.

Из 23 активно применяемых в течение 20 лет в странах СНГ регуляторов роста растений только один отнесен ко второму классу опасности (высоко опасное химическое соединение по классификации [11]), 56,5% – к третьему классу (умеренно опасные вещества) и 43,7% – являются веществами малоопасными (четвертый класс опасности) [3, 9]. Близкое распределение по классам опасности наблюдается и в отношении 50 зарегистрированных в Республике Беларусь препаратов [6].

Опыт проведения токсикологических исследований показывает, что в отношении ряда регуляторов роста количественные параметры токсикометрии не установлены, в основном, из-за низкой токсичности веществ и, соответственно, отсутствия возможности моделирования острых интоксикаций из-за недостаточного количества вводимого в организм продукта (дозы превышают допустимую физиологическую емкость желудка животных, используются мало концентрированные растворы для исследования трансдермальной и ингаляционной токсичности и т.д.) [12,13,14,15]. Так, отечественный регулятор роста растений «Бурогумин» даже при введении крысам в желудок в дозе 15000 мг/кг гибели животных не вызывает, воздействие максимально достижимой концентрации гидроаэрозоля этого продукта на уровне 2853 мг/м³ также не приводит к летальным исходам [14]. Л.А. Наджарян, исследуя острую токсичность эпибрасинолида и его препаративной формы (препарат Эпин), установила, что при однократном внутрижелудочном введении белым мышам эпибрасинолида в дозе 2 г/кг гибель животных и клинические симптомы интоксикации отсутствуют, а DL₅₀ Эпина составляет 17,6 г/кг [12, 13]. Также технически недостижимым оказался уровень ингаляционной токсичности для мышей гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты (ГЭ-АЛК) [15].

Следовательно, один из краеугольных параметров токсикодинамики регуляторов роста растений, а именно биологическая мера их ядовитости – токсичность, не в полной мере находится в сфере гигиенического рассмотрения. Кроме этого абсолютно не регистрируются (из-за их отсутствия) клинические симптомы интоксикации, то есть не всегда рассматриваются важнейшие медико-биологические параметры, необходимые для учета характеристик развития потенциальной химической болезни [16].

Разрешение этой проблемы возможно путем установления параметров токсичности регуляторов роста растений при их однократном парентеральном (внутрибрюшинном, подкожном или внутривенном) введении лабораторным животным.

При этом вполне возможно воспользоваться методическими приемами, используемыми в экспериментальной фармакологии при проведении доклинических испытаний биологически активных веществ [17], а установленные параметры токсичности ранжировать, согласно одной из классификаций [18–20].

По нашему мнению для целей токсиколого-гигиенической оценки результатов внутрибрюшинной токсичности регуляторов роста растений наиболее адекватной представляется классификация, предложенная К.К. Сидоровым (таблица 1) [18].

Таблица 1 – Классификация токсичности веществ при введении под кожу и в брюшную полость животного (по К.К. Сидорову, 1973 [18])

Класс токсичности	Степень токсичности	Средняя смертельная доза (мг/кг) при введении	
		под кожу	в брюшную полость
I	Чрезвычайно токсично	≤0,39	≤ 0,2
II	Высоко токсично	0,40 – 15,9	0,30 – 10,9
III	Умеренно токсично	16,0 -150,9	11,0 – 100,0
IV	Мало токсично	151,0 – 1500,0	101,0 – 1000,0
V	Практически нетоксично	1501 – 4500,0	1001,0 – 3000,0
VI	Относительно безвредно	>4500	>3000,0

При проведении токсиколого-гигиенической оценки непредельных углеводородов о-ментановой структуры (о-1-ментен, о-1,4-ментадиен), обладающих ростостимулирующим действием по отношению к зерновым, овощным и техническим культурам [21], а также ГЭ-АЛК рассмотрены параллельно установленные параметры токсичности для белых мышей при однократном внутрижелудочном, ингаляционном и внутрибрюшинном воздействии (таблицы 2 и 3). Следует отметить, что подобно природным терпеноидным соединениям регуляторного типа (гиббереллин, абсцизовая кислота и др.), производные о-ментана содержат 1,2-дизамещенный циклогексановый скелет и поэтому представляют интерес для скрининга регуляторов роста растений [22].

Градации верхних параметров токсичности (таблица 2) позволяет объективно судить о степени реализации токсических свойств изученных регуляторов роста растений при различных путях их воздействия на организм.

Таблица 2 – Параметры токсичности ряда регуляторов роста растений для белых мышей при их однократном воздействии [15,21-23]

Название вещества	Путь поступления	Параметры токсичности по Литчфильду и Уилкоксону		
		DL ₁₆ , мг/кг CL ₁₆ , мг/м ³	DL ₅₀ , мг/кг CL ₅₀ , мг/м ³	DL ₈₄ , мг/кг CL ₈₄ , мг/м ³
о-1,4-ментадиен	ингаляционно	15000	25000 (17240÷36250)	43000
	внутрижелудочно	2260	2950 (2500÷3480)	3980
	внутрибрюшинно	2096	2502 (2234÷2802)	2976
о-1-ментен	ингаляционно	43000	76000 (54290÷106000)	130000
	внутрижелудочно	3360	4350 (3450÷5480)	5560
	внутрибрюшинно	2290	2811 (2444÷3232)	3456
гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты	ингаляционно	Не достижимы		
	внутрижелудочно	2540	3000 (2630÷3420)	3540
	внутрибрюшинно	210	360 (307÷453)	630

Таблица 3 – Классификация верхних параметров токсичности ряда регуляторов роста растений для белых мышей

Название вещества	Путь поступления	Градация уровней токсичности (по [11]) и опасности (по [18])
о-1,4-ментадиен	внутрижелудочно внутрибрюшинно орально-внутрибрюшинный коэффициент	III класс (умеренно опасное соединение) V класс (практически нетоксичное вещество) 1,18
о-1-ментен	внутрижелудочно внутрибрюшинно орально-внутрибрюшинный коэффициент	III класс (умеренно опасное соединение) V класс (практически нетоксичное вещество) 1,55
гексиловый эфир 5-аминолевули- новой кислоты	внутрижелудочно внутрибрюшинно орально-внутрибрюшинный коэффициент	III класс (умеренно опасное соединение) IV класс (мало токсичное вещество) 8,3

Формализацию проявления и интенсивности клинических симптомов интоксикации вполне возможно проводить по шкале, предложенной Г.В.Гацурой с соавт. [24]. Так, при изучении острой внутрибрюшинной токсичности препарата «Глифур» установлено, что DL_{50} для мышей составляет 673,5 мг/кг, для крыс – 1367,3 мг/кг, при этом четко зафиксированы клинические проявления интоксикации [25]. В отличие от результатов интрагастрального воздействия эпибрассинолида, в условиях его однократного интраперитонеального введения белым мышам в дозе 500 мг/кг наблюдалась выраженная клиническая картина интоксикации: заторможенность, нарушение координации движений, снижение реакции на внешние раздражители [13].

Понятно, что химические соединения 1 и 2 классов токсичности (чрезвычайно токсичные и высокотоксичные) не могут рассматриваться в качестве регуляторов роста растений.

На первом этапе токсикологических исследований регуляторов роста растений предусматривается также изучение их кожно-раздражающих и ирритативных свойств [2].

Следует отметить, что существующие методические схемы вполне адекватны задачам исследования, так как учитывают требования, изложенные в [7]. Однако, помимо традиционно применяемых для оценки местно-раздражающих эффектов и степени опасности острого отравления при чрезкожном поступлении веществ методических приемов [2,7], наиболее приемлимым способом оценки трансдермальных эффектов регуляторов роста растений является «пробирочный», ибо с его помощью возможно оценить воздействие на кожу максимальных количеств вещества. Этот метод позволяет получить альтернативный ответ о способности вещества проникать через неповрежденную кожу и вызывать интоксикацию организма при одно- и многократном эпикутанном воздействии [26]. Ю.С.Каган [27], высоко оценивая этот метод, считает возможным при проявлении смертельных исходов рассчитывать ET_{50} , то есть среднее время гибели половины подопытных животных. Проведенные по данной методической схеме исследования «Бурогумина» показали способность данного препарата к трансдермальной резорбции и активизации детоксикационных процессов и антиоксидантной защиты организма [14]. В свою очередь, о-ментановые стимуляторы роста растений классифицируются как потенциально малоопасные химические соединения в плане способности индуцировать трансдермальные эффекты при эпикутанном воздействии [22].

Следовательно, общая схема этапа установления верхних параметров токсичности регуляторов роста растений, по-видимому, должна быть дополнена:

- процедурой определения параметров токсикометрии в условиях однократного введения в брюшную полость лабораторных животных с классификацией степени токсичности;
- описанием и формализацией проявлений и интенсивности клинических симптомов интоксикации;
- использованием «пробирочного» метода для оценки проявлений трансдермальной резорбции.

Следует отметить необходимость расчета верхних параметров токсичности регуляторов роста растений одним из вероятностных способов [28], что позволяет устанавливать доверительные границы показателей токсичности.

Безусловно, во время проведения экспериментов необходимо оценить особенности проявлений гендерной (коэффициент половой чувствительности) и видовой (коэффициент видовой чувствительности) резистентности путем соотношения параметров верхних уровней токсичности для самцов и самок, а также различных видов лабораторных животных. Градацию выявленных показателей возможно проводить по требованиям, изложенным в [7].

Нижняя граница токсичности

Наряду с определением величин среднесмертельных доз/концентраций в токсикологии пестицидов имеет важнейшее значение выявление нижней границы токсичности – порога токсического действия (Lim_{ac}) [27]. При этом задача стоит не в определении порога любого действия, а выявление порога вредного влияния, то есть в обнаружении доз/концентраций ксенобиотиков, вызывающих в организме животных начальные изменения, лежащие на грани нормы и патологии. К сожалению, существующие схемы токсиколого-гигиенической оценки регуляторов роста растений [2,7] не предусматривают определение указанного показателя, крайне важного для целей их гигиенического нормирования.

Для установления Lim_{ac} ксенобиотиков предлагаются различные методические решения. Как правило, пороговой считается доза, которая вызывает у подопытных животных статистически значимые ($p \leq 0,05$) изменения показателя вредности по сравнению с животными параллельного контроля. Однако для пестицидов, к которым относятся и регуляторы роста растений, выявление Lim_{ac} во всех случаях необходимо проводить с учетом вероятностного подхода [27], при этом предлагаются различные методические варианты.

Наиболее обоснованным является то, что за неблагоприятный может быть принят сдвиг показателя, выходящий за пределы доверительных границ контрольной группы, учитываемый как $M \pm 2\delta$ [27]. Полученные результаты переводят в альтернативную форму (по принципу «да» или «нет»). Ряд исследователей обосновано считают, что альтернативная форма учета эффекта действия химических соединений на организм более важна, ибо она позволяет его оценить точнее на основе строгих математических методов [27]. В дальнейшем данные обрабатывают пробит-анализом [28] и определяют в качестве Lim_{ac} величину DE_{50} с доверительными границами [28].

При этом и выбор наиболее адекватного показателя (критерия) вредности осуществляют по уровню вероятностно определенных величин (DE_{50}), а также по показателю опасности подострого отравления – $1/S \times EC_{50}(ED_{50})$. Следует отметить необходимость исследования показателей во время, близкое к TL_{16} , или в период явной манифестации симптомов интоксикации у животных, регистрируемых при установлении смертельных доз.

В качестве примера в таблице 4 приводятся данные по установлению Lim_{ac} о-1-ментена [21] и ГЭ-АЛК [15,23]. В клинической картине отравления обоими препаратами в условиях однократного воздействия их токсических доз преобладали симптомы нейротропного действия. Пороговой (Lim_{ac}) для паров о-1-ментена определена концентрация, которая

вызывала у подопытных крыс статистически значимые ($p \leq 0,05$) изменения показателя вредности по сравнению с животными параллельного контроля, равная 17920 мг/м^3 , в то же время EC_{50} составила $16800 (8620 \div 32800) \text{ мг/м}^3$. Представляет интерес и выбор критерия (показателя) вредности (таблица 4): изменения суммационно-порогового показателя (EC_{50}) наступают при концентрациях препарата в 1,79 раза меньших, чем изменения в горизонтальной двигательной активности животных, а показатель опасности подострого отравления ($1/S \times EC_{50}$), соответственно в 1,9 раза выше. Lim_{ac} для белых мышей, подвергнутых внутрижелудочному введению ГЭ-АЛК определена доза, равная 1500 мг/кг [15, 23], в то время ED_{50} составила $73 (23 \div 234) \text{ мг/кг}$, а в качестве критерия вредности принят показатель эпизодов груминга (ED_{50} меньше ED_{50} показателя вертикальной активности в 2,19 раза, а $1/S \times EC_{50}$ – выше 2,56 раза).

Безусловно, в процессе определения порога острого действия необходимо нахождение неэффективной дозы/концентрации исследуемого регулятора роста растений (максимально недействующая доза/концентрация, подпороговая доза/концентрация). Она представляет собой максимально приближенный к Lim_{ac} уровень воздействия который не вызывает у подопытных животных статистически значимых ($p \leq 0,05$) изменений показателя (или комплекса показателей) вредности по сравнению с животными параллельного контроля. Следует отметить, что подпороговая доза – это предел, к которому стремиться Lim_{ac} . Учет максимально недействующей дозы весьма важен при решении задач гигиенического регламентирования.

Таблица 4 – Среднеэффективные дозы/концентрации отдельных регуляторов роста растений для лабораторных животных при однократном воздействии

Лимитирующие показатели (показатели вредности)	Среднеэффективные дозы/концентрации $EC_{50}(ED_{50})$, мг/кг (мг/м^3)	Показатели опасности подострого отравления	
		S	$1/S \times EC_{50}(ED_{50})$
о-1-ментен, белые крысы, 4-х часовая ингаляционная затравка			
Суммационно-пороговый показатель	16800 (8620÷32800)	2,61	0,000023
Частота сердечных сокращений	40000 (25530÷68000)	3,08	0,000008
Горизонтальная двигательная активность	30000 (18750÷48000)	2,24	0,000015
Гексиловый эфир 5-аминолевулиновой кислоты, белые мыши, внутрижелудочное введение			
Вертикальная двигательная активность	160 (46÷560)	5,36	0,00117
Количество эпизодов груминга	73 (23÷234)	4,60	0,00300

Для целей гигиенического нормирования чрезвычайно актуальным представляется показатель зоны острого токсического действия (Z_{ac} , отношение смертельных доз/концентраций к порогу токсического действия). Если верхняя и нижняя граница токсичности установлены как вероятностные величины, то и Z_{ac} имеет вероятностный характер. Ю.С.Каган [27] справедливо подчеркивает, что выражение DL_{50}/DE_{50} точнее, чем DL_{50}/Lim_{ac} . Градации зоны острого действия, изложенные в [7,11] приняты и для оценки опасности регуляторов роста растений (I класс – до 6, II класс – 6,0-18,0, III класс – 18,1-54,0, IV класс – более 54,0). Эти же техническим нормативным правовым актом классифицируются и степень опасности веществ по коэффициенту возможного ингаляционного отравления (КВИО, соотношение величины максимально насыщающей концентрации паров к CL_{50}).

Согласно этим критериям о-1,4-ментадиен относится к III классу – умеренно опасным регуляторам роста растений, о-1-ментен – к IV классу – малоопасным веществам. Показатель зоны острого действия по соотношению DL_{50}/DE_{50} для гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты составляет 41, что позволяет отнести данное соединение к III классу опасности [15, 23].

Следовательно, общая схема первого этапа токсиколого-гигиенического изучения регуляторов роста растений должна в обязательном порядке дополнена процедурой установления пороговых и подпороговых уровней однократного воздействия веществ, выявляемых вероятностным способом с определением критериальных показателей вредности и расчетом зоны острого действия. Градацию степени опасности в этом случае следует проводить по [7, 11].

На первом этапе токсикологических исследований регуляторов роста растений предусматривается также изучение их сенсибилизирующих свойств [2]. Следует отметить, что предложенные в данном документе методические схемы вполне адекватны задачам исследования, так как учитывают требования, изложенные в [7].

Однако следует подчеркнуть, что объектом выбора для исследования сенсибилизирующих свойств регуляторов роста растений должны быть морские свинки – наиболее адекватный для целей данного исследования вид лабораторных животных [29]. Изучение потенциальной аллергоопасности следует проводить на морских свинках-альбиносах в экспериментах по однократному (внутрикожная сенсибилизация) и длительному (эпикутанные аппликации) воздействию. При этом оценку проводят не только по интенсивности развития кожных провокационных проб, но и по результатам реакций специфического лейколизиса и лейкоагломерации [7,29]. Следует отметить, что проведенные по данной методической схеме исследования сенсибилизирующих свойств о-1-ментена (включая и длительное эпикутанное воздействие) и о-1,4-ментадиена не выявили у морских свинок признаков развития гиперчувствительности к данным препаратам [21].

Целесообразно до проведения развернутых аллергологических испытаний исследовать вещество в тесте опухания лапы (или уха) мыши (ТОЛМ или ТОУМ) [7]. Так, при исследовании ростостимулирующего препарата «Бурогумин» установлено, что по более строгому интегральному показателю бальной оценки частота и выраженность ТОЛМ в опыте были одинаковы с контролем. Указанное свидетельствует об отсутствии аллергизации животных препаратом [14], что послужило основанием в отказе от проведения более затратных расширенных аллергологических исследований на морских свинках. Результатами исследований также установлено, что ГЭ-АЛК не индуцирует аллергологически значимых проявлений в условиях моделирования гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей [15] (таблица 5).

Таблица 5 – Величина отека лапы при исследовании сенсибилизирующего действия ГЭ-АЛК в тесте опухания лапы у мышей, $M (\pm 95\% \text{ДИ})$

Показатели индукции гиперчувствительности замедленного типа	Группы сравнения	
	контроль	опыт
Величина толщины лапы мыши до введения разрешающей дозы, мм	1,31 (1,26÷1,36)	1,36 (1,32÷1,39)
Величина толщины лапы мыши через 24 часа после введения разрешающей дозы, мм	1,33 (1,27÷1,38)	1,39 (1,35÷1,42)
Среднегрупповой показатель ТОЛМ в абсолютных единицах, 10^{-2} мм	1,6 (0,70÷2,5)	2,8 (1,7÷3,9)

Для целей гигиенического нормирования регуляторов роста растений выраженность их сенсибилизирующих свойств следует оценивать согласно градаций, изложенных в [7], а именно: I класс аллергенной активности (сильные аллергены), II класс аллергенной

активности (выраженные аллергены), III класс аллергенной активности (умеренные аллергены) и IV класс аллергенной активности (слабые аллергены).

Понятно, что химические соединения 1 и 2 классов аллергенной активности (сильные и выраженные аллергены) не могут рассматриваться в качестве регуляторов роста растений.

Следует отметить, что синтетический фитогормон эпибрасинолид при внутрикожном введении белым мышам в стандартной дозе не вызывал у них проявлений гиперчувствительности замедленного типа и признан практически алергобезопасным, однако его иммуностропные свойства оказались более значимыми. Так, при высоких уровнях воздействия данный препарат проявлял иммунотоксические свойства, а при низких – отмечались его иммуностимулирующие свойства. Указанное связано, в основном, с реакцией комплемент-зависимой системы, проявляющейся однотипно у белых крыс в условиях хронического перорального введения и у морских свинок после длительного ингаляционного (интраназального) введения [30, 31]. Е.К.Власенко с соавт. [32], изучая влияние ГЭ-АЛК на иммунный статус белых крыс в условиях эксперимента по длительному внутрижелудочному введению, выявили, что при воздействии действующей по общетоксическим критериям дозы препарата наблюдается статистически значимое увеличение концентрации в сыворотке крови C3 компонента комплемента на 151,7% и иммуноглобулина G на 128,4%.

По-видимому, в настоящее время возникла настоятельная необходимость разработки и внедрения в практику профилактической токсикологии теста на иммуноропность, проводимого в рамках первого этапа токсиколого-гигиенической оценки регуляторов роста растений. Данный тест с точки зрения доказательной медицины должен во многом разрешить нередко возникающие противоречивые сведения о наличии/отсутствии иммуномодулирующего действия. В качестве базового для разрабатываемого теста возможно использовать методические приемы, используемые для выявления иммуностропных свойств биологически активных веществ, применяемые в экспериментальной фармакологии [33].

Значение для гигиенической токсикологии данного показателя представляется весьма весомым, ибо регуляторы роста растений могут выступать в качестве этиологически значимого фактора развития приобретенного экологического заболевания – множественной химической чувствительности. Стожаров А.Н. [34] вполне обосновано считает, что непосредственными химическими индукторами данного заболевания могут быть терпены (достаточно полно представлены в группе регуляторов роста растений), синтетические стимуляторы созревания плодов, пестициды и некоторые другие соединения. При этом работники, контактирующие с регуляторами роста растений, – это группа высокого риска для этого типа химической гиперчувствительности, несущий в патогенезе своего развития и иммуномодулирующий компонент.

На первом этапе токсикологических исследований регуляторов роста растений предусматривается также изучение их возможного мутагенного действия [2]. Указанным исследованиям в настоящее время придается значительное и вполне обоснованное значение [8,27].

В настоящее время, несмотря на интенсивное внедрение в практику новых методов изучения мутагенных свойств, сохранен основной подход к оценке мутагенности регуляторов роста растений, основанный на выявлении различных типов мутаций в батарее тестов.

Действующей инструкцией по токсиколого-гигиенической оценке регуляторов роста растений [2] установлен перечень методов для оценки мутагенности, включающий тесты на индукцию обратных мутаций у бактерий (тест Эймса), *in vitro* тесты на индукцию генных мутаций в клетках млекопитающих, тесты на внеплановый синтез ДНК в культивируемых клетках млекопитающих, *in vitro* тесты на индукцию хромосомных aberrаций, *in vivo* тесты на индукцию хромосомных aberrаций и микроядер в клетках млекопитающих. Таким

образом, предложенная схема позволяет учитывать весь спектр мутаций на основе регистрации хромосомных нарушений (видимых под микроскопом) и нарушений структуры ДНК, приводящим к возникновению энзимопатий. Авторами предусмотрено проведение не менее трех тестов по усмотрению исследователя.

Оценку мутагенной опасности пестицидов (в т.ч. регуляторов роста растений) производят по следующим характеристикам: выраженность мутагенного действия (кратность превышения контрольного уровня), минимальная эффективная доза, универсальность мутагенного действия (способность к индукции мутаций на ряде тест-объектов) [8]. В соответствие с данным подходом, выделены 4 группы пестицидов по степени потенциальной мутагенной опасности.

Наличие у изучаемого регулятора роста растений мутагенной активности имеет весьма важное значение для прогноза ряда отдаленных последствий его влияния на организм человека. Мутации потенциально опасны не только для здоровья индивидуума, увеличивая риск канцерогенеза, но и для будущих поколений (а при широком распространении мутагенов и для популяции в целом), т.к. изменения в хромосомах и ДНК половых клеток могут приводить к развитию патологических изменений у потомства [27]. Мутагены могут действовать на соматические клетки, приводя к изменениям, которые проявляются в повышении общей заболеваемости, преждевременном старении и т.д. Имеется тесная этиологическая связь и корреляция мутагенности с канцерогенностью и тератогенностью [35].

В соответствие с данным подходом был изучен регулятор роста растений Эпин (24-эпибрассинолид), который не вызывал прямого ДНК-повреждающего действия в тесте Эймса с метаболической активацией и без нее, однако, в микроядерном тесте при анализе мазков костного мозга мышей установлено нарушение процессов дифференцировки и стимулирование апоптоза, что приводило к увеличению в 5-6 раз числа полихроматофильных клеток с микроядрами [36, 37]. В результате исследований авторами не удалось классифицировать 24-эпибрассинолид как мутаген вследствие его низкой токсичности и широким распространением в природе. Однако, полученные данные позволили объяснить ряд общетоксических свойств препарата, реализуемых в нарушениях репродуктивной функции (уменьшение размеров новорожденных крысят) и иммунологического статуса (досрочная дифференцировка эритроидных клеток).

При изучении отечественного регулятора роста растений ГЭ-АЛК в экспериментах *in vitro* установлено, что препарат не вызывает изменений показателей мутагенного действия, учитываемых в тесте Эймса (с метаболической активацией и без) и цитогенетических изменений в тесте хромосомных aberrаций на культуре лимфоцитов человека [38, 39]. Максимально испытанные концентрации препарата обладают бактериостатическим эффектом в отношении тест-штамма *S. typhimurium TA 100* и цитотоксическим действием на клетки лимфоцитов человека.

Таким образом, при изучении показателей мутагенности исследователь также может получить ценную информацию о биологическом действии препарата (например, о цитотоксичности), что, безусловно, будет полезным не только для объективной оценки потенциальной генетической опасности, но и поможет изучить механизмы реализации общетоксических свойств регуляторов роста растений.

По нашему мнению, регуляторы роста растений с доказанными мутагенными свойствами должны быть исключены из среды обитания человека. Для объективной оценки мутагенности крайне важно определить перечень методов, т.к. большая часть из них является трудоемкими, требующими наличия соответствующих квалифицированных специалистов. При этом, очень часто возникает необходимость ускоренной гигиенической оценки генетической опасности новых препаратов, что требует применения простых краткосрочных методов. Так, на первоначальном этапе исследований новых регуляторов роста растений можно ограничиться тремя широко применяемыми тестами: *in vitro* тест

Эймса, *in vivo* микроядерный тест на клетках костного мозга млекопитающих, тест хромосомных aberrаций на лимфоцитах человека. В том случае, когда в одном из трех тестов изучаемое соединение демонстрирует мутагенную активность в диапазоне доз/концентраций, выходящих за пределы проявления общетоксических/цитотоксических свойств, требуется дальнейшее его изучение не менее чем в двух различных тестах. Если по результатам исследований регулятор роста растений обнаруживает мутагенные свойства в двух тест-системах (демонстрирует способность к индукции различных типов мутаций), то такой препарат запрещается для использования.

При обнаружении у препарата мутагенной активности только в одном тесте – такой регулятор роста растений допускается к использованию после определения его класса опасности по критерию мутагенности; вещества 1-й и 2-й групп (наиболее опасные по классификации [8]) не разрешаются к применению.

Следовательно, общая схема первого этапа токсиколого-гигиенической оценки регуляторов роста растений должна содержать процедуры:

- установления верхних параметров токсичности в условиях однократного внутрижелудочного, внутрибрюшинного, эпикутанного и ингаляционного воздействия с расчетом производных показателей опасности развития острого отравления;
- выявления пороговых и подпороговых уровней однократного воздействия веществ, выявляемых вероятностным способом с определением критериальных показателей вредности и расчетом зоны острого действия;
- оценки алергобезопасности и иммуноотропности препаратов, а также ирритативных и кожно-раздражающих свойств;
- проведения трех обязательных тестов на мутагенность.

Понятно, что химические соединения 1 и 2 классов опасности/ токсичности (чрезвычайно опасные/токсичные, высоко опасные/токсичные вещества, сильные и выраженные алергены, мутагены, канцерогены, репротоксиканты) не могут быть рекомендованы с токсиколого-гигиенических позиций к использованию в качестве регуляторов роста растений.

Второй этап медико-биологических (токсиколого-гигиенических) исследований включает в себя ряд разноплановых исследований на лабораторных животных (белые мыши и крысы, кролики, морские свинки) в условиях применения различных способов и режимов повторного (субхронического) воздействия на организм регуляторов роста растений.

Одним из основных методических приемов, применяемых на втором этапе оценки медико-биологических характеристик фиторегуляторов, является изучение их кумулятивных свойств [2,8]. Проведению данных исследований придается исключительно важное значение, ибо определение кумулятивного эффекта (характера усиления/ослабления действия препарата при его повторном воздействии) необходимо для правильного выбора коэффициента запаса при гигиеническом нормировании.

Количественную оценку кумуляции функционального типа в условиях внутрижелудочного введения, как правило, проводят с использованием традиционных способов: метод «субхронической токсичности» Lim et al. [40] и метод Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича [41]. При этом срок подострого воздействия определяется двумя факторами: во-первых – это продолжительность жизни лабораторных животных (1/10 – 1/30 от средней продолжительности, то есть для мышей – около месяца, для крыс – от одного до двух месяцев) и во вторых – уровень токсического воздействия (при оценке степени выраженности кумулятивного эффекта по классификации [42] в эксперименте следует достигнуть токсическую нагрузку, превышающую в сумме 5 DL₅₀. Такой уровень достигается при воздействии наиболее приемлимой для целей профилактической токсикологии дозы, кратной 0,1 от DL₅₀, в течение 60 суток).

Для целей выявления процессов кумулятивности фиторегуляторов наиболее удовлетворяет тест «субхронической» токсичности по Lim et al. [40], так как этот метод

позволяет не только выяснить наличие кумулятивных свойств, но и оценить возможность развития привыкания. Тест проводится в течение 24 ± 4 дней, первоначальная ежедневная доза (вводится первые 4 дня) составляет 0,1 от DL_{50} . На 5-е сутки дозу повышают в 1,5 раза (то есть 0,15 DL_{50}) и вводят в последующие 4 дня. В дальнейшем каждые 4 дня цикл дозовозрастающего введения повторяют [7]. По результатам гибели животных вероятностным путем рассчитывают $DL_{50subchr}$. И по соотношению этого показателя и DL_{50} *acuta* рассчитывают коэффициент кумуляции ($K_{кум}$). Выявленный в данной методической схеме $K_{кум}$ меньше 1 свидетельствует о наличии у изучаемого вещества кумулятивных свойств, а $K_{кум}$ больше 1 – о развитии повышенной резистентности (то есть о регистрации процессов адаптации). Следует отметить, что при изучении кумулятивных свойств отечественного фиторегулятора ГЭ-АЛК данным методом за время опыта отмечена гибель 17 из 20 мышей. Величина среднесмертельной дозы $DL_{50subchr}$, вычисленная с применением пробит-анализа, составляет 18250 мг/кг, коэффициент кумуляции $K_{кум}$ равен 6,1 [23]. Установленная величина коэффициента кумуляции свидетельствует о способности мышей (наиболее чувствительного по величине DL_{50} вида животных) адаптироваться к введению массивных доз ГЭ-АЛК: величина суммарной дозы к окончанию эксперимента была кратная 13 DL_{50} , а подавляющая часть летальных исходов зарегистрирована в диапазоне суммарных доз кратных 4-13 DL_{50} . Аналогичная картина наблюдалась при исследовании и регуляторов роста изопреноидной природы. Так, гибель мышей под влиянием дозовозрастающего введения о-1-ментена в течение 24 суток не наблюдается, что свидетельствовало о развитии выраженной толерантности животных к этому препарату. $K_{кум}$ о-1,4-ментадиена составляет 8,96 и также указывает на выработку организмом мышей состояния повышенной сопротивляемости к токсическому действию данного углеводорода [21].

Целый ряд исследователей [42, 43, 44], а также действующие нормативные документы в области токсикологии пестицидов (включая и регуляторы роста растений) [2, 7, 8] однозначно трактуют метод повторного дозомонотонного дробного внутрижелудочного введения веществ по Ю.С.Кагану и В.В.Станкевичу [41] в качестве основного теста по изучению способности препаратов к иницированию кумулятивных эффектов, которые лежат в основе хронических интоксикаций. С помощью этого метода возможно по смертельным эффектам рассчитать коэффициент кумуляции (данный методический подход положен в основу оценки степени выраженности кумулятивного эффекта по классификации [42]), а также путем использования значительного количества разнообразных токсикологических, физиологических, биохимических, гематологических, патоморфологических и иных тестов удается в значительной мере выявить особенности токсикодинамики изучаемого вещества [41]. Достаточно длительное дробное введение препаратов в массивных дозах (порядка 1/5, 1/10 и 1/20 от DL_{50}) позволяет выявить и количественные (дозозависимые) аспекты развития интоксикации. Так, $K_{кум}$ при введении белым крысам массивной дозы ГЭ-АЛК, кратной 1/5 от DL_{50} , составил 1,6, то есть согласно гигиенической классификации [42] препарат относится к веществам с выраженной степенью кумуляции. При этом кумулятивный эффект развивается только на фоне введения массивных доз вещества и уменьшается при снижении величины ежедневно вводимой дозы (при воздействии 1/10 от DL_{50} отмечена единичная гибель животных и ее отсутствие при введении дозы, кратной 1/20 от DL_{50}), что позволило авторам отнести ГЭ-АЛК к веществам I типа кумулятивного действия по классификации Ю.С. Кагана [27] и указывает на малую вероятность развития хронической интоксикации данным соединением [43]. Дробное дозомонотонное введение крысам монотерпеновых фиторегуляторов позволило выявить токсикодинамическую зависимость, выражающуюся в двухфазном характере реализации их кумулятивных свойств. Так, по мере уменьшения количества вводимого препарата степень его кумулятивности вначале увеличивается, а затем снижается «пик» кумулятивности соответствует ежедневному поступлению о-1-ментена и о-1,4-ментадиена в дозе, кратной 1/20 от DL_{50} [21, 22]. Данная зависимость степени кумуляции от величины ежедневно

вводимых доз присуща веществам, обладающих IV типом кумулятивности [43]. Параллельно проведенные исследования кумулятивных свойств у предельного гомолога указанных углеводов – о-цимола, показали, что данный препарат относится к веществам I типа кумулятивного действия (рисунок 1). Таким образом, исследование кумулятивности в тесте Ю.С.Кагана и В.В.Станкевича [41] при использовании доз порядка 1/5, 1/10 и 1/20 от DL_{50} позволяет получить достаточно развернутую информацию не только о величинах $K_{кум}$ и, соответственно, о гигиеническом значении класса выраженности кумулятивного эффекта, но и о типе реализации этого действия у регуляторов роста растений.

Исследования кумулятивных свойств регуляторов роста растений позволяет установить не только количественные параметры кумуляции, но и составить представление о преимущественно поражаемых органах и системах, а также о глубине этих поражений. Использование указанной информации необходимо, ибо в ней заложены основы понимания патогенеза интоксикации (химической болезни) конкретным веществом. Изучение патогенетической значимости изменений в организме и их оценка с позиций критерия вредности служат базой для определения методических подходов при планировании хронического токсиколого-гигиенического эксперимента и последующих медико-биологических исследований [44].

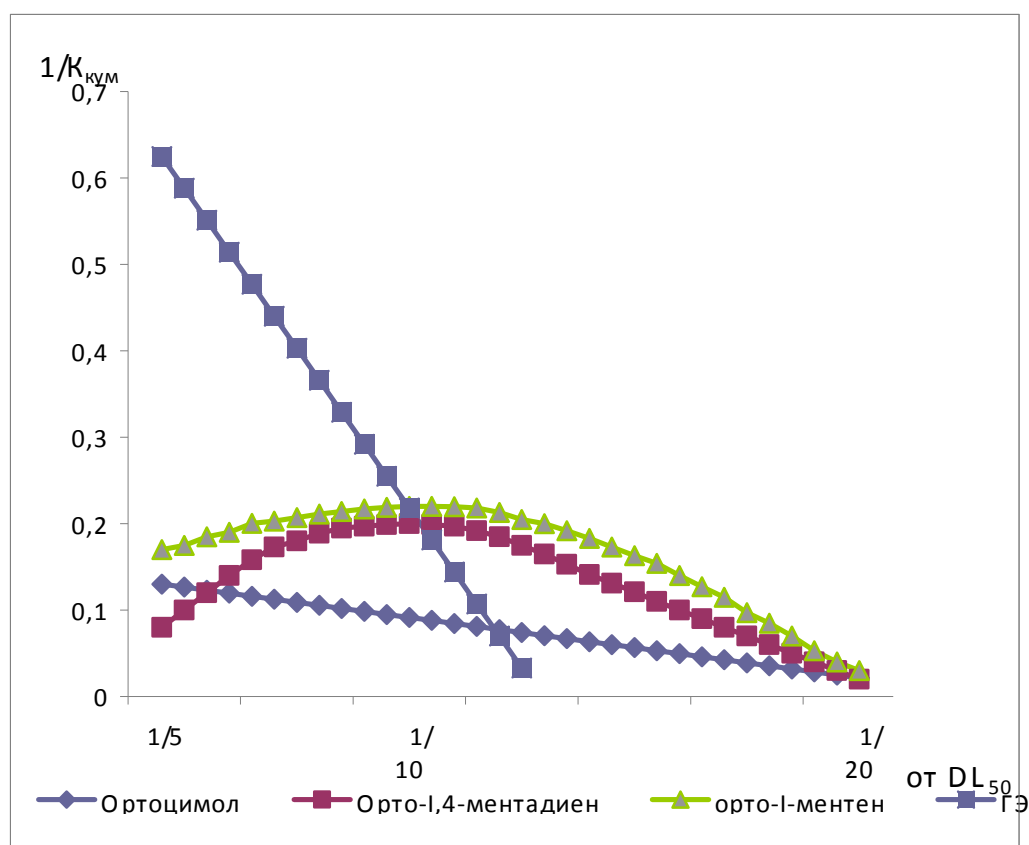


Рисунок 1 – Зависимость степени кумуляции некоторых регуляторов роста растений от величины ежедневно вводимых в желудок белым крысам доз

Выбор тестов в «субхроническом» эксперименте производится на основе анализа литературных сведений о действии близких к изучаемому препарату химических соединений, с ориентацией на токсикологическую информацию, полученную в острых опытах [7].

Алгоритм повторного дозозмонотонного дробного внутрижелудочного введения фиторегуляторов по Ю.С.Кагану и В.В.Станкевичу [41] на белых крысах представляется следующим: опыт продолжается 75 суток, при этом в течение первых 60 суток крысы

получают исследуемый фиторегулятор в различных дозах (контрольные животные – растворитель), а последние 15 суток эксперимента оценивается как восстановительный период (никаких манипуляций с животными не проводят). Режим внутрижелудочного введения препарата с помощью иглы-зонда – 5 раз в неделю, всех животных еженедельно взвешивают и уточняют объем вводимой дозы. В процессе эксперимента ежедневно фиксируют гибель животных и клинические проявления интоксикации.

На 31-е и 60-е сутки эксперимента изучают ряд физиологических показателей организма (например, масса и температура тела, поведенческие реакции, суммационно-пороговый показатель, мышечная выносливость, показатели ЭКГ, и т.д.), проводят общий биохимический анализ мочи (диурез, содержание электролитов и микроэлементов, глюкозы, креатинина, мочевины, белка и т.д. с расчетом клиренсов очищения крови), а также изучают гематологические показатели периферической крови (общий анализ крови с определением основных морфо-функциональных ее параметров, включая эритроцитарные, лейкоцитарные и тромбоцитарные индексы). В эти же сроки животных выводят из опыта мгновенной декапитацией, изучают макроскопический статус внутренних органов и определяют их относительные коэффициенты массы, выполняют биохимический анализ сыворотки крови, гемолизатов и гомогенатов органов (общебиохимический анализ и изучение ферментативной активности в качестве показателя органной специфичности). Дополняют исследования изучением иммунологических показателей, гормонального статуса, содержанием макро- и микроэлементов и т.д. Этот же комплекс исследований проводят по окончании восстановительного периода.

Такого рода подход вполне правомерен, ибо в нем сочетается биологический принцип анализа наблюдаемых изменений (сопоставление с физиологической нормой, применение нагрузочных тестов, учет зависимости «доза-эффект-время») с математической оценкой меры значимости количественных критериев вредности.

Выполненные в данном ключе исследования стимулятора роста растений «Бурогумин», показали, что при повторном введении в желудок данное вещество не обладает кумулятивной активностью на уровне проявления смертельных эффектов. Однако, его токсичность в «субхроническом тесте» может реализовываться через активизацию процессов, приводящих к генерации активных форм кислорода, о чем (весьма косвенно) свидетельствует увеличение активности глутатион-редуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, а также снижение активности супероксиддесмутазы в эритроцитах [14].

Власенко Е.К. с соавт. [23, 32] при выполнении исследований по изучению кумулятивных свойств отечественного регулятора роста растений ГЭ-АЛК установили, что при ежедневном введении внутрь ГЭ-АЛК оказывает общетоксическое действие у белых крыс, оцениваемое по изменениям в неврологическом статусе, состоянии вегетативных функций, поведенческой активности, приросте массы тела. Состояние гомеостаза белых крыс при этом характеризуется проявлением респираторного ацидоза, что подтверждается соответствующими изменениями газового состава и бикарбонатной буферной системы периферической крови подопытных животных. Выявленные изменения показателей «красного ростка» крови могут свидетельствовать о вовлечении в процесс компенсации ацидоза белковой (гемоглобиновой) буферной системы (таблица 6).

Анализ результатов исследования регулятора роста растений Эпин позволил авторам констатировать, что при «субхроническом» дозозмонотонном внутрижелудочном введении препарат увеличивал в организме подопытных животных количество эритроцитов, содержание гемоглобина и, соответственно, величину гематокрита. Кроме этого отмечено снижение концентрации триглицеридов в сыворотке крови, а также повышенное значение показателей экскреции конечных продуктов распада белка [45].

Таблица 6 – Показатели крови крыс при введении ГЭ-АЛК в субхроническом эксперименте, М ($\pm 95\%$ ДИ) либо Ме [25%; 75%].

Показатели, единицы измерения	Группы сравнения, величины вводимых доз, кратных DL ₅₀			
	контрольная	1/10	1/20	1/80
Эритроциты, $\times 10^{12}$ кл/л	7,3 (6,8-7,7)	6,2 (5,9-6,5)*	7,3 (6,9-7,6)	7,1 (6,8-7,4)
Концентрация гемоглобина, г/л	161 (152-168)	140 (136-145)*	147 (143-152)*	151 (144-157)
Гематокрит, л/л	0,34 (0,33-0,36)	0,3 (0,29-0,31)*	0,33 (0,31-0,35)	0,33 (0,31-0,34)
pH крови, ед. pH	7,35 (7,29-7,42)	7,32 (7,26-7,37)	7,4 (7,34-7,47)	7,39 (7,28-7,49)
pCO ₂ , mmHg	31,9 (28,2-35,5)	44,3 (37,8-50,7)*	34,5 (29,4-39,7)	36,1 (25,6-46,6)
pO ₂ , mmHg	101 (85-116)	77 (60-93)*	91 (71-111)	108 (78-137)
Содержание оксигемоглобина, %	93,2 (91,9-94,6)	86,0 (80,4-91,6)*	91,5 (87,9-95,2)	93,2 (89,5-96,9)
Актуальный бикарбонат (AB), ммоль/л	17,3 (14,9-19,8)	22,1 (19,1-25,2)*	21,0 (20,0-22,1)	20,3 (18,9-21,7)
Стандартный бикарбонат (SB), ммоль/л	19,0 (16,6-21,4)	22,2 (20,8-23,6)*	21,5 (18,9-24,1)	21,3 (18,9-23,6)
Избыток оснований ABE, моль/л	-5,4 [-8,5;-5,2]	-2,1 [-4,0;-1,9]*	-2,4 [-5,7;-2,2]*	-2,6 [-5,0;-2,5]*
Избыток оснований SBE, моль/л	-5,8 [-9,2;-5,8]	-2,0 [-5,4;-1,3]*	-2,6 [-4,1;-2,0]*	-3,9 [-4,8;-2,8]*

Примечание: * - различия статистически достоверны, $p \leq 0,05$.

Нам представляется весьма важным в полном объеме, в меру возможностей испытательной лаборатории, провести комплекс токсиколого-гигиенических испытаний кумулятивных свойств регуляторов роста растений (ранжирование их кумулятивности следует проводить по [40 – 44]), при этом, по возможности, дать оценку патогенетической значимости изменений (проявлений симптомо-синдромального комплекса химической болезни) в организме в качестве критериальных сдвигов, учитываемых в процедуре гигиенического регламентирования.

Безусловно, во время второго этапа токсиколого-гигиенических исследований регуляторов роста растений необходимо исследовать возможные проявления их гонадотоксических, тератогенных, эмбриотоксических свойств, методическая база которых во временном режиме основана, в основном, на «субхроническом» эксперименте.

Репродуктивная токсичность

Наиболее удобным тест-объектом для изучения показателей репродуктивной токсичности (с учетом показателей эмбриотропного, тератогенного и гонадотропного действия) регуляторов роста растений являются белые крысы. Выбор белых крыс обусловлен тем, что крысы и человек имеют одинаковый гемохориальный тип плаценты и у них редко возникают спонтанные аномалии развития. При этом, длительность беременности у крыс составляет 22 дня. В токсикологическом эксперименте с успехом применяется метод, предложенный А.А. Динерманом, суть которого заключается в комбинированной схеме постановки эксперимента по изучению эмбриотоксического и тератогенного действия с

учетом состояния потомства в постнатальном периоде [46]. При использовании данной схемы эксперимента обязательным является изучение показателей тератогенного действия - наличие аномалий развития внутренних органов эмбрионов, которые определяют с помощью метода сагиттальных срезов, предложенного W. Wilson в модификации [47].

Эксперименты по изучению гонадотропного действия проводят на самцах белых беспородных крыс при ежедневном интрагастральном введении исследуемого вещества. Функциональное состояние сперматозоидов определяют по показателям продолжительности подвижности сперматозоидов с учетом количества подвижных и неподвижных сперматозоидов. Фиксируют также изменения ряда функциональных и морфометрических показателей гонад, характеризующих генеративную функцию животных, включая ОКМ (относительные коэффициенты массы) семенников и придатков.

В соответствии с указанным подходом изучен регулятор роста растений ГЭ-АЛК [48] при однократном внутрижелудочном введении самкам белых крыс в дозе, кратной 1/2 от DL_{50} (3900 мг/кг), в критические сроки беременности на 1-й и 4-й дни и при ежедневной экспозиции в течение всей беременности в дозе, кратной 1/40 от DL_{50} (195 мг/кг) не обладает эмбриотропным и тератогенным действием, также, не оказывает влияния на постнатальное развитие потомства. Введение самкам 3900 мг/кг препарата на 9-й день беременности приводило к отставанию физического развития их потомства по показателям массы и длины тела к 60-му дню наблюдения.

Доза ГЭ-АЛК 110 мг/кг при многократном введении самцам белых крыс не приводила к изменению функциональных и морфометрических показателей гонад. Введение самцам крыс ГЭ-АЛК в дозе 440 мг/кг оказывало гонадотропное действие, что выражалось в увеличении ОКМ семенников и снижении продолжительности движения сперматозоидов.

В условиях одно- и многократного внутрижелудочного введения определены недействующие уровни ГЭ-АЛК на репродуктивные функции белых крыс: по показателям, характеризующим эмбриотропное действие - 195 мг/кг, по показателям гонадотропного действия - 110 мг/кг. Таким образом, при изучении ГЭ-АЛК эмбриотропный и гонадотропный эффекты воздействия зарегистрированы только на фоне поступления массивных доз, приводящих к интоксикации родительских организмов, следовательно, изменение показателей репродуктивной системы следует рассматривать как признаки проявления общетоксического действия.

Влияние 24-эпибрассинолида на показатели репродуктивной токсичности и тератогенности изучены Л.А. Наджарян с соавторами в соответствии с международными рекомендациями OECD [49] на белых крысах [50] и моллюсках *L. Stagnalis* [51]. Использование тест-организмов различных иерархических уровней организации биологических систем, безусловно, повышает информативность и является сильной стороной данного исследования.

Так, внутрижелудочное воздействие 24-эпибрассинолида не выявило у самцов крыс изменений функциональных и морфометрических показателей гонад, характеризующих генеративную функцию. Масса придатков, семенников, количество подвижных и неподвижных сперматозоидов, время движения сперматозоидов не отличались от показателей самцов крыс в контроле.

При внутрижелудочном введении 24-эпибрассинолида беременным самкам однократно в критические сроки беременности и в течение беременности отмечалось снижение размеров и массы плодов. Также, при однократном введении 24-эпибрассинолида беременным самкам в первый день беременности в дозе 2×10^{-4} мг/кг постнатальная смертность потомства на протяжении 60 суток наблюдения превышала контрольные значения. При микроанатомическом исследовании срезов эмбрионов патологии внутренних органов не обнаружено. Время открытия глаз, отлипания ушей, покрытия шерстью, самостоятельного передвижения и поедания корма у всех крысят было практически одинаковым. Максимально недействующая (подпороговая) доза 24-эпибрассинолида в опыте по изучению

репродуктивной токсичности и тератогенности на белых крысах составила 2×10^{-5} мг/кг.

В эксперименте на моллюсках *L. Stagnalis* при воздействии 24-эпибрассинолида в концентрации 5 мг/л зарегистрированы изменения показателей эмбрионального развития, что выражалось в раннем появлении кладок, снижении массы капсул и увеличении эмбриональной гибели. Общее количество нарушений развития в течение 15 суток наблюдения превысило контроль в 6 раз.

Таким образом, 24-эпибрассинолид оказывает эмбриотропное действие на организм белых крыс, которое выражалось в задержке эмбрионального развития (снижение показателей размеров и массы плодов) и постнатального развития (по показателю постнатальной гибели), также, на прудовике зарегистрированы аналогичные нарушения развития, выражающиеся в снижении массы капсул и увеличении эмбриональной гибели.

Современные подходы к изучению влияния химических факторов среды обитания на репродуктивную функцию требуют рассмотрения опасных свойств ряда пестицидов и фитоэстрогенов с точки зрения их способности нарушать нормальный гормональный баланс, выступая в роли эффекторов эндокринной системы (ЭЭС). Данная группа ксенобиотиков представляет значительную опасность для потомства в периоде внутриутробного развития. А.Н. Стожаров [34] выделяет три основные группы ЭЭС: естественные (фитоэстрогены), лекарственные (например, диэтилстильбэстрол) и антропогенные или ксеноэстрогены (фталаты, отдельные пестициды, полихлорированные бифенилы, диоксины и фураны). Воздействие ЭЭС на человека приводит к нарушениям репродуктивной функции, полового и психомоторного развития детей, возникновению ряда патологий (например, эндометриоз и гипертрофия щитовидной железы), в.ч. злокачественных новообразований мочеполовой системы у мужчин, угнетению иммунной системы.

Рассматриваемый в данном обзоре 24-эпибрассинолид по сути является синтетическим фитогормоном, однако, учитывая преднамеренность его внесения человеком в окружающую среду в качестве средства защиты растений, предлагаем классифицировать его, наряду с иными пестицидами, в качестве ксеноэстрогена. Такой подход позволит объединить в одну группу пестициды, регуляторы роста растений и другие средства агрохимизации для разработки токсиколого-гигиенических критериев оценки способности средств защиты растений нарушать работу эндокринной системы. В дальнейшем с учетом выявленных критериев вреда, наносимого эндокринной системе, требуется создание системы оценки риска здоровью пестицидов как ЭЭС.

Хроническая токсичность

Основой гигиенического регламентирования загрязнителей объектов окружающей среды является хронический эксперимент, цель которого состоит в определении зависимостей «доза-эффект», «доза-время-эффект»; в выяснении отдельных сторон механизма токсического действия в условиях длительного воздействия с выявлением избирательности повреждений органов и систем организма [52]. Центральной проблемой хронического исследования есть и остается установление пороговых концентраций и связанная с ней проблема границ между нормой и патологией при длительном воздействии химического соединения [43]. Также, наряду с определением пороговых доз в системе токсикометрических данных чрезвычайно существенно определение степени опасности хронического действия вредных веществ, т.е. степени их кумулятивной активности при малой интенсивности вредного агента [52].

Одним из основных критериев опасности хронического отравления применительно к регуляторам роста растений является величина пороговой дозы при дозомонотонном пероральном воздействии на наиболее чувствительном виде животных. Продолжительность эксперимента зависит от длительности воздействия химического соединения в реальных условиях. Так, например, для гигиенического нормирования пестицидов в продуктах питания применяют экспозицию от 4-6 до 10-12 месяцев в зависимости от рациона питания в

течение года [52]. Также, приемлемым считается подход, при котором срок экспозиции составляет не менее четверти жизни животного [8].

Решение вопроса установления порога хронического действия регуляторов роста растений возможно только при правильном выборе медико-биологических показателей, сдвиги которых отвечают критерию вредности (обладают гигиенической значимостью). Для доказательства вредности сдвигов недостаточно только статистически достоверных отклонений величин показателей от контрольных значений, при этом, необходимо установить параллели между результатами биохимических, физиологических, морфологических и других исследований.

В этой связи уместно рассмотреть положения, выдвинутые И.М. Трахтенбергом с соавторами [52], определяющие основные подходы к выбору показателей токсического действия химических и биологических загрязнителей:

1) В условиях хронического эксперимента исследователь должен ориентироваться на патологические изменения функции, метаболизма и структуры систем организма и оценивать на фоне отсутствия видимых нарушений изменения адаптационных возможностей организма или сужение диапазона компенсаторных реакций;

2) Необходимо дифференцировать подходы к выбору показателей и методов исследования для изучения факторов, к которым в ходе филогенеза выработаны приспособительные механизмы и факторов, с которыми человек соприкасается преимущественно в связи с профессионально-производственной деятельностью или в условиях проживания в среде, загрязненной химическими или биологическими препаратами;

3) Учитывать степень вариабельности количественных характеристик показателей, которые у лабораторных животных подвержены значительным сезонным и ежедневным колебаниям (знать пределы этих колебаний);

4) Осуществлять выбор показателей и тестов, характеризующих состояние как целостного организма, так и его уровней организации: системного, органного, тканевого, клеточного и субклеточного. В токсикологии указанному подходу в известной мере соответствует деление показателей на интегральные и специфические.

В соответствие с указанными подходами изучена хроническая токсичность 24-эпибрассинолида при внутрижелудочном введении белым крысам, состояние которых оценивалось по изменению морфо-функциональных, биохимических и физиологических показателей [53]. При анализе гематологических показателей обнаружено уменьшение количества эритроцитов, отмечено увеличение средней концентрации гемоглобина в эритроците, снижение гематокрита, снижение среднего объема эритроцитов. При изучении биохимических показателей сыворотки крови установлено повышение уровня общего билирубина, снижение активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Результаты изучения функционального состояния почек свидетельствуют, что при введении 24-эпибрассинолида снижается экскреция креатинина и ионов калия на фоне увеличения диуреза.

Патоморфологическое и гистохимическое исследование подопытных крыс, получавших 24-эпибрассинолид выявило ряд дистрофических изменений печени, в почках присутствуют признаки расстройства кровообращения в виде полнокровия клубочков, в сердце наблюдали полнокровие сосудов с явлениями стаза, что говорит о нарушении кровообращения, в надпочечниках отмечена тенденция к увеличению пучковой зоны коркового слоя, в щитовидной железе наблюдали полнокровие сосудов, пролиферацию околофолликулярных клеток и дозозависимую тенденцию к увеличению диаметра фолликулов.

По результатам исследования обоснован порог хронического действия 24-эпибрассинолила на уровне 2×10^{-5} мг/кг, величина максимально недействующей дозы составила 2×10^{-6} мг/кг.

Как показали результаты изучения хронической токсичности при интрагастральном поступлении в организм белых крыс ГЭ-АЛК оказывает влияние на функционирование

нервной системы, при этом, состояние животных характеризуется нарушением выделительной функции почек [54]. При длительном введении ГЭ-АЛК отмечены статистически значимые изменения в поведении подопытных животных, выражающиеся в достоверном увеличении показателя груминга. Также, многократное введение ГЭ-АЛК приводило к статистически достоверному дозозависимому увеличению порога возбудимости у крыс. Со стороны показателей состояния мочевыводящей системы подопытных животных, получавших ГЭ-АЛК на протяжении 6 месяцев отмечено снижение величины показателя водородных ионов, снижение суточного диуреза и клиренса креатинина. Наименьшая действующая (пороговая) доза ГЭ-АЛК установлена на уровне 30 мг/кг, подпорогая величина составила 11 мг/кг.

Заключение

На современном этапе наших представлений основные проблемы токсиколого-гигиенического обеспечения безопасного для здоровья населения обращения регуляторов роста растений следующие.

Первая – дальнейшее совершенствование критериев токсиколо-гигиенической оценки регуляторов роста растений. Необходимым представляется разработка количественных критериев прогнозирования вероятности перехода показателей токсичности и потенциальной опасности этих веществ, устанавливаемых в экспериментах на животных и других тест-объектах, в реальную опасность риска здоровья населения, учитывая физиологические особенности различных исследуемых организмов и всю гамму сложных взаимосвязей и взаимодействий организма человека и среды его обитания.

Исходя из насущных потребностей практики, представляется необходимо адаптировать к токсиколого-гигиеническим задачам исследования приемлимые критерии оценки фактического значения выявляемых в эксперименте закономерностей и механизмов формирования реакций организма теплокровных и тест-моделей на воздействие регуляторов на организменном, системном, органном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном (генном) уровнях с использованием патогенически значимых, биомаркерных и интегральных показателей, включая универсальные механизмы развития адаптации и компенсации, оценку состояния иммунной, нервной, гормональной, антиоксидантной и других защитных систем организма [55]. В конечном итоге необходимо предложить критерии для дифференцирования приспособительных реакций организма от пред- и патологических проявлений [27, 44, 52].

Вторая – совершенствование на основе результатов современных токсиколого-гигиенических научных исследований принципов и методов гигиенического нормирования регуляторов роста растений в объектах среды обитания человека, с учетом методологии анализа риска здоровью [56, 57]. Успехи в этом деле находятся в прямой зависимости от решения первой проблемы.

Третья – теоретическое обоснование прогнозирования опасностей для живой природы и человека, включая анализ риска его здоровью, которые могут возникать в результате систематической циркуляции регуляторов роста растений и их возможного накопления в объектах среды обитания человека. Указанные аспекты представляется возможным изучать с использованием методологических основ медицинской популяционной токсикологии [58].

Четвертая – дальнейшее теоретическое обоснование и совершенствование классификации регуляторов роста растений в зависимости от их физико-химических свойств, силы токсического действия (с учетом экспозиционных и поглощенных доз), способности вызывать разнообразные патологические эффекты в организме с учетом их влияния на риск здоровью населения) и т.д. [57].

Перечисленные научно-практические проблемы продиктованы объективными потребностями практики отечественного здравоохранения и агропромышленного комплекса страны. Существует обоснованное убеждение, что решение данных актуальных проблем токсикологии регуляторов роста растений возможно при расширении исследований по

метаболизму этих соединений и механизму их действия; при активном изучении поведения регуляторов в среде обитания человека и отдаленных последствий их действия; при гигиеническом регламентировании.

Список литературы

1. Биологический энциклопедический словарь / гл. ред. М. С. Гиляров, редкол.: А.А. Бабаев [и др.]. – 2-е изд., испр. – М. : Сов. Энциклопедия, 1986. – 831с.
2. Токсиколого-гигиеническая оценка регуляторов роста растений : инструкция № 1.1.11-12-210-2003 : утв. постановлением Гл. гос. врача Респ. Беларусь № 219 от 31.12.2003 / А.И. Котеленец [и др.] // Сб. офиц. док-тов по мед. тр. и произв. санит. – Минск, 2004. – Ч. 14. – С. 63–117.
3. Мельников, Н.Н. Пестициды и регуляторы роста растений : справ. изд. / Н.Н. Мельников, К.В. Новожилов, С.Р. Белан. – М.: Химия, 1995. – 576 с.
4. Регуляторы роста растений / под ред. В.С. Шевелухи. – М. : Агропромиздат, 1990. – С. 6–35.
5. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification / WHO. – Geneva, 2010. – 78 с.
6. Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь : справ. изд. / сост. Л.В. Плешко [и др.]. – Минск : Промкомплекс, 2014. – 627 с.
7. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ : инструкция : утв. Мин-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.04. – Минск, 2004. – 43 с.
8. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов № 4263-87 / ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластмасс ; сост. Е.А. Антонова [и др.]. – Киев, 1988. – С. 55–67.
9. Закономерности связи «структура-активность-токсичность» регуляторов роста и развития растений / С.А. Кирлан [и др.] // Башкир. хим. журн. – 2011. – Т. 18, вып. № 2. – С. 52-60.
10. Наджарян, Л.А. Медико-биологические аспекты безопасного применения фиторегуляторов / Л.А. Наджарян // Белор. мед. журн. – 2004. – №2. – С. 69–71.
11. ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : введ. 17.12.1992 г. // Система стандартов безопасности труда : сб. стандартов. – Минск, 2008. – Ч. 1. – С. 183-186.
12. Наджарян, Л.А. Токсиколого-гигиеническая оценка эпибрасинолида / Л.А. Наджарян, А.С. Богдан, А.И. Котеленец // Тез. докл. 2-го съезда токсикологов России. – М.: Рос. регистр потенциально опасных хим. и биол. веществ Минздрава России, 2003. – С. 178.
13. Оценка токсичности регуляторов роста растений Эпин и Эпин плюс *in vivo* / Л.А. Наджарян [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С.М. Соколов. – Минск, 2006. – Вып. 8. – С. 610–618.
14. Научное обоснование ориентировочно безопасного уровня воздействия в воздухе рабочей зоны регулятора роста растений из бурого угля / Ю.А.Соболь [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены ; гл.ред. В.П. Филонов. – Минск, 2009. – С.427-436.
15. Количественная характеристика токсичности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях однократного внутрижелудочного поступления // Е.К. Власенко [и др.] / Новости мед.-биол. наук. – 2015. – Т.11, №2. – С. 158-162.
16. Принципы изучения болезней предположительно химической этиологии и их профилактика : пер. с англ. / подгот. Междунар. комис. по защите от мутагенов и канцерогенов окруж. среды. – М. : Медицина, 1990. – 76 с. – (Гигиенические критерии состояния окружающей среды 72 / ВОЗ).

17. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
18. Сидоров, К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // Токсикология новых пром. хим. веществ. – Л. : Медицина. – 1973. – Вып. 13. – С. 47 – 51.
19. Гуськова, Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований / Т.А. Гуськова // Токсикол. вестн. – 2010. – №5. – С. 2 – 5.
20. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 : утв. Постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь 28.03.2008, № 56. – Введ. 01.05.2008. – Минск, 2008. – 35 с.
21. Половинкин, Л.В. Токсикология и основы гигиенического регламентирования моно- и бициклических терпеновых соединений / Л.В. Половинкин. – Минск : Тонпик, 2007. – 168 с.
22. Токсиколого-гигиенические и медико-биологические аспекты изучения терпеновых соединений / В.И. Талапин [и др.] // Гигиена труда и охрана окружающей среды в химической промышленности : сб. науч. тр. – Н.Новгород, 1991. – С. 158 – 162.
23. Власенко, Е.К. Особенности токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях одно- и многократного внутрижелудочного введения / Е.К. Власенко [и др.] // Токсикол. вестн. – 2015. – №5. – С.31 – 36.
24. Гацура, В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М. : Медицина, 1974. – 143 с.
25. Способ получения регулятора роста, препарата «Глифур», повышающего устойчивость растений к засухе (РФ № 2138164) // Громачевская и др., 1999.
26. Методы определения токсичности и опасности химических веществ / под ред. И.В. Саноцкого. – М. : Медицина, 1970. – 344 с.
27. Каган, Ю.С. Общая токсикология пестицидов / Ю.С. Каган. – Киев : Здоров'я, 1981. – 176 с.
28. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Рига : Изд-во Акад.наук Латв.ССР, 1959. – 115 с.
29. Алексеева, О.Г. Аллергия к промышленным соединениям / О.Г. Алексеева, Л.А. Дуева. – Медицина, 1978. – 272 с.
30. Иммунологические аспекты токсичности субхронического ингаляционного воздействия эпибрассинолида / Л.А. Наджарян [и др.] // Экологические проблемы профпатологии, гигиены труда, токсикологии и аллергологии : сб. материалов науч.-практ. конф. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2004. – С. 106–108.
31. Изучение сенсibiliзирующих свойств эпибрассинолида / Л.А. Наджарян [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С.М. Соколов. – Барановичи, 2005. – Вып. 6. – С. 161–163.
32. Оценка биохимического статуса белых крыс при воздействии гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в субхроническом эксперименте // Е.К. Власенко [и др.] / Вестник ВМГУ. – 2015. – Т. 14, №6. – С.104 – 111.
33. Методические материалы по экспериментальному (фармакологическому) и клиническому испытанию иммуномодулирующего действия фармакологических средств / Р.В. Петров [и др.]. – М., 1984. – 37 с.
34. Стожаров, А.Н. Медицинская экология : учеб. пособие / А.Н. Стожаров. – Минск, Вышэйшая школа, 2007. – 368 с.
35. Ракицкий, В.Н. Стратегия и тактика оценки мутагенности пестицидов / В.Н. Ракицкий, Ю.А. Ревазова, Н.А. Илюшина // Токсикол. вестн. – 2015. – №5. – С.10 – 12.

36. 24-Эпибрассинолид модифицирует пролиферацию и апоптоз эмбриональных фибробластов / И.И. Конева [и др.] // Новости мед.-биол. наук (News of Biomedical Sciences). – 2005. – №2 – С. 112–117.

37. Оценка потенциальной мутагенной активности 24-эпибрассинолида / А.М. Войтович [и др.] // Цитология и генетика. – 2004. – Том 38, №6. – С. 49–53.

38. Показатели мутагенной активности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в тестах *in vitro* / Е.К. Власенко [и др.] // Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе : материалы междунар. науч.-практ. конф. – Минск, – 2015. – С.290-293.

39. Изучение мутагенной активности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в тестах *in vitro* / Е.К. Власенко [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл.ред. С.И. Сычик. – Минск: РНМБ, – 2015. – Вып. 25, т. 2. – С.79-82.

40. A method for the evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R.K. Lim [et al.] // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. – 1961. – V.130. – P. 336-353.

41. Каган, Ю.С. Коэффициент кумуляции как количественный критерий / Ю.С. Каган, В.В. Станкевич // Актуальные вопросы гигиены труда, промышленной токсикологии и профессиональной патологии в нефтяной и нефтехимической промышленности. – Уфа, 1964, С. 48 – 49.

42. Медведь, Л.И. Пестициды и проблемы здравоохранения / Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спыну // Журн. Всесоюзн. хим. о-ва им. Д.И.Менделеева. – 1968. – Т. 13, № 3. – С. 263 – 271.

43. Голиков, С.Н. Общие механизмы токсического действия / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. – Л., 1986. – 280 с.

44. Общая токсикология / под ред. Б.А. Курляндского, В.А. Филова. – М. : Медицина, 2002. – 608 с.

45. Показатели гемопоэза и стероидного обмена у животных при воздействии эпибрассинолида / Л.А. Наджарян [и др.] // Современ. проблемы токсикологии. – 2006. – №2. – С. 43–48.

46. Динерман, А.А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития : монография / А.А. Динерман. – М. : Медицина, 1980. – 192 с.

47. Дыбан, А.П. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ / А.П. Дыбан, В.С. Баранов, И.М. Акимов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1970. – Т. 59. – С.89 – 100.

48. Особенности влияния гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты на репродуктивные функции белых крыс / Е.К. Власенко [и др.] // Вестник ВМГУ. – 2015. – Т.14. – С.78-84.

49. Appraisal of test methods for sex hormone disrupting chemicals. Envir. health and safety publ. ser. on testing and assessment №21: Detailed review paper // OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. – Paris: OECD, 2002. – Vol. 1, № 5. – 313 p.

50. Воздействие эпибрассинолида на репродуктивную функцию животных / Л.А. Наджарян [и др.] // Новости мед.-биол. наук. – 2005. – №1. – С. 96–100.

51. Репродуктивные показатели прудовика (*Lymnea stagnalis*) после воздействия 24-эпибрассинолидом / В.Ю. Афонин [и др.] // Тез. II съезда токсикологов Украины. – Киев, 2004. – С. 189–190.

52. Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей / под ред. И.М. Трахтенберга. – Рига : Зинатне, 1987. – 172 с.

53. Изменение показателей метаболизма у крыс в условиях длительного воздействия эпибрассинолида / А.И. Котеленец [и др.] // Здравоохранение. – 2005. – №6. – С. 44–47.

54. Власенко, Е.К. Токсикологическая характеристика гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях хронического воздействия на белых крысах и в пролонгированном эксперименте *in vitro* / Е.К. Власенко // Труды БГУ. – 2014. – Т. 9, ч. 2. – С. 209-217.

55. Ракитский, В.Н. Проблемы и перспективы профилактической токсикологии / В.Н. Ракитский // IV съезд токсикологов России : сб. тр. / под. ред. Г.Г. Онищенко, Б.А. Курляндского ; Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М. : Capital Press. 2013. – С. 30-33.

56. Методология оценки рисков здоровью населения при воздействии химических, физических и биологических факторов для определения показателей безопасности продукции (товаров). – М. : Юмните медиа, 2014. – 120 с.

57. Ракитский, В.Н. Оценка риска при воздействии пестицидов на население / В.Н. Ракитский, Т.А. Сеницкая // IV съезд токсикологов России : сб. тр. / под. ред. Г.Г. Онищенко, Б.А. Курляндского ; Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М. : Capital Press. 2013. – С. 393-395.

58. Шандала, М.Г. Химическая безопасность: популяционный подход / М.Г. Шандала // IV съезд токсикологов России : сб. тр. / под. ред. Г.Г. Онищенко, Б.А. Курляндского ; Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М.: Capital Press. 2013. – С. 53-55.

METHODOLOGICAL ASPECTS OF TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC EVALUATION OF PLANT GROWTH REGULATORS

E.K. Vlasenko, S.I. Sychik

*Republican unitary enterprise «Scientifically Practical Center of Hygiene», Minsk, Belarus
e-mail: evgenii_vlasenko@mail.ru, rspch@rspch.by*

Plant growth regulators are physiologically active substances of natural origin or artificially synthesized, which belong to various classes of chemical compounds and the conditions applying agro purposefully affect the intensity and direction of the process plant morphogenesis. The use of these substances improves productivity, improve quality, harvesting conditions and storage of harvest. To date, the scientific and practical aspects of the regulation of these funds and their content in a secure human environment objects should be further improved. The review presented a phased scheme of toxicological and hygienic assessment of plant growth regulators, based on years of research by Belarussian scientists, it actualized practical methodology and developed a number of theoretical issues of medical and biological tests. These scientific and practical problems dictated by the objective needs of the practice of national health care and agriculture of the country.