

ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО “НАУКОВИЙ ЦЕНТР ПРЕВЕНТИВНОЇ
ТОКСИКОЛОГІЇ, ХАРЧОВОЇ ТА ХІМІЧНОЇ БЕЗПЕКИ ІМЕНІ АКАДЕМІКА
Л.І. МЕДВЕДЯ МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ”

КОЛЯНЧУК ЯНА ВІТАЛІЇВНА

УДК 615.9:632.95:591.16

**РЕПРОДУКТИВНА ТОКСИЧНІСТЬ ГЕНЕРИЧНИХ ЗРАЗКІВ
СИНТЕТИЧНОГО ПІРЕТРОЇДУ ЛЯМБДА-ЦИГАЛОТРИНУ ДЛЯ ЩУРІВ
WISTAR HANNOVER ПРИ ДІЇ В ПЕРІОД ГАМЕТОГЕНЕЗУ**

14.03.06 – токсикологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2020

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Державному підприємстві “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України

ПРОДАНЧУК Микола Георгійович,

ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”, директор

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор

КОВАЛЕНКО Валентина Миколаївна,

ДУ “Інститут фармакології та токсикології НАМН України”,
завідувач відділу токсикології

доктор біологічних наук, професор

ТОМАШЕВСЬКА Людмила Анатоліївна,

ДУ “Інститут громадського здоров’я ім. О.М. Марзєєва НАМН України”, завідувач лабораторії токсикології

Захист відбудеться “_____” червня 2020 р. о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.630.01 у ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України” за адресою: 03127, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 6.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України” за адресою: 03127, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 6.

Автореферат розісланий “_____” травня 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.630.01,
кандидат медичних наук

Г.І. Петрашенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Широке використання пестицидів призвело до зростання проблем зі здоров'ям у людей і тварин у всьому світі, оскільки хімічні засоби захисту рослин впливають на цільові та нецільові об'єкти, зокрема на людський організм (Basir A., 2011; Tahir T., 2012; Bakhsh K., 2012; Verger P., 2013). У зв'язку з цим проблема попередження потенційно небезпечного впливу пестицидів на здоров'я людини є одним з пріоритетних завдань превентивної токсикології. Дослідження потенційної репродуктивної токсичності пестицидів є обов'язковою складовою під час їхньої токсиколого-гігієнічної регламентації (Проданчук М.Г., 2005), оскільки є всі підстави припускати, що вони роблять вагомий внесок у порушення репродуктивної функції.

Функціонування репродуктивної системи являє собою унікальний, надзвичайно складний, тонко збалансований процес, що починається з закладки, диференціювання, росту та дозрівання статевих клітин, закінчується відтворенням потомства. Будь-який негативний вплив на ці етапи може призвести до імпотенції, порушення менструального циклу, зниження плодючості, спонтанних викиднів, низької ваги плоду тощо. Взаємодія та регулювання всіх репродуктивних процесів забезпечується нейроендокринною системою “гіпоталамус – гіпофіз – статеві залози” (Вигле Д., 2008). Отже, на сьогодні дуже важливою й актуальною проблемою є з'ясування можливих механізмів, що залучаються до патофізіологічних наслідків дій хімічних речовин.

Аналіз літературних джерел показав, що нині значна кількість пестицидів мають здатність деструктивно впливати на ендокринну регуляцію репродуктивної системи та призводять до порушень функції відтворення (Diamanti-Kandarakis E., 2009; Mnif W., 2011; Balabanic, 2011). Згідно з визначенням ВООЗ, “ендокринний деструктор (ЕД) – це екзогенна речовина або суміш, що змінює функцію ендокринної системи й, отже, спричиняє несприятливі наслідки для здоров'я людини або її потомства, або в (під) популяції (2002 р.)” (WHO, 2014). Ендокринно-деструктивні ознаки багатьох пестицидів обумовлені їхньою структурною подібністю до природних гормонів: зв'язуючись з ядерними або мембранними рецепторами, порушують гомеостатичні механізми процесів життєдіяльності живих організмів. Відомо, що пестициди класу синтетичних піретроїдів (СП), використання яких упродовж останніх років невпинно зростає, володіють ендокринно-деструктивними властивостями (Jin M., 2010; Kim C.W., 2015; Zhang Q., 2017). Найуживанішим інсектицидом цього класу є лямбда-цигалотрин (ЛЦТ), СП II типу. Але досі досліджень репродуктивної токсичності оригінальної молекули ЛЦТ не проводилося. Оцінка ризику репродуктивної токсичності ЛЦТ здійснювалася на основі екстраполяції даних, отриманих з експерименту на трьох поколіннях тварин із цигалотрином (EFSA, 2014).

У зв'язку з вищевикладеним актуальними є з'ясування гонадо- та репродуктивної токсичності СП ЛЦТ, його впливу на ендокринну систему щурів, оцінка потенційної небезпечності для людини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з основним планом науково-дослідних робіт ДП “Науковий

центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України” “Наукове обґрунтування сучасних нормативних вимог до застосування пестицидів і агрохімікатів: прогнозування віддалених ефектів дії (канцерогенної, мутагенної, тератогенної активності, репродуктивної токсичності, хронічних інтоксикацій)” (№ держреєстрації 0108U007458).

Мета дослідження. Ідентифікація та характеристика небезпеки репродуктивної токсичності шести генеричних препаратів синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину в експерименті на самцях і самицях щурів Wistar Hannover в умовах їх впливу в період гаметогенезу.

Завдання дослідження:

1. Ідентифікувати небезпеку репродуктивної токсичності шести зразків лямбда-цигалотрину при впливі на самиць щурів Wistar Hannover.
2. Ідентифікувати небезпеку репродуктивної токсичності шести зразків лямбда-цигалотрину при впливі на самців щурів Wistar Hannover.
3. Оцінити характер впливу шести тестових сполук лямбда-цигалотрину на фертильність самців і самиць у досліджуваних умовах експерименту.
4. Встановити характер змін морфо-функціонального стану гонад самиць і самців при дії шести зразків лямбда-цигалотрину.
5. Визначити рівень вмісту тестостерону в крові в самців після закінчення експозиції лямбда-цигалотрином упродовж 11 тижнів гаметогенезу.
6. Дослідити зворотність індукованих порушень стану гонад і зміни рівня вмісту тестостерону в самців після 10-тижневого відновлювального періоду.
7. Оцінити спектр токсичних змін репродуктивної функції самиць і самців під впливом кожного зразка лямбда-цигалотрину, визначити статеву чутливість, характер токсичної дії на стан репродуктивної функції щурів залежно від діючої дози, встановити механізм патогенезу виявлених змін і критеріальну значущість досліджуваних параметрів.

Об'єкт дослідження: репродуктивна система самців і самиць щурів, показники рівнів тестостерону, процес сперматогенезу, цитогормональний стан естрального циклу, функція відтворення потомства, лямбда-цигалотрин.

Предмет дослідження: репродуктивна токсичність лямбда-цигалотрину при впливі на самців і самиць щурів у період гаметогенезу.

Методи дослідження: токсикологічні, морфометричні, мікроскопічні, цитологічні, макроскопічні, аналітичні, мас-спектрометричні та статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше:

- вивчена репродуктивна токсичність СП ЛЦТ, ідентифікована й охарактеризована репродуктивна токсичність шести генеричних субстанцій СП ЛЦТ;
- встановлена статеву чутливість до впливу тестових субстанцій ЛЦТ, показано, що більш виражена системна та репродуктивна токсичність спостерігалася в самців щурів, ніж у самиць;
- доведено, що СП ЛЦТ у досліджуваних умовах експерименту виявляє ендокрин-деструктивні властивості, притаманні незворотним ксеноагоністам

естрогенних рецепторів із середнім ступенем активності, спричиняючи антиандрогенний ефект, що характеризується порушенням процесів сперматогенезу й олігоспермією, коливаннями кількісного вмісту тестостерону в сироватці крові піддослідних самців;

- продемонстровано, що ЛЦТ спричиняє дозозалежні порушення сперматогенезу, характерні для пошкодження клітин Сертолі та сперматогоніальної популяції гермінативних клітин;

- встановлено, що характер дозозалежності токсичного ефекту ЛЦТ на сперматогенез носить лінійний характер, тоді як відповідна реакція рівня вмісту тестостерону на збільшення дози є немонотонною;

- встановлений характер незворотності антиандрогенного ефекту ЛЦТ після 10 тижнів відновного періоду, що дозволяє припустити можливість повної незворотності виявлених токсичних ефектів.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дисертаційної роботи використані для оцінки потенційної небезпечності ЛЦТ для людини, при обґрунтуванні гігієнічних нормативів і регламентів безпечного застосування в сільському господарстві препаративних форм на основі діючої речовини ЛЦТ (“Стайліс ЕС, КЕ” – № 602-123-20-6/41160 від 29.12.2017 р., “Контадор Дуо, КС” – № 602-123-20-6/5788 від 15.02.2018 р., “Еспада, КС” – № 12.2-18-6/20094 від 09.09.2019 р.) та вирішенні питання щодо їх реєстрації в Україні.

Основні положення дисертаційної роботи впроваджені на кафедрі військової токсикології, радіології та медичного захисту Української військово-медичної академії в навчальний матеріал програми спеціалізації за спеціальністю “Токсикологія” (акт впровадження від 22.10.2019 р.), кафедрі загальної практики – сімейної медицини медичного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна в курсі “Професійні хвороби” (акт впровадження від 04.11.2019 р.), а також у підрозділі токсикологічного профілю Київської міської лікарні швидкої медичної допомоги в період 2019-2020 рр. (акт впровадження від 15.10.2019 р.).

Особистий внесок здобувача. Здобувачем особисто проаналізована вітчизняна та закордонна література за темою дослідження, узагальнені отримані дані з обраної проблеми, сформульовані тема, мета та завдання дисертаційної роботи, обрані методи досліджень. Автором відпрацьовані методи, проведені експериментальні дослідження, статистична обробка та систематизація отриманих даних. Результати досліджень обговорені та проаналізовані за консультативної допомоги доктора медичних наук Н.Р. Шепельської. Обговорення результатів досліджень і формулювання висновків здійснені разом з науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень, викладені в дисертації, оприлюднені на: засіданнях вченої ради ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України” (2015-2018 рр.), 51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX) (м. Порто, Португалія, 13-16 вересня 2015 р.); 5th Croatian Congress of Toxicology “CROTOX-2016” (м. Пореч, Хорватія, 9-12 жовтня 2016 р.); 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018) “Toxicology out of the box” (м. Брюссель, Бельгія, 2-5 вересня 2018 р.), 55th Congress

of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019) “Toxicology – science providing solutions” (м. Хельсінкі, Фінляндія, 8-11 вересня 2019 р.); Fourth Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium (м. Київ, 20-24 травня 2019 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковані 13 наукових праць, зокрема 6 статей (2 одноосібні й 1 оглядова, що додатково відображає наукові результати дисертації), 5 з яких на сьогодні входять до переліку фахових видань, рекомендованих МОН України, 7 тез доповідей у матеріалах з'їздів, наукових симпозіумів, зокрема з міжнародною участю.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 174 сторінках комп'ютерного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Дисертація ілюстрована 47 рисунками, 21 таблицею. Список використаної літератури містить 242 джерела, зокрема 28 – кирилицею, 214 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У розділі “Огляд літератури” висвітлені сучасні уявлення про репродуктивну токсичність хімічних речовин, зокрема пестицидів, методологічні підходи до їх вивчення. Проведений аналітичний огляд вітчизняної й іноземної літератури щодо питання дії пестицидів як ЕД, проблеми їхнього впливу на репродуктивну систему. Наведена характеристика СП ЛЦТ та виявлено, що вплив даної сполуки на репродуктивну функцію вивчений недостатньо. Аналіз літератури дав можливість обґрунтувати доцільність дослідження гонадотоксичної активності ЛЦТ при впливі на самців і самиць щурів у період гаметогенезу.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконані згідно з принципами GLP (Good Laboratory Practice, Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004) і стандартних операційних процедур, розроблених відповідно до рекомендацій і вимог OECD 415 (One-Generation Reproduction Toxicity Study).

Самці та самиці щурів лінії Wistar Hannover були отримані з SPF розплідника ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України” віком 5-6 тижнів і масою тіла 80-100 г. Усі експерименти з тваринами були проведені згідно з вимогами та положеннями Комісії з етики медичних і біологічних досліджень Наукового центру (протокол № 6/1 від 02.09.2019 р.) та “Європейської конвенції про захист тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 18.03.1986 р.) ETS № 123, “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (National Academies Press, USA, 2011).

Відповідно до концепції превентивної токсикології в ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України” здійснюється активне проведення всебічних експериментальних токсиколого-гігієнічних і експертно-аналітичних досліджень пестицидів. Для вирішення питань про можливість

реєстрації пестицидів-генериків, котрі не забезпечені токсикологічними базами даних, в Україні здійснюються обов'язкові експериментальні дослідження їхньої репродуктивної токсичності, на підставі чого проводяться ідентифікація небезпеки й оцінка ризику репродуктивної токсичності всіх заявлених препаратів.

Дослідження гонадо- та репродуктивної токсичності було виконано для шістьох зразків генеричного СП ЛЦТ різних виробників і чистоти діючої речовини (ЛЦТ1 – 97,00 %, ЛЦТ2 – 96,00 %, ЛЦТ3 – 97,10 %, ЛЦТ4 – 96,70 %, ЛЦТ5 – 95,60 %, ЛЦТ6 – 98,06 %). Для кожної тестової субстанції ЛЦТ щури були розподілені на три групи: по 20 самців і самиць у кожній. Паралельно з контрольними та піддослідними тваринами для кожної тестової сполуки утримувалася група з 20 інтактних самців і 40 самиць, призначених для спарювання.

Піддослідним щурам вводилася тестова субстанція, приготовлена *ex tempore*, внутрішньошлунково за допомогою зонду в дозах 0,0; 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла впродовж 11 тижнів для самців і 10 – самиць. При дослідженні ЛЦТ6 додатково була створена група з 10 самців, які отримували дозу 10 мг/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи вводилася дистильована вода з емульгатором (ОП-10) в еквівалентних кількостях. У фаховій літературі відсутні дані щодо проведення вивчення впливу ЛЦТ на репродуктивну функцію, тому вибір доз здійснювали, базуючись на результатах досліджень з вивчення цигалотрину в тесті репродуктивної токсичності на трьох поколіннях тварин.

Після закінчення експозиції в самців досліджували функціональні показники стану гонад і здатність тварин до відтворення потомства. Оцінювали кількість рухливих сперматозоїдів, їхню загальну кількість, а також кількість патологічно змінених форм сперматозоїдів. У дослідженні ЛЦТ6 частину самців (по п'ять з кожної групи) залишали на відновний період (без експозиції) впродовж одного повного циклу сперматогенезу (70 днів) і додатково до перерахованих показників вимірювали рівень вмісту тестостерону в сироватці крові. У самиць вивчали стан естрального циклу, тривалість і частоту кожної його стадії під час останніх двох тижнів експозиції. Після чого піддослідних самиць спарювали з інтактними самцями.

Стан репродуктивної функції оцінювали на 20-й день вагітності піддослідних самиць, які завагітніли від інтактних самців, і інтактних самиць, спарених з піддослідними самцями. Реєстрували кількості жовтих тіл в яєчниках, живих, мертвих, резорбованих плодів і зародків, масу тіла плодів, загальну масу приплоду, наявність грубих аномалій розвитку. Визначали індекси спарювання, зачаття, фертильності, вагітності, враховували тривалість прекоітального інтервалу. Схема дослідження представлена на рис. 1.

Отримані в експерименті дані були оброблені з використанням стандартного ліцензійного пакету програмного забезпечення Microsoft® Office Excel 2007 відповідно до статистичних методів у медико-біологічних дослідженнях. Визначали середнє значення (M) вибірки (n), середнє квадратичне відхилення (m), ймовірність помилки (p), критерій Ст'юдента (t). Статистичну обробку результатів також паралельно виконували за допомогою ліцензійної програми "GraphPad Prism 6" і методів 2-way ANOVA. Різниці вважали достовірними при $p \leq 0,05$. Статистична

оцінка індексів спарювання, зачаття, фертильності та вагітності здійснювалася за критерієм Fisher's Exact.

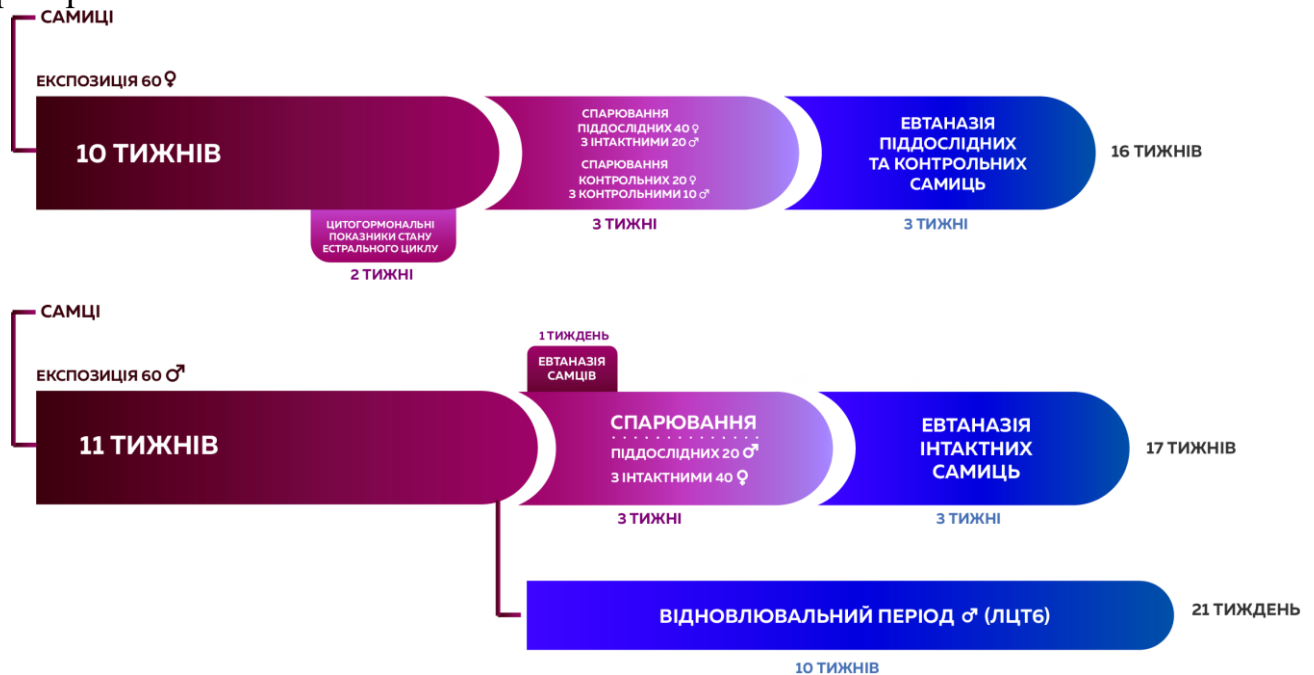


Рис. 1. Схема дослідження гонадо- та репродуктивної токсичності лямбда-цигалотрину на самцях і самицях щурів Wistar Hannover.

Результати дослідження та їх обговорення. Ідентифікація та характеристика небезпеки репродуктивної токсичності шести зразків ЛЦТ в експерименті на самцях і самицях щурів Wistar Hannover в умовах їх впливу в період гаметогенезу.

Під час періоду експозиції самців і самиць була виявлена статеві чутливість до впливу тестових субстанцій ЛЦТ на загальний фізичний стан тварин. У дозі 3,0 мг/кг відмічалася достовірне зниження маси тіла самців щурів за дії ЛЦТ1 (на 10-у тиждень на 4,2 %, 11-у – 5,1 %), ЛЦТ4 (на 3-у – 3,5 %), ЛЦТ5 (з 1-о по 11-й – 4,8-9,2 %), ЛЦТ6 (на 4-у, 5-у та з 8-о по 11-й – 5,5-6,6 %); 10 мг/кг – ЛЦТ6 (з 4-о тижня до закінчення періоду експозиції – 8,0-11,6 %). У самиць зменшення маси тіла було зафіксоване тільки при дії ЛЦТ3 (з 3-о по 5-й тиждень експерименту на 3,3 %, 4,6 % і 4,0 % відповідно) та ЛЦТ4 (на 10-у – 4,4 %) за дії дози 3,0 мг/кг ($p \leq 0,05$ – $p \leq 0,01$). Отже, більш виражений системний токсичний ефект був встановлений у самців щурів порівняно з самицями.

Естральний цикл або цикл яєчників є результатом збалансованої роботи кількох органів і забезпечується складною взаємодією гормонів. Належний рівень статевих гормонів важливий для збереження репродуктивної функції самиць і підтримки фертильності. Цей баланс може бути порушений зміною рівня естрогену або прогестерону, що може вплинути на тривалість естрального циклу й овуляцію (затримка овуляції або ановуляція). Зважаючи на те, що естральний цикл є інформативним цитогормональним показником функції ендокринної системи, в проведеному дослідженні була вивчена його тривалість упродовж двох останніх тижнів експозиції. При дії дози 3,0 мг/кг у самиць було зафіксоване статистично достовірне збільшення тривалості прогестеронзалежної стадії дієструс: ЛЦТ2 – 28,2 % ($p \leq 0,0001$), ЛЦТ3 – 33,5 % ($p \leq 0,05$), ЛЦТ4 – 52,9 % ($p \leq 0,01$), ЛЦТ6 – 13,0 %

($p \leq 0,05$). Також було встановлене скорочення естроген-залежної стадії проеструс за дії ЛЦТ6 на 15,3 % ($p \leq 0,05$), ЛЦТ2 – 36,5 % ($p \leq 0,0001$), що призводило до збільшення стадії еструс на 11,3 % ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи (табл. 1).

Таблиця 1

Вірогідні зміни показників репродуктивної токсичності лямбда-цигалотрину в самиць

Показники		Дози, мг/кг				
		ЛЦТ2	ЛЦТ3	ЛЦТ4	ЛЦТ5	ЛЦТ6
		3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Тривалість стадій естрального циклу	проеструс	↓				↓
	еструс	↑				
	діеструс	↑	↑	↑		↑
Індекси зачаття			↓		↓	
Індекси фертильності			↓		↓	
Маса тіла під час вагітності			↓			
Доімплантаційна загибель зародків			↑			
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть					↑
	%					↑
Загальна маса приплоду, г			↓			
Середня маса плодів, г					↓	
Маса тіла самиць			↓	↓		

Примітка. ↓ – зниження значення, ↑ – збільшення значення, – не відмічалось достовірних змін показника.

Отримані результати порушення естрального циклу можуть свідчити про те, що ЛЦТ володіє ендокрин-деструктивними властивостями, будучи ксеноагоністом естрогенових рецепторів при впливі на самиць щурів, зв'язується й активує рецептор естрогену, імітуючи гормон 17β -естрадіол (Bretveld R.W., 2006). Подовження прогестеронової фази циклу діеструс пояснюється присутністю в організмі екзогенного естрогену, за рахунок якого рівень естрогену не знижується до того рівня, щоб стимулювати гіпофіз для вироблення лютеїнізуючого гормону (ЛГ) та фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), а отже, запобігає запуску нового циклу. Тривалий вплив естрогеновою сполукою подій на скорочення естроген-залежної стадії проеструс, оскільки дозрівання фолікулів відбувається швидше через велику концентрацію естрадіолу, що зі свого боку також збільшує тривалість фази еструс. Загалом негативний вплив пестицидів на цикл яєчників може призводити до порушення фертильності й інших репродуктивних токсичних ефектів.

Оцінюючи репродуктивну функцію самиць щурів, встановили значний токсичний вплив ЛЦТ при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла. Після впливу ЛЦТ6

виявилося достовірне збільшення кількості та відсотка після-імплантаційної загибелі зародків (плодів) на 144 % та 159 % ($p \leq 0,05$) відповідно, ЛЦТЗ – відсотка загиблих до імплантації зародків на 49,3 % ($p \leq 0,05$), тобто в самиць порушувалася здатність до зачаття, що супроводжувалося зниженням загальної маси приплоду на 16,4 % ($p \leq 0,05$). У групі самиць з ЛЦТ5 було встановлене зменшення середньої маси плодів на 16,7 % ($p \leq 0,05$) відносно контрольної групи. Зниження індексів зачаття та фертильності спостерігалось в групі самиць у дослідженнях тестових субстанцій ЛЦТЗ (на 20 %) і ЛЦТ5 (на 15 %).

Отже, репродуктивна токсичність ЛЦТ, що характеризувалася порушенням фертильності та функції відтворення потомства, була виявлена за дії тестових субстанцій ЛЦТЗ, ЛЦТ5 і ЛЦТ6. Вона підтверджувала можливий патологічний механізм дії на ендокринну систему самиць як естрогеноподібної сполуки. Оцінюючи результати, встановили, що ЛЦТЗ та ЛЦТ5 володіють більш токсичною дією. Проаналізувавши взаємозв'язок усіх параметрів, що характеризують репродуктивну функцію самиць, виявили, що тривалість прекоітального інтервалу в піддослідних самиць становила від нуля до одного дня (спарилися в перший же день періоду спарювання). Незважаючи на те, що цей показник мав позитивний характер, у даному випадку це свідчило про значнішу ендокрин-деструктивну дію ЛЦТЗ та ЛЦТ5. Оскільки при дії ксеноестрогену (КЕ) підвищений рівень естрогену в самиць, з одного боку, сприяв успішнішому процесу спарювання, з іншого – став на заваді процесам овуляції та зачаття, порушивши баланс статевих гормонів і загальмувавши своєчасну гормональну відповідь. Механізм дії КЕ у даному випадку виявлявся як гормональний контрацептив, пригнічуючи секрецію гіпофізом гонадотропних гормонів, стримуючи фолікулогенез і запобігаючи овуляції. Навіть за можливої овуляції через присутність КЕ, а отже, високий вміст естрогену та низький рівень прогестерону, імплантація яйцеклітини була унеможливлена.

Фертильність самців залежить від безперервної щоденної продукції мільйонів сперматозоїдів. Процес сперматогенезу є надзвичайно складним, включає скоординовану серію мітотичних і мейотичних поділів, удосконалені цитодиференційовані етапи та постійно змінні міжклітинні взаємодії, що контролюються взаємодією автокринної, паракринної й ендокринної систем (Sofikitis, 2008). У проведених дослідженнях на самцях щурів тестові субстанції ЛЦТ1, ЛЦТ2, ЛЦТ3, ЛЦТ4 та ЛЦТ5 у дозі 3,0 мг/кг виявили антиандрогенний ефект, що характеризувався порушенням процесів сперматогенезу та виражався у вірогідних зниженнях морфо-функціональних показників стану статевих залоз: загальної кількості сперматозоїдів (ЛЦТ2 – 12 %, ЛЦТ3 – 17 %, ЛЦТ4 – 12 %; $p \leq 0,05$), кількості рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1 – 24 % ($p \leq 0,01$), ЛЦТ2 – 18 % ($p \leq 0,01$), ЛЦТ3 – 37 % ($p \leq 0,0001$), ЛЦТ4 – 22 % ($p \leq 0,05$), ЛЦТ5 – 17 % ($p \leq 0,05$)), відсотка рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1 – 16 % ($p \leq 0,01$), ЛЦТ3 – 24 % ($p \leq 0,0001$), ЛЦТ5 – 12 % ($p \leq 0,05$)), абсолютної маси сім'яників (ЛЦТ1 – 4,9 %; $p \leq 0,05$), фертильності (ЛЦТ2 – 25 %), запліднюючої здатності (ЛЦТ2 – 21 %) (табл. 2, рис. 2).

Досліджувана сполука ЛЦТ6 також виявила антиандрогенну активність, що характеризувалася порушенням процесів сперматогенезу та зміною вмісту

тестостерону в сироватці крові самців (рис. 2, 3). При дії максимальної дози (10 мг/кг маси тіла) показник загальної кількості сперматозоїдів достовірно зменшився на 13,6 % ($p \leq 0,05$), кількість і відсоток рухливих сперматозоїдів у самців, які отримували середню дозу 3,0 мг/кг маси тіла, знизилися на 22,7 % та 11,2 % ($p \leq 0,05$), максимальну – 27,1 % і 14,6 % ($p \leq 0,05$) відповідно. Відсоток патологічних форм статевих клітин зростав за дії доз 3,0 мг/кг ($p \leq 0,05$) і 10 мг/кг маси тіла ($p \leq 0,01$). Рівень тестостерону в сироватці крові за дії дози 3,0 мг/кг маси тіла достовірно знижувався на 72,0 % ($p \leq 0,01$).

Таблиця 2

Вірогідні зміни показників репродуктивної токсичності лямбда-цигалотрину в самців

Показники	Дози, мг/кг									
	ЛЦТ1	ЛЦТ2	ЛЦТ3	ЛЦТ4	ЛЦТ5		ЛЦТ6		ЛЦТ6 (після відновлення)	
	3,0	3,0	3,0	3,0	0,3	3,0	3,0	10,0	3,0	10,0
Маса тіла самців	↓			↓	↓	↓	↓	↓		
Кі-сть рухливих сперматозоїдів, млн	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓		↓
Загальна кі-сть сперматозоїдів, млн		↓	↓	↓				↓		↓
% рухливих сперм.	↓		↓			↓	↓	↓	↓	↓
% патологічних форм							↑	↑		
Маса сім'яників, г	↓									
Індекси запліднення		↓						—	—	—
Індекси фертильності		↓						—	—	—
Тестостерон, нг/мл	—	—	—	—	—	—	↓		↓	

Примітка. “—” – показник не вивчався, ↓ – зниження значення, ↑ – збільшення значення, □ – не відмічалось достовірних змін показника.

Виявлені в піддослідних самців ефекти можна пояснити естрогеноподібними властивостями ЛЦТ, механізм дії якого подібний до ендogenous гормона 17-бета-естрадіолу. Відомо, що естрогени та, насамперед, естрадіол, що утворюється в процесі конверсії (ароматизації) тестостерону, відіграють важливу роль у забезпеченні нормального функціонування чоловічої статевої системи (Fietz D., 2014; Bernardino R., 2016).

Проте регуляція естрадіолом численних аспектів сперматогенезу, функціонування клітин Лейдига та Сертолі, а також вплив цього гормону на концентрацію сперми, морфологію, рухливість сперматозоїдів і багато інших функцій чоловічого статевого тракту можливі виключно в умовах дотримання суворого фізіологічного балансу вмісту естрогенів у організмі (Yang W., 2017;

Schulster M., 2016). Отже, ЛЦТ запустив механізм антиандрогенної дії, піддаючи деструкції всі вищеперераховані регуляційні процеси.

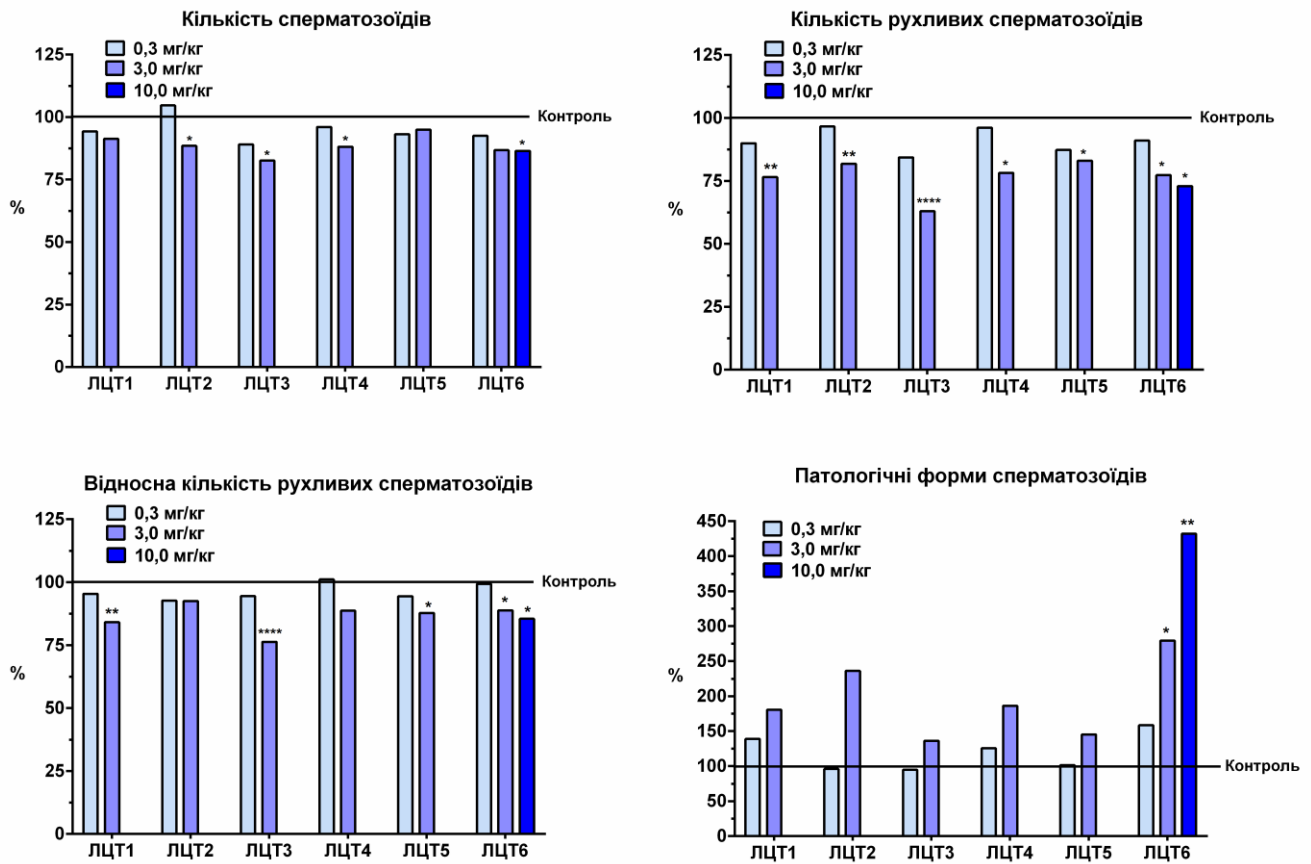


Рис. 2. Функціональні показники сперми в самців відносно контролю, %. Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; **** – $p \leq 0,0001$ порівняно з контрольною групою.

При дії КЕ виникають складні взаємодії з естрогенними рецепторами (ЕР) й ендogenous естрадіолом, що перешкоджають фізіологічній дії природних естрогенів (Vinas R., 2012). КЕ можуть зв'язуватися з ЕР в ядрі клітини (геномний шлях впливу), де комплекс розпізнає елементи відповіді на дезоксирибонуклеїнову кислоту (ДНК) та змінює експресію генів (Watson C., 1999). При негеномному шляху КЕ можуть пов'язуватися з мембранними ЕР (α , β) та швидко ініціювати сигнальні каскади, що завершуються активацією кінази та фосфатази, зрештою впливаючи на клітинну функцію посттрансляційної модифікації різних білків (Chimento A., 2010; Watson C., 2011; Li L., 2003; Pietras R., 2005). Вважають, що через особливості молекулярної будови мембранних ЕР, здатних приймати безліч різноманітних лігандів, вони стають більш вразливими для зв'язування з ЕД порівняно з ядерними рецепторами (Watson C.S., 1999).

У результаті аналізу залежності “доза-відповідь” було встановлено, що патологічні зміни сперматогенезу описуються монотонними нелінійними дозовими відповідями (рис. 3, 4).

Водночас, аналізуючи результати дослідження рівнів тестостерону, виявили, що характер відповіді цього параметра на вплив не вкладався в класичну модель токсикологічної дозової залежності. Як видно з отриманих даних, ця залежність

мала немонотонний характер, що описував дозові відповіді інвертованою U-подібною кривою. На сьогодні не існує однозначної відповіді щодо основних механізмів подібних немонотонних відповідних реакцій. Незважаючи на велику кількість досліджень у цій області впродовж останніх десятиріч, дана проблема залишається предметом широких наукових дискусій і ще далека від свого вирішення.

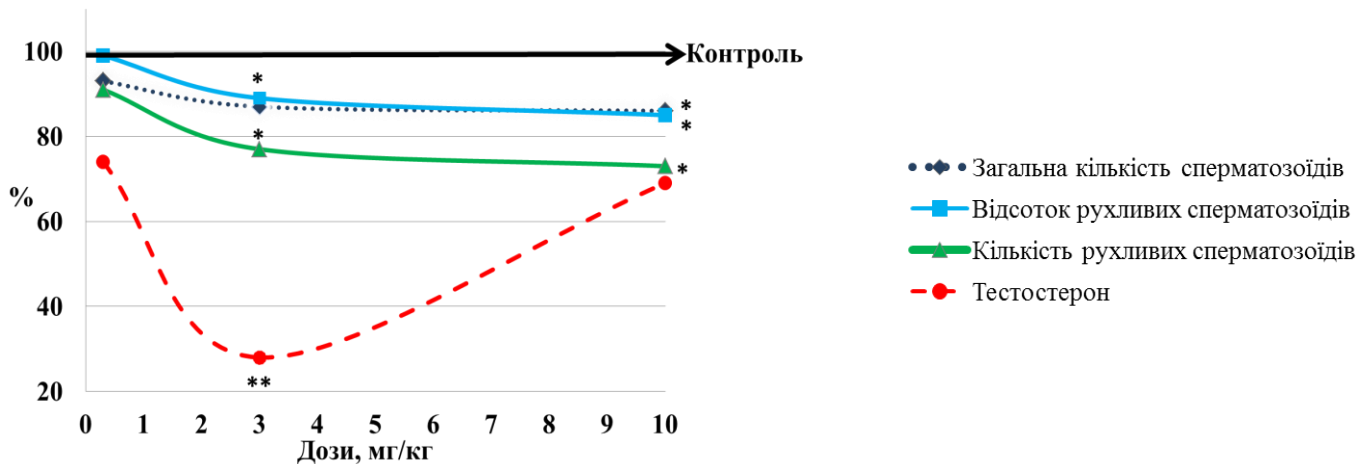


Рис. 3. Рівень вмісту тестостерону в сироватці крові та параметри сперми самців щурів після періоду експозиції лямбда-цигалотрином № 6. Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ порівняно з контрольною групою.

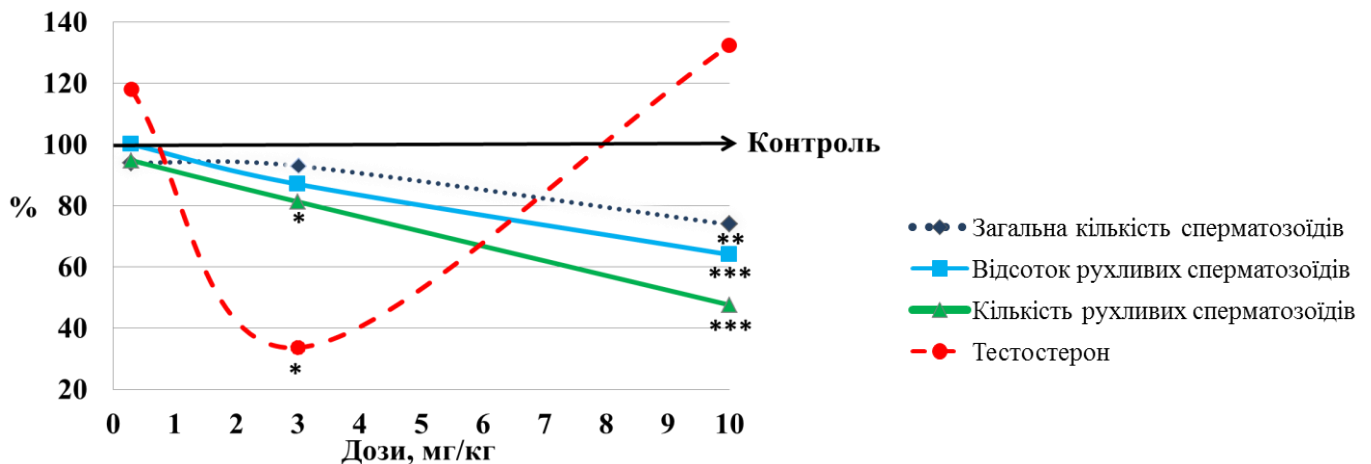


Рис. 4. Рівень вмісту тестостерону в сироватці крові та параметри сперми самців щурів після періоду відновлення. Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Проте було встановлено, що в більшості випадків вплив КЕ виявляється і при низьких, і при високих дозах, демонструючи при цьому немонотонні відповіді (Alyea R., 2009; Myers J., 2009; Soto A., 2009), що, звісно, значно ускладнює прогнозування ефектів дії низьких доз на підставі результатів, отриманих при вивченні високих рівнів впливу. Цілком очевидно, що традиційні токсикологічні підходи є недостатніми для розуміння та пояснення механізмів немонотонної дозозалежності. Низка досліджень показує, що гормонально активні агенти можуть спричиняти значні біологічні ефекти навіть у надзвичайно низьких концентраціях, наявні на сьогодні аналітичні методи або технології не здатні виявляти відносно

невеликі величини ефектів при існуючих величинах вибірки в групах. Концепція, згідно з якою токсичний агент має безпечну дозу, легко визначається, виходячи з *no-observed-adverse-effect level* (NOAEL), отриманої в результаті тестування відносно високих доз, надмірно спрощена та суперечить результатам вивчення ЕД (Vandenberg L., 2012; Sheehan D., 1997).

Із цієї причини на сьогодні дослідження механізмів впливів низьких доз переважно зосереджені на кінцевих точках генно-молекулярного рівня (Vinas R., 2012). У результаті було встановлено, що ініційовані КЕ численні сигнальні каскади проксимальних рецепторів реагують з різними швидкостями та нелінійними дозовими залежностями, що може детермінувати немонотонну дозову реакцію органів-мішеней (Bermudez O., 2008).

Водночас існують інші гіпотези обґрунтування немонотонної дозової залежності, наприклад, зниження регуляторної функції або сенсibilізація рецепторів, тобто зміна вибіркової реакції рецепторів при переході від низьких доз (вибіркоче зв'язування ER) до високих (невибіркоче зв'язування) (Calabrese E., 2008). R. Vinas і співавт. наводять основні типи немонотонних дозових відповідей поведінки фізіологічного естрадіолу на вплив КЕ, з аналізу опису яких випливає, що середньо активний КЕ підсилює реакцію фізіологічного естрогену при низьких рівнях доз і пригнічує його при більш високих. Саме така залежність спостерігалася в проведеному експерименті при вивченні рівня вмісту тестостерону.

Проте в здійсненому експерименті порушення процесів сперматогенезу не мало прямої кореляції з рівнем вмісту тестостерону. Можна припустити, що подібне явище пов'язане з тим, що функція естрадіолу варіює залежно від клітин, в яких він продукується. У нормі ендогенний естрадіол удосталь синтезується різними клітинами сім'яників і їхніх придатків (незрілими зародковими клітинами, сперматозоїдами, епітелієм еферентних каналів і проксимального епідидимального каналу, клітинами Лейдига та Сертолі), забезпечуючи різні механізми життєдіяльності статевих клітин, починаючи від проліферації та закінчуючи апоптозом зародкових клітин. Оскільки регулювання тестикулярних клітин естрадіолом виявляє інгібуючий і стимулюючий впливи, це вказує на дуже тонку модуляцію, залежну від дози та часу (Leavy M., 2017). M. Leavy та співавт. показали, що під впливом підвищених доз естрадіолу була виявлена ослаблена експресія альфа-рецептора естрогену (ER α) в клітинах Сертолі, відповідальних за регуляцію вироблення зародкових клітин. Крім того, існують ЕД, що діють як антагоністи гормональних систем, вони зв'язуються зі специфічним рецептором, але не активують типову відповідь рецептора та запобігають зв'язуванню або активності ендогенного ліганда. Нарешті, багато ЕД зв'язуються з рецептором і активують відповідь, що не обов'язково збігається з тією, що викликана ендогенними естрогенами; вони називаються селективними модуляторами ER (Vandenberg L., 2012).

Дані епідеміологічних досліджень показують, що в чоловіків, які страждають на олігоспермію, тестостерон залишався на рівні норми. Механізм олігоспермії з нормальним рівнем тестостерону є аномальним зворотним зв'язком між гонадами та гіпофізом. S. Babu було висловлене припущення, що порушення гормонального профілю та сперматогенезу пов'язане не з дефектом гіпоталамо-гіпофізарно-

тестикулярної осі в чоловіків, а з порушеннями в гонадах, що в контексті нинішніх уявлень означає порушення рецепторних зв'язків і гормональної секреції клітинами статевих залоз, зокрема клітинами Сертолі.

Загалом можна констатувати, що дослідження останніх десятиріч спрямовані на вивчення механізмів молекулярних і геномних рівнів взаємодії організму з ЕД, змінюють традиційні уявлення та концепції класичної токсикології, викликаючи необхідність перегляду й оптимізації стандартних методологічних підходів до оцінки ризику ЕД (Vinas R., 2012).

Водночас при плануванні експерименту поряд з ідентифікацією ступеня, характеру й особливостей токсичного впливу ЛЦТ6 метою проведеного дослідження також було вивчення стійкості порушень, що виникають під впливом досліджуваної сполуки: тривалість, зворотність і/або незворотність потенційно можливих ефектів. З результатів, наведених на рис. 5, випливає, що зміни параметрів сперми та вмісту тестостерону мають незворотний характер.

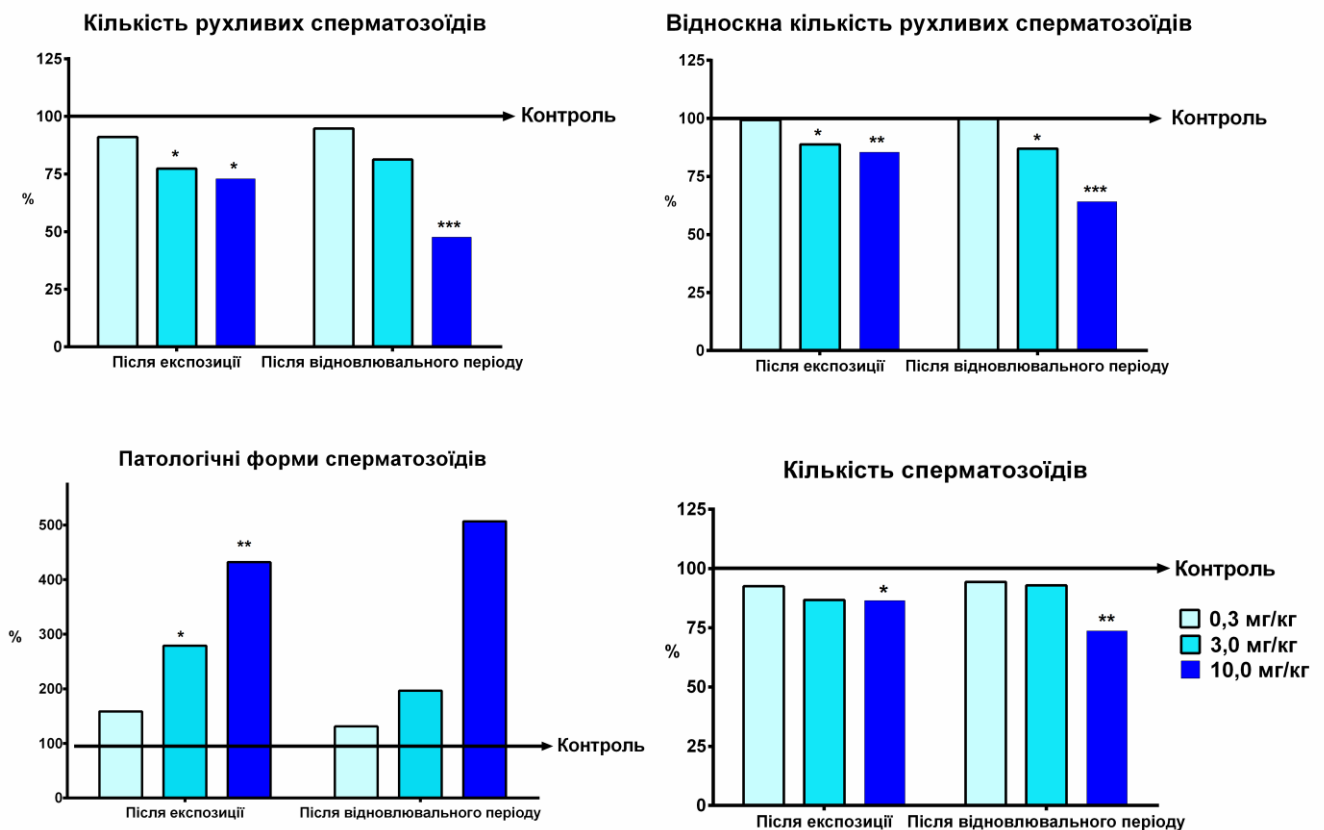


Рис. 5. Морфо-функціональні показники сперми в самців після експозиції лямбда-цигалотрином № 6 і відновлювального періоду (дані відносно контролю, %). Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Після періоду відновлення в тварин, які отримували дозу 3,0 мг/кг, знижувався відсоток патологічних форм сперматозоїдів, збільшувалася абсолютна кількість рухливих сперматозоїдів, відносна їхня кількість, як і раніше, залишалася достовірно зниженою на 13,0 % ($p \leq 0,05$). Практично на тому ж рівні відносно контролю лишався вміст загального тестостерону в сироватці крові (66,4 %; $p \leq 0,05$). У самців, які піддавалися впливу максимальної дози 10,0 мг/кг маси тіла, параметри

сперми погіршувалися, знижувалися абсолютна (на 52,4 %; $p \leq 0,001$) і відносна (на 35,9 %; $p \leq 0,001$) кількості рухливих сперматозоїдів, їхня загальна кількість (на 26,3 %; $p \leq 0,01$). Рівень вмісту тестостерону зростав порівняно з контролем, але не вірогідно. Водночас впродовж відновного періоду в самців відновлювалася маса тіла, що знизилася після 10 тижнів впливу.

Для того, щоб зрозуміти патогенез незворотності змін репродуктивної системи, в проведеному експерименті дуже важливо було визначити кінцеву точку та глибину токсичного ураження в органах-мішенях (статевих залозах). Цілком можливо, що системний токсичний ефект за дії максимальної дози (10 мг/кг маси тіла) також мав цитотоксичну дію на клітини органів-мішеней (статевих залоз) і що після закінчення відновного періоду теж виявлявся цитотоксичний ефект. Ба більше, вираженість змін досліджуваних параметрів зростала. Стосовно олігоспермії існують принаймні два варіанти розвитку. Перше пояснення подібного феномена можливе, якщо взяти до уваги, що першоджерелом перманентно триваючого циклу сперматогенезу є постійно поновлювана сперматогоніальна популяція стовбурових клітин. Проте, якщо велика частина сперматогоній була пошкоджена, відновний період стає тривалішим, ніж зазвичай рекомендований термін, еквівалентний тривалості сперматогенезу. Іноді для відновлення популяції сперматогоніальних клітин необхідна дворазова або навіть триразова тривалість циклу сперматогенезу, оскільки популяція стовбурових клітин ділиться повільно та для поповнення диференційної сперматогоніальної популяції потрібно більше часу (Dianne M., 2018).

Якщо до токсичного процесу залучаються клітини Сертолі, існує мала ймовірність регенерації всієї популяції зародкових клітин і відновлення функціонального сперматогенезу. При значному ураженні частини клітин Сертолі вказана регенерація неможлива, оскільки ці клітини не можуть поповнюватися в репродуктивному періоді онтогенезу. У разі токсичного ураження клітин Сертолі навіть за наявності сперматогоній, що діляться, сперматогенез не відновлюється. Дослідження показали, що це пов'язано з відсутністю фактора росту клітин Сертолі, так званого SCF (фактор стовбурових клітин), що зв'язує рецептор c-kit на сперматогоніях (Dianne M., 2018).

Аналізуючи й оцінюючи отримані результати, схильні припустити, що встановлені патологічні зміни пов'язані з ураженням клітин Сертолі та сперматогоній, про що також свідчить аномальна зміна рівня вмісту тестостерону. Можливо, при дії середньої дози страждає частина EP клітин Сертолі, причому ЛЦТ6 виступає в ролі незворотного конкуруючого ксеноагоніста, необоротно блокує їхню фізіологічну дію, що підтверджується практично незмінними величинами досліджених параметрів упродовж відновного періоду. А максимальна вивчена доза поряд з більш вираженим ендокрин-деструктивним ефектом ще й чинить цитотоксичну дію на сперматогоніальну популяцію клітин.

Підсумовуючи отримані дані, можна констатувати, що всі шість сполук ЛЦТ, незалежно від чистоти діючої речовини, володіють репродуктивною токсичністю й ендокрин-деструктивними властивостями для самців і самиць щурів. У зв'язку з широким використанням даного пестициду в сільському господарстві та побуті існує занепокоєння щодо його токсичного впливу, також описувалися випадки

отруєння людей у різних країнах світу (EPA, 2010; Health Canada, 2017; Wenjie W., 2014). У Канаді знизили обсяг використання препаратів на основі ЛЦТ та встановили добову допустиму дозу (ДДД) на рівні 0,0003 мг/кг, базуючись на NOAEL 0,1 мг/кг з дослідження хронічної токсичності на собаках Beagle із застосуванням стандартних коефіцієнтів і додаткового триразового коефіцієнта невизначеності (UF 300) у зв'язку з недостатністю даних з вивчення репродуктивної токсичності на самцях. Згідно з даними European Food Safety Authority (EFSA), в Європейському Союзі ДДД ЛЦТ для людини становить 0,0025 мг/кг, виходячи з NOAEL 0,5 мг/кг, встановленої в дослідженнях репродуктивної токсичності цигалотрину з додатковим дворазовим коефіцієнтом невизначеності (UF 200) для перерахунку цигалотрину на ЛЦТ. Але у висновку EFSA зазначено, що даних недостатньо та необхідні подальші дослідження репродуктивної токсичності ЛЦТ (EFSA, 2014). В Україні ДДД визначена на рівні 0,003 мг/кг, базуючись на дослідженнях репродуктивної токсичності генериків ЛЦТ (NOAEL – 0,3 мг/кг) із застосуванням стандартних коефіцієнтів запасу (UF 100), що забезпечує його безпечне застосування за призначенням. На сьогодні в Україні зареєстровані більше 30 препаративних форм на основі діючої речовини ЛЦТ, що відноситься до II Класу небезпечності (помірно небезпечний).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі узагальнені дослідження впливу шести зразків генеричних технічних продуктів синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину різних виробників на репродуктивну функцію самців та самиць щурів Wistar Hanpover, визначені особливості токсичного впливу лямбда-цигалотрину у період гаметогенезу на організм, ідентифіковано та охарактеризовано його небезпеку за критеріями порушень репродуктивної системи.

1. Встановлено, що всі досліджені зразки лямбда-цигалотрину чинять токсичну дію на репродуктивну систему самців щурів незалежно від чистоти діючої речовини, п'ять зразків (№ 2-6) – самиць. Системною токсичною дією для самиць володіють лямбда-цигалотрин № 3 та № 4, самців – № 1, № 4, № 5, № 6. Усі виявлені зміни виникають на рівні впливу доз 3,0 мг/кг (№ 1-6) і 10,0 мг/кг маси тіла (№ 6).

2. Репродуктивна токсичність зразків лямбда-цигалотрину в дозі 3,0 мг/кг характеризувалася зниженням індексів зачаття та фертильності (№ 3 та № 5); підвищеною доїмплантаційною загибеллю зародків на 49,3 %, що супроводжується зниженням загальної маси приплоду на 16,4 % (№ 3); зниженням середньої маси приплоду 16,7 % (№ 5). Порушення фертильності та функції відтворення потомства свідчать про вищий ступінь естрогеноподібної дії зазначених зразків лямбда-цигалотрину. Зниження здатності самців до запліднення та, відповідно, зменшення індексів зачаття та фертильності в інтактних самиць спостерігаються при дії лямбда-цигалотрину № 2.

3. Встановлена ендокрин-деструктивна властивість усіх вивчених зразків лямбда-цигалотрину, що характеризувалася у самиць збільшенням тривалості прогестеронзалежної стадії дієструс (№ 2 – на 28,2 %, № 3 – 33,5 %, № 4 – 52,9 %, № 6 – 13,0 %), зниженням тривалості естроген-залежної стадії проєструс (№ 2 – на

36,5 %, № 6 – 15,3 %) та збільшення стадії еструс (№ 2 – на 11,3 %). Антиандрогенний ефект за дії вивчених зразків лямбда-цигалотрину проявлявся зниженням кількості рухливих сперматозоїдів, олігоспермією (№ 2, № 3, № 4, № 6) та зниженням відносної кількості рухливих сперматозоїдів (№ 1, № 3, № 5, № 6), абсолютної маси сім'яників (№ 1) і збільшенням кількості патологічних форм сперматозоїдів (№ 6).

4. Встановлено, що після закінчення періоду експозиції лямбда-цигалотрин № 6 призводить до зниження рівня вмісту тестостерону в крові самців. Виявлена немонотонна дозова залежність змін, що підтверджує універсальність подібного характеру відповідної реакції ендокринної системи на вплив ендокринних деструкторів. Зниження рівня тестостерону (72,0 %; $p \leq 0,01$) викликає середня доза 3,0 мг/кг маси тіла. При дії мінімальної та максимальної доз рівень тестостерону проявляє незначну тенденцію до зменшення. Не спостерігається залежності між рівнем тестостерону та параметрами сперматогенезу. Патологічні зміни параметрів сперми ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$) відбуваються за дії середньої та максимальної доз, підпорядковуються монотонній непрямої дозовій залежності. Зниження маси тіла тварин, які отримували лямбда-цигалотрин № 6 у дозі 10,0 мг/кг маси тіла, свідчить про системну токсичну дію цього дозового рівня.

5. Після закінчення відновного періоду характер і тенденція виявлених змін зберігаються. Вміст тестостерону при дії 3,0 мг/кг достовірно знижений (на 66,4 %), при дії доз 0,3 мг/кг і 10,0 мг/кг маси тіла рівень цього гормону дещо зростає відносно контролю та рівня після експозиції, порушення процесів сперматогенезу й олігоспермія за дії максимальної дози посилюються ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$). Маса тіла тварин відновила до контрольного рівня.

6. Аналіз якісної та кількісної характеристик ефектів, що спостерігались після закінчення періодів експозиції та відновлення дозволяє вважати, що досліджуваний лямбда-цигалотрин належить до необоротних ксеноагоністів естрогенних рецепторів із середнім ступенем активності, що викликає пошкодження клітин Сертолі та сперматогоніальної популяції гермінативних клітин залежно від дозового рівня впливу та може бути одним з механізмів токсичного впливу. Параметри, що характеризують процеси сперматогенезу, а також вміст тестостерону свідчать про незворотність антиандрогенного ефекту впродовж 10 тижнів і, можливо, про повну незворотність ефектів, що спостерігались. Системний токсичний ефект, індукований максимальною досліджуваною дозою, можна визнати оборотним.

7. Найбільш чутливими біомаркерами ендокрин-деструктивної дії лямбда-цигалотрину є параметри сперми, цитогормональні показники естрального циклу в самиць і рівень вмісту статевих гормонів. Самці більш чутливі до системної токсичної дії досліджуваного ксенобіотика. Ступінь репродуктивної токсичності всіх вивчених зразків лямбда-цигалотрину для самиць і самців знаходиться на одному рівні в дозі 3 мг/кг маси тіла. У діапазоні вивчених доз встановлена недіюча доза (no-observed-adverse-effect level) 0,3 мг/кг маси тіла. Використана тест-система ідентифікації гонадо- та репродуктивної токсичності є адекватним, високочутливим методологічним підходом при тестуванні токсичних ефектів, зокрема ендокринних деструкторів.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Колянчук ЯВ. Порівняльна оцінка впливу чотирьох генеричних пестицидів лямбда-цигалотрину на та репродуктивну функцію самиць щурів Wistar Han. Акт. проблеми транспорт. медицини: навколиш. середовище; проф. здоров'я; патологія. 2018;(1):128-35.
2. Шепельська НР, Колянчук ЯВ, Проданчук МГ. Дослідження впливу чотирьох генетичних пестицидів лямбда-цигалотрину на репродуктивну функцію самців щурів Wistar Han. Сучас. проблеми токсикології, харч. та хім. безпеки. 2018;(2/3):24-33. *(Здобувачем заплановане, підготовлене та проведене експериментальне дослідження, здійснені статистична обробка й аналіз отриманих результатів, підготовлена стаття до друку)*
3. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46. *(Здобувач брала участь в експериментальній частині дослідження й оформлювала статтю до друку)*
4. Проданчук НГ, Шепельская НР, Колянчук ЯВ, Евтушенко ТВ. Необратимость антиандрогенного эффекта лямбда-цигалотрина после восстановительного периода в исследовании на самцах крыс Wistar Han. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(4 Т 2):173-81. *(Здобувачем заплановане, підготовлене та проведене експериментальне дослідження, здійснені статистична обробка й аналіз отриманих результатів, підготовлена стаття до друку)*
5. Колянчук ЯВ, Шепельская НР, Проданчук НГ, Бубало НН, Петрашенко ГИ. Модулирующее действие пестицида лямбда-цигалотрина в исследовании репродуктивной токсичности на самцах и самках крыс Wistar. Вісн. проблем біології і медицини. 2019;(3):127-31. *(Дисертантом самостійно проведене експериментальне дослідження, здійснена статистична обробка, підготовлена стаття до друку)*
6. Колянчук ЯВ. Проблема оцінки репродуктивної токсичності (гонадотоксичності) пестицидів. Мед. та клін. хімія. 2018;20(2):123-30.
7. Проданчук ГМ, Костик ЮМ, Колянчук ЯВ, Ковтун Ю. Організація проведення експериментальних токсикологічних досліджень згідно вимог GLP. Сучас. проблеми токсикології. 2011;(5):112.
8. Prodanchuk G, Kolianchuk I, Volkova I. P22-017. The study of gonadotoxic activity of generic lambda-cyhalothrin on male and female Wistar Han rats. Toxicol Lett. 2015 Oct 16;238(2 Suppl, Abstracts of the 51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX); 2015 Sep 13-16; Porto, Portugal):S367.
9. Rashkivska I, Kolyanchuk Y. P-5. Wistar Hannover rat reproductive parameters. Arh Hig Rada Toksikol. 2016;67(Suppl 1):36.
10. Kolianchuk Y, Prodanchuk M, Nedopytanska N, Rashkivska I, Bubalo V, Usenko T. P20-06. New approach for assessment of Wistar Hannover male rats reproductive toxicity. Toxicol Lett. 2018 Oct 10;295(Suppl 1, Abstracts of the 54th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018) Toxicology out of the box; 2018 Sep 2-5; Brussels, Belgium):S231-2.

11. Shepelska N, Kolianchuk Ya, Prodanchuk M. #102. Non-monotonic dose-response curve of pesticide lambda-cyhalothrin antiandrogenic effect in the study on male Wistar Han rats. In: Abstract Directory of Fourth Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium; 2019 May 20-24; Kyiv, Ukraine. Kyiv; 2019. p. 442.

12. Shepelska N, Kolianchuk Y, Prodanchuk M. P18-009. Hazard identification of pesticide reproductive toxicity – different methodological approaches. Toxicol Lett. 2019 Oct 10;314(Suppl, Abstracts of the 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019) Toxicology – science providing solutions; 2019 Sep 8-11; Helsinki, Finland):S269.

13. Shepelska N, Kolianchuk Y, Rashkivska I, Prodanchuk M. P18-010. Irreversibility of non-monotonic and monotonic dose-response curves of pesticide Lambda-Cyhalothrin antiandrogenic effect. Toxicol Lett. 2019 Oct 10;314(Suppl, Abstracts of the 55th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2019) Toxicology – science providing solutions; 2019 Sep 8-11; Helsinki, Finland):S269-70.

АНОТАЦІЯ

Колянчук Я.В. Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для щурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.06 “Токсикологія”. – Державне підприємство “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров’я України”, Київ, 2020.

Дисертація присвячена дослідженню стану репродуктивної функції в експерименті на щурах за умов впливу шести генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину (ЛЦТ) в період гаметогенезу. Тварини отримували тестові субстанції в дозах 0; 0,3; 3,0 мг/кг маси тіла та додатково в дозі 10,0 мг/кг для групи самців у вивченні шостого зразка. На підставі отриманих результатів показано, що синтетичний піретроїд ЛЦТ у досліджуваних умовах експерименту виявляє ендокрин-деструктивні властивості, притаманні необоротним ксеноагоністам естрогенних рецепторів із середнім ступенем активності, спричиняючи антиандрогенний ефект, що характеризується порушенням процесів сперматогенезу й олігоспермією, а також зниженням вмісту тестостерону в сироватці крові піддослідних тварин. Продемонстровано, що ЛЦТ спричиняє дозозалежні порушення сперматогенезу, характерні для пошкодження клітин Сертолі та сперматогоніальної популяції гермінативних клітин. Встановлено, що характер дозозалежності токсичного ефекту ЛЦТ на сперматогенез носить лінійний характер, тоді як відповідна реакція рівня вмісту тестостерону на збільшення дози є немонотонною. Встановлений характер необоротності антиандрогенного ефекту ЛЦТ впродовж 10 тижнів відновного періоду, що дозволяє припустити можливість повної необоротності виявлених токсичних ефектів. Визначена статеві чутливість до впливу тестових сполук: більш виражена системна та репродуктивна токсичність виявилася в самців щурів.

За результатами досліджень репродуктивної токсичності в діапазоні вивчених доз встановлений рівень недіючої дози (NOAEL) ЛЦТ, що становить 0,3 мг/кг маси тіла.

Ключові слова: пестициди, синтетичні піретроїди, лямбда-цигалотрин, репродуктивна система, естральний цикл, сперматогенез, тестостерон, ендокринні деструктори, антианδροгенний ефект, відновлювальний період, необоротність, самці та самиці щурів Wistar Hannover.

АННОТАЦІЯ

Колянчук Я.В. Репродуктивна токсичність генерических образцов синтетического пиретроида лямбда-цигалотрина для крыс Wistar Hannover при воздействии в период гаметогенеза. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.06 “Токсикология”. – Государственное предприятие “Научный центр превентивной токсикологии, пищевой и химической безопасности имени академика Л.И. Медведя Министерства здравоохранения Украины”, Киев, 2020.

Диссертация посвящена исследованию состояния репродуктивной функции в эксперименте на крысах в условиях воздействия шести генерических образцов синтетического пиретроида лямбда-цигалотрина (ЛЦТ) в период гаметогенеза. Животные получали тестовые субстанции в дозах 0; 0,3; 3,0 мг/кг массы тела и дополнительно в дозе 10,0 мг/кг массы тела для группы самцов в изучении шестого образца. На основании полученных результатов показано, что синтетический пиретроид ЛЦТ в исследуемых условиях эксперимента проявляет эндокринно-деструктивные свойства, присущие необратимым ксеноагонистам эстрогенных рецепторов со средней степенью активности, вызывая антианδροгенный эффект, характеризующийся нарушением процессов сперматогенеза и олигоспермией, а также изменением содержания тестостерона в сыворотке крови подопытных животных. Продемонстрировано, что ЛЦТ вызывает дозозависимые нарушения сперматогенеза, характерные для повреждения клеток Сертоли и сперматогонимальной популяции герминативных клеток. Установлено, что характер дозозависимости токсического эффекта ЛЦТ на сперматогенез носит линейный характер, в то время как ответная реакция уровня содержания тестостерона на увеличение дозы является немонокотонной. Установлен характер необратимости антиандрогенного эффекта ЛЦТ в течение 10 недель восстановительного периода, что позволяет предположить возможность полной необратимости выявленных токсических эффектов. Определена половая чувствительность к воздействию тестовых соединений: более выраженной оказалась системная и репродуктивная токсичность у самцов крыс.

По результатам исследований репродуктивной токсичности в диапазоне изученных доз установлен уровень недействующей дозы (NOAEL) ЛЦТ, которая составляет 0,3 мг/кг массы тела.

Ключевые слова: пестициды, синтетические пиретроиды, лямбда-цигалотрин, репродуктивная система, эстральный цикл, сперматогенез, тестостерон, эндокринные деструкторы, антиандрогенный эффект, восстановительный период, необратимость, самцы и самки крыс Wistar Hannover.

SUMMARY

Kolianchuk Y.V. Reproductive toxicity of generic substances of synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin for Wistar Hannover rats when exposed during gametogenesis. – Manuscript.

Dissertation for a scientific degree of candidate of biological sciences in specialty 14.03.06 “Toxicology”. – State Enterprise “L.I. Medved Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health of Ukraine”, Kyiv, 2020.

The dissertation is devoted to the study of the reproductive function state by the experiment on rats after exposure with synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin (LCT) during gametogenesis. The study was conducted by highly sensitive methodological approach of the identification of gonado- and reproductive toxicity, with defining levels of sex hormones, which will allow to detecting endocrine disruptors in the testing of toxic effects. The studies were performed on six test substances LCT from different manufacturers in Wistar Hannover male and female rats. Test substances were administered orally by gavage at doses – 0.0; 0.3 and 3.0 mg/kg of body weight during 11 weeks for males and 10 weeks for females. An additional group of males which received a dose of 10 mg/kg body weight in the study of substance LCT6 was created. The serum levels of testosterone were further studied and the reversibility or irreversibility of the revealed violations in male rats in the LCT6 study was investigated.

Based on the obtained results, it was shown that the synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin under the experimental conditions demonstrated endocrine-disruptive properties, which were typical for irreversible xenoagonists of estrogen receptors with a medium degree of activity, caused antiandrogenic effect, and changed the testosterone level in blood serum of experimental animals. It has been shown that LCT caused dose-dependent spermatogenesis disorders which are typical for Sertoli cells damage and the spermatogonial population of germ cells. It has been established that the lambda-cyhalothrin toxic effect on spermatogenesis was linear dose-dependent, whereas the reaction of the testosterone level in blood to dose increasing was non-monotonic. The character of the irreversibility of the antiandrogenic effect of LCT during 10 weeks recovery period was established, thus we had grounds for supposing of the possibility of complete irreversibility of the revealed toxic effects.

The most sensitive biomarkers of endocrine-disruptive action of LCT were sperm parameters, cytohormonal parameters of the estrous cycle in females and the sex hormones level. Males were more sensitive to the toxic effect of the studied xenobiotic. The reproductive toxicity level of all studied substances was estimated at the same level for males and females – 3 mg/kg of body weight. In the range of studied doses, the no-observed-effect-level (NOAEL) of LCT for reproductive toxicity was established – 0.3 mg/kg of body weight. The test system used to identify gonadotoxic activity and reproductive toxicity is an adequate, highly sensitive methodological approach for testing the toxic effects including endocrine-disruptors.

Key words: pesticides, synthetic pyrethroids, lambda-cyhalothrin, reproductive system, estrous cycle, spermatogenesis, testosterone, endocrine-disruptors, antiandrogenic effect, recovery period, irreversibility, Wistar Hannover male and female rats.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ДДД	допустима добова доза
ЕД	ендокринні деструктори
ЕР	естрогенні рецептори
КЕ	ксеноестрогени
ЛГ	лютеїнізуючий гормон
ЛЦТ	лямбда-цигалотрин
МОЗ	Міністерство охорони здоров'я
СП	синтетичні піретроїди
ФСГ	фолікулостимулюючий гормон
ANOVA	статистична програма обробки результатів дослідження
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency (Агенція з охорони навколишнього середовища)
GLP	Good Laboratory Practice (належна лабораторна практика)
NOAEL	No-observed-adverse-effect level (найвища доза, при якій не спостерігалось токсичного або несприятливого ефекту)
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development (Організація економічного співробітництва та розвитку)
SCF	Stem Cell Factor (фактор стовбурових клітин)
SPF	Specific Pathogen Free (вільний від специфічної патогенної мікрофлори)
UF	Uncertainty Factor (коефіцієнт невизначеності)
WHO	World Health Organization (Всесвітня організація охорони здоров'я)