

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОЛЯНЧУК ЯНА ВІТАЛІЇВНА

УДК 615.9:632.95:591.16

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

14.03.06 – Токсикологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Я.В. Колянчук

Науковий керівник Проданчук Микола Георгійович, член-кореспондент
НАМН України, доктор медичних наук, професор

Київ – 2020

АНОТАЦІЯ

Колянчук Я.В. Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для щурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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.

Пестициди є одними з найбільш поширених забруднювачів антропогенного походження в навколишньому середовищі. Проте їх використання продовжує зростати, оскільки до теперішнього часу людство не знайшло адекватної заміни хімічним засобам захисту рослин. Разом з тим більшість пестицидних препаратів, в силу свого призначення націлені на руйнування життєво важливих функцій шкідників сільськогосподарських рослин і не можуть бути нешкідливими при впливі на нецільові організми. Відомо, що репродуктивну токсичність викликають пестициди на високих рівнях доз у моделях тварин, несприятливі наслідки в менших дозах для здоров'я людей важко оцінити. Кілька десятиліть тому було виявлено, що репродуктивна токсичність багатьох пестицидів зумовлена їх здатністю деструктивно впливати на ендокринну регуляцію репродуктивної системи тварин і людини, що призводить до відповідних порушень функції відтворення. Не останнє місце в асортименті пестицидних препаратів займають синтетичні піретроїди, що володіють високою інсектицидною активністю. Проведені останнім часом дослідження показали, що піретроїди володіють ендокрин-деструктивними властивостями при впливі на організм ссавців, органи і системи, у тому числі і репродуктивну. Ендокринно-деструктивні властивості піретроїдів пов'язані з порушенням функції безлічі

ядерних і мембранних гормональних рецепторів, що в кінцевому підсумку призводить до патологічних змін функції гонад і процесів відтворення потомства.

Дисертацію присвячено дослідженню стану репродуктивної функції в експерименті на щурах за умов впливу синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину (ЛЦТ) в період гаметогенезу. Дослідження проведено за допомогою високочутливого методологічного підходу щодо ідентифікації гонадо- і репродуктивної токсичності разом із визначенням рівнів вмісту статевих гормонів, що дозволить виявити токсичні ефекти ендокринних деструкторів. Дослідження були виконані для шістьох тестових субстанцій лямбда-цигалотрину різних виробників на самцях і самицях лабораторних щурів Wistar Hannover. Препарати вводились внутрішньошлунково в дозах 0,0; 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла впродовж 11 тижнів для самців та 10 тижнів для самиць. При дослідженні зразку ЛЦТ6, було створено групу із самців котрі отримували дозу 10 мг/кг маси тіла. Додатково вивчався рівень вмісту тестостерону в сироватці крові та досліджувалась оборотність або необоротність виявлених порушень у самців щурів у дослідженні із зразком ЛЦТ 6.

У роботі показано, що всі вивчені зразки ЛЦТ володіють пошкоджуючою дією на репродуктивну систему самців щурів. П'ять зразків (ЛЦТ2-ЛЦТ6) чинять токсичну дію на репродуктивну систему самиць. Системною токсичною дією на самиць володіють ЛЦТ3 і ЛЦТ4, на самців – ЛЦТ1, ЛЦТ4, ЛЦТ5, ЛЦТ6. Всі виявлені зміни виникають на рівні впливу доз 3,0 (ЛЦТ1- ЛЦТ6) і 10,0 мг/кг маси тіла (ЛЦТ6).

Репродуктивна токсичність ЛЦТ, що характеризується порушенням фертильності і функції відтворення потомства, виявлена у тестових сполуках ЛЦТ3, ЛЦТ5 і ЛЦТ6 в дозі 3,0 мг/кг маси тіла. Достовірне зниження індексів зачаття і фертильності у самиць виявлено за умов дії ЛЦТ3 і ЛЦТ5 на 15 – 20 %. При дії ЛЦТ3 у самиць порушується здатність до зачаття, яка корелює з підвищеною доімплантаційною загибеллю зародків, що призвело до

зниження загальної маси приплоду ($p \leq 0,05$). А зниження індексу зачаття у самиць під впливом ЛЦТ5 корелює зі зниженням середньої маси плодів ($p \leq 0,05$). Зазначені порушення свідчать про більш високий ступінь естрогеноподібної дії ЛЦТ3 і ЛЦТ5. Зниження здатності самців до запліднення і, відповідно, зниження в інтактних самиць індексів зачаття і фертильності зафіксовано при дії ЛЦТ2 на 21 % та 25 % відповідно, по відношенні до контрольної групи.

Ендокрин-деструктивні властивості ЛЦТ, проявляються зміною параметрів, що відображають баланс статевих гормонів у самиць і процеси сперматогенезу у самців, властиві всім вивченим зразкам. У самиць, при дії дози 3,0 мг/кг, зафіксовано статистично достовірне збільшення тривалості прогестеронзалежної стадії дієструс (ЛЦТ2 – $p \leq 0,0001$, ЛЦТ3 – $p \leq 0,05$, ЛЦТ4 – $p \leq 0,001$, ЛЦТ6 – $p \leq 0,05$), а також зниження тривалості естрогензалежної стадії проєструс (ЛЦТ2 – $p \leq 0,0001$, ЛЦТ6 – $p \leq 0,05$), що призводить до збільшення стадії еструс (ЛЦТ2 – $p \leq 0,0001$). Антиандроєний ефект у самців, характеризується олігоспермією (ЛЦТ2, ЛЦТ3, ЛЦТ4, ЛЦТ6 – $p \leq 0,05$), зниженням числа рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1 – ЛЦТ6, $p \leq 0,05$ – $p \leq 0,0001$), зниженням відносної кількості рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1, ЛЦТ3, ЛЦТ5, ЛЦТ6 – $p \leq 0,05$ – $p \leq 0,0001$), зниженням абсолютної маси сім'яників (ЛЦТ1 – $p \leq 0,05$) і збільшенням кількості патологічних форм сперматозоїдів за дії ЛЦТ6 у дозах 3,0 та 10,0 мг/кг маси тіла ($p \leq 0,05$ та $p \leq 0,01$).

Після закінчення періоду експозиції встановлено, що ЛЦТ6 викликає пошкоджуючий ефект на рівень вмісту тестостерону в крові самців. Виявляється немонотонна дозова залежність змін, що підтверджує універсальність подібного характеру відповідної реакції ендокринної системи на вплив ендокринних деструкторів. Зниження рівня тестостерону ($P \leq 0,01$) зафіксовано за дії середньої дози ЛЦТ6 3,0 мг/кг маси тіла. За експозиції мінімальної та максимальної доз рівень тестостерону проявляє незначну тенденцію до зниження. Не спостерігається кореляції між рівнем

тестостерону та параметрами сперматогенезу. Патологічні зміни параметрів сперми ($P \leq 0,05$; $\leq 0,01$) зафіксовані при дії середньої і максимальної доз і підпорядковуються лінійній дозовій залежності. Зниження маси тіла тварин, які отримували ЛЦТ6 у дозі 10,0 мг/кг маси тіла, свідчить про системну токсичність.

Після закінчення відновного періоду характер і тенденція виявлених змін зберігаються. Вміст тестостерону в групі самців дози 3,0 мг/кг достовірно знижено ($p \leq 0,05$), при дії доз 0,3 і 10,0 мг/кг маси тіла рівень цього гормону дещо зростає, як по відношенню до контролю, так і по відношенню до рівня гормону після експозиції, порушення процесів сперматогенезу і олігоспермія за дії максимальної дози посилюється ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$). Маса тіла тварин відновилася до контрольного рівня. Аналіз якісної та кількісної характеристики спостережених ефектів після закінчення періодів експозиції та відновлення дозволяє припустити, що досліджуваний ЛЦТ відноситься до необоротних ксеноагоністам естрогенних рецепторів із середнім ступенем активності, що викликає пошкодження клітин Сертолі і сперматогональної популяції гермінативних клітин в залежності від дозового рівня впливу. Параметри, що характеризують процеси сперматогенезу, і вміст тестостерону не досягли контрольного рівня за відновлювальний період, що свідчить про незворотність антиандрогенного ефекту впродовж 10 тижнів, а, можливо, і про повну незворотність спостережених ефектів. Системний токсичний ефект, індукований максимальною досліджуваною дозою, можна визнати оборотним.

Найбільш чутливими біомаркерами ендокрин-деструктивної дії ЛЦТ є параметри сперми, цитогормональні показники естрального циклу у самиць і рівень вмісту статевих гормонів. Самці більш чутливі до системної токсичності досліджуваного ксенобіютика. Ступінь репродуктивної токсичності всіх вивчених субстанцій знаходиться для самиць та самців на одному рівні – 3 мг/кг маси тіла. В діапазоні вивчених доз встановлений і обґрунтований рівень недіючої дози (NOAEL) лямбда-цигалотрину по

репродуктивній токсичності – 0,3 мг/кг маси тіла. Використана тест-система ідентифікації гонадотоксичної активності і репродуктивної токсичності, є адекватним, високочутливим методологічним підходом при тестуванні токсичних ефектів ендокринних деструкторів.

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

SUMMARY

Kolianchuk Y.V. Reproductive toxicity of generic substances of synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin for Wistar Hannover rats when exposed during gametogenesis. – Qualifying scientific work on the rights of manuscripts.

Dissertation for a scientific degree of Candidate of Biological Sciences in specialty 14.03.06 “Toxicology”. – SE “L.I. Medved Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the MH of Ukraine”, Kyiv, 2020.

Pesticides are one of the most common anthropogenic pollutants in the environment. Nevertheless, their use continues to grow, because so far humanity has not found an adequate replacement of plant protection chemicals. However, most of pesticides, by virtue of their purpose, aim to destroy the vital sign of agricultural pests, but also can be harmful to non-target organisms. It is known that the pesticides cause reproductive toxicity at high doses in animal models, and adverse effects at lower doses for human health are difficult to assess. Several decades ago, it was found that the reproductive toxicity of many pesticides due to their ability to disrupt the endocrine regulation of the reproductive system of animals and humans. It is leading to corresponding impaired reproductive function. Not least in the range of pesticides with high insecticidal activity are occupied synthetic pyrethroids. Recent studies have shown that pyrethroids have endocrine-disruptive properties when effected to mammals, organs and systems, including the

reproductive. Endocrine-disruptive pyrethroids properties are associated with dysfunction of many nuclear and membrane hormone receptors, which ultimately leads to pathological changes in gonadal function and progeny reproduction processes.

The dissertation is devoted to the study of the reproductive function state by the experiment on rats when exposed to synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin (LCT) during gametogenesis. The study was conducted on highly sensitive methodological approach of the identification of gonado- and reproductive toxicity, with defining levels of sex hormones, which will allow detecting endocrine disruptors in the testing of toxic effects. The studies were performed on six test substances of lambda-cyhalothrin from different manufacturers in male and female laboratory animals – Wistar Hannover rats. During 11 weeks for males and 10 weeks for females the test substances were administered orally by gavage at doses – 0.0; 0.3 and 3.0 mg/kg of body weight. In the study of substance LCT6, an additional group of males receiving a dose of 10 mg/kg body weight 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.

It is shown that all test substances of LCT have a damaging effect on the reproductive system of male rats. Five test substances (LCT2-LCT6) have toxic effects on the reproductive system of females. Systemic toxic effects for females have LCT3 and LCT4, for males – LCT1, LCT4, LCT5, and LCT6. All manifestations observed at the dose level of 3.0 (LCT1-LCT6) and 10.0 mg/kg of body weight (LCT6).

Reproductive toxicity of LCT, that characterized by impaired fertility and reproduction function, was detected in test compounds of LCT 3, 5 and 6 at a dose of 3.0 mg/kg of body weight. Conception and fertility indexes in females were significantly decreased when exposed to LCT3 and LCT5 by 15-20%. After the influence of LCT3, females have an impaired ability to conception that correlates with increased pre-implantation embryos death, which led to a decrease in total

litter weight. ($p \leq 0,05$). In addition, the conception index decrease in females under the influence of LCT5 correlates with reducing of the average fetuses weight ($p \leq 0,05$). These violations indicate a higher degree of estrogen-like action of LCT 3 and 5. Reducing the ability of males to fertilize and, accordingly, the decrease in the intact females of the conception and fertility indexes was recorded when exposed to LCT2 by 21% and 25%, respectively, relative to the control group.

Endocrine-disruptive properties of LCT, manifested by changes in parameters that reflect the balance of sex hormones in females and the process of spermatogenesis in males, inherent in all studied samples. In females, at a dose of 3.0 mg/kg, a statistically significant increase in the duration of the progesterone-dependent stage of diestrus (LCT2 – $p \leq 0.0001$, LCT3 – $p \leq 0.05$, LCT4 – $p \leq 0.001$, LCT6 – $p \leq 0,05$) was recorded. Also, a decrease in the duration of the estrogen-dependent proestrus stage (LCT2 – $p \leq 0.0001$, LCT6 – $p \leq 0.05$), leading to an increase in the estrous stage (LCT2 – $p \leq 0.0001$) was observed. Antiandrogenic effect in males characterized by the oligospermia (LCT2, LCT3, LCT4, LCT6 – $p \leq 0.05$), the decreasing in the number of motile sperm (LCT1 - LCT6, $p \leq 0.05$ - $p \leq 0.0001$) and in the relative number of motile sperm (LCT1, LCT3, LCT5, LCT6 – $p \leq 0.05$ - $p \leq 0.0001$), the reducing in the absolute weight of the testes (LCT1 – $p \leq 0.05$) and by the increasing in the number of pathological forms of sperm when exposed LCT6 at doses of 3.0 and 10.0 mg/kg of body weight ($p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$).

At the end of the exposure period was found that LCT6 has impaired effect on the testosterone level in the males' blood. Non-monotonic dose-response of changes was revealed, which confirms the versatility of a similar nature of the corresponding endocrine system reaction to the effect of endocrine-disruptors. Reducing of testosterone levels ($p \leq 0.01$) caused by exposure of middle LCT dose of 3.0 mg/kg of body weight. When the minimum and maximum doses exposed, testosterone levels show a slight tendency to decrease. There is no correlation between testosterone levels and spermatogenesis parameters. Pathological changes in sperm parameters ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$) were recorded after the influence of the

middle and maximum doses and are subordinate to linear dose-dependence. Reducing body weight of animals exposed by LCT6 at a dose of 10.0 mg/kg of body weight indicates the systemic toxicity of this dose level.

At the end of the recovery period, the nature and tendency of the detected changes persist. Concentration of testosterone in the male group at a dose of 3.0 mg/kg was significantly reduced ($p \leq 0.05$), at doses 0.3 and 10.0 mg/kg body weight, the level of this hormone increased slightly, both with respect to control and with respect to the hormone level after exposure; impaired spermatogenesis and oligospermia under the influence of the maximum dose is increased ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$; $p \leq 0.001$). The body weight of the animals recovered to the control level. Analysis of the qualitative and quantitative characteristics of the observed effects after the end of the exposure and recovery periods suggests that the studied LCT refers to irreversible estrogen receptor xenagonists with moderate activity, which causes damage to Sertoli cells and spermatogonial population of germinal cells depending on the dose level of exposure. The parameters characterizing the processes of spermatogenesis and testosterone content did not reach the control level during the recovery period. It indicates the irreversibility of the antiandrogen effect during 10 weeks, and possibly the complete irreversibility of the observed effects. The systemic toxic effect, induced by the maximum tested dose, can be identified as reversible.

The most sensitive biomarkers of endocrine-disruptive action of LCT are sperm parameters, cytohormonal parameters of the estrous cycle in females and the sex hormones level. Males are more sensitive to the toxic effect of the studied xenobiotic. The reproductive toxicity level of all studied substances is 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 lambda-cyhalothrin for reproductive toxicity was established and justified – 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 of 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.

Список публікацій здобувача

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.
3. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46.
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.
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.
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.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	23
1.1. Репродуктивна токсичність і методологічні підходи до її вивчення	23
1.2. Пестициди – ендокринні деструктори та проблема їхнього впливу на репродуктивну систему	29
1.3. Токсикологічна характеристика синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину	34
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	41
2.1. Матеріали, біологічні моделі й умови проведення експериментів	41
2.2. Методи вивчення гонадотоксичної активності при дії на самців щурів Wistar Han	48
2.3. Методи вивчення гонадотоксичної активності при дії на самиць щурів Wistar Han	53
2.4. Статистична обробка результатів	60
РОЗДІЛ 3. ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕБЕЗПЕКИ РЕПРОДУКТИВНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ШЕСТИ ЗРАЗКІВ ЛЯМБДА- ЦИГАЛОТРИНУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА САМЦЯХ І САМИЦЯХ ЩУРІВ WISTAR HANNOVER В УМОВАХ ЇХНЬОГО ВПЛИВУ В ПЕРІОД ГАМЕТОГЕНЕЗУ	62
3.1. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 1 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han	62
3.1.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han	62

3.1.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han	65
3.2. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 2 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han	69
3.2.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han	69
3.2.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han	72
3.3. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 3 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han	76
3.3.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han	76
3.3.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han	79
3.4. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 4 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han	83
3.4.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han	83
3.4.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han	87
3.5. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 5 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han	90
3.5.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han	90
3.5.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han	93
3.6. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 6 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han	96
3.6.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han	96

3.6.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han після періоду експозиції та формування груп для відновлювального періоду	99
3.6.3. Дослідження параметрів гонадо- та репродуктивної токсичності самців після закінчення відновлювального періоду	102
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	112
ВИСНОВКИ	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	134
Додаток А	159
Додаток Б	167
Додаток В	169
Додаток Д	170

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ
ВИМІРЮВАННЯ, СКОРОЧЕНЬ**

АФК	активні форми кисню
ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ГнРГ	гонадотропний рилізінг-гормон
ДДД	допустима добова доза
ЕАС	ендокринно-активні сполуки
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)
FDA	Food and Drug Administration (Управління продовольства і медикаментів)
F1	Перше покоління тварин
F2	Друге покоління тварин
GLP	Good Laboratory Practice (належна лабораторна практика)
ICI	Imperial Chemical Industries (Імперська хімічна промисловість)
LD50	Lethal Dose, 50% (смертельна доза 50 %)
LOAEL	Lowest-observed-adverse-effect level (найменша доза, при якій спостерігався токсичний або несприятливий ефект)

NOAEL	No-observed-adverse-effect level (найвища доза, при якій не спостерігалось токсичного або несприятливого ефекту)
NOEL	no-observed-effect-level (рівень, на якому не спостерігався ефект)
n	обсяг вибірки
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)
♀	самиці
♂	самці

ВСТУП

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 [1-6]. 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, оскільки є всі підстави припускати, що вони роблять вагомий внесок у порушення репродуктивної функції [7].

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 [8]. Взаємодія та регулювання всіх репродуктивних процесів забезпечується нейроендокринною системою “гіпоталамус – гіпофіз – статеві залози”. 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 [9-11]. 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.)” [12]. 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 [13-15]. 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 [16].

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.).

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.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Репродуктивна токсичність і методологічні підходи до її вивчення

Розмноження – це важливий біологічний процес у всіх живих системах і необхідний для виживання видів. Фізіологічні процеси, що беруть участь у розмноженні загалом включають наступне: гаметогенез (продукція сперми і яйцеклітин); вивільнення гамет (тобто дозрівання та транспортування сперми, копуляція між самцем та самицею та овуляція яйцеклітин); утворення зиготи (запліднення); ембріональний та внутрішньоутробний розвиток; нейроляція та органогенез (включаючи статеве диференціювання); і нарешті, «народження». У загальноприйнятому розумінні репродуктивний процес завершується народженням або пологами (ссавці). Однак, ініціювання та підтримку виробництва молока (лактація) для післяпологового харчування потомства також можна вважати одним з найважливіших аспектів відтворення ссавців [17].

Вплив токсикантів на процеси формування статевих залоз та гермінативних клітин на ранніх стадіях розвитку зародку в пренатальному періоді можуть привести до незворотних змін статевих органів та їх функцій у будь-який час в життєвому циклі [18-20].

Репродуктивна система жіночого організму – чітко організована система зі взаємопов'язаними структурними та функціональними елементами, підпорядкованими різним рівням регуляції. Весь каскад процесів, необхідних для дозрівання фолікула, овуляції, запліднення, функціонування жовтого тіла, підготовки ендометрія до імплантації, а також успішного продовження вагітності залежить від злагодженого функціонування складної нейроендокринної системи, куди входять жіночі статеві органи, щитоподібна залоза, надниркові залози та вищі регуляторні

центри (гіпоталамус, гіпофіз і центральна нервова система). Найменше порушення може призвести до розладу функціонування всієї складної репродуктивної системи жінки, яка забезпечує реалізацію генеративної діяльності [21-23].

Функціональне різноманіття чоловічої статевої системи та складність її гормональної регуляції, забезпечують величезну кількість потенційних місць для порушення хімічними сполуками. Якість сперми, доступної для запліднення, також може бути погіршена. Сперматогенез в яєчках складається з точно приуроченим та синхронізованим розвитком кількох поколінь статевих клітин, що включають сперматогоніальний мітоз, мейоз сперматоцитів та морфологічну трансформацію недиференційованих сперматид у високоспеціалізовану рухому сперму.

Впродовж цього складного розвитку, зародкові клітини вбудовані в цитоплазматичні процеси клітини Сертолі, яка структурно підтримує і переміщує статеві клітини від основи до просвіту каналця. Клітина Сертолі також передає основні молекули в статеві клітини з інтерстиціальної рідини, синтезує необхідні субстрати для метаболізму статевих клітин і, як правило, регулює прогрес сперматогенезу до його завершення.

Загальна регуляція процесу сперматогенезу опосередковується через ендокринну вісь клітини гіпоталамус-гіпофіза-Лейдіга, але однаково важливою є локальна регуляція клітинної функції через паракринні або автокринні фактори. Втручання в будь-який з цих процесів може призвести до зниження фертильності чоловічої статі [24].

Репродуктивна функція людини є однією з основних проблем у галузі здоров'я, що свідчить про зниження рівня репродуктивного здоров'я та збільшення кількості безплідних чоловіків та жінок [25]. Глобальна величина проблеми відображена в тому, що кожен рік у декількох мільйонів пар виявляються безпліддя і це підкреслює необхідність проведення досліджень у цій галузі для вивчення стану репродуктивного здоров'я та впливу екологічних ендокринних-деструкторів [25,26].

Шкідливі фактори довкілля спричиняють розвиток порушень репродуктивного здоров'я людини, про що свідчать епідеміологічні дані [27]. Сукупна дія на організм комплексу пестицидів створює значне хімічне навантаження на організм і може негативно впливати на репродуктивну систему чоловіків та жінок на будь-якому етапі їх розвитку. Такий вплив призводить до неефективної інтеграції біологічних процесів (морфологічних, фізіологічних, біохімічних), котрі необхідні для успішного функціонування репродуктивної функції. Порушення репродукції може бути наслідком як гострої, так і хронічної токсичної дії пестицидів у різні періоди життя.

Порушення ознак репродуктивної функції, таких як запліднення, виношування, розвиток плода та ін., можуть проявлятися через багато місяців, а іноді й років після експозиції пестицидами [8]. Поміж хвороб, що негативно впливають на стан репродуктивного здоров'я, як чинники підвищення ризику безплідності, розладу менструацій, позаматкової вагітності, появи новоутворень, вагоме значення мають запальні захворювання жіночих статевих органів. Частота даної патології залишається високою і становить приблизно 130 випадків на 10 тис. жінок [28,29].

Зростання промисловості, ріст урбанізації, хімізація сільського господарства, тобто розвиток наукового і технологічного потенціалу України, неминуче ведуть до збільшення експлуатації природних ресурсів, роблять все більш глибоким вплив на навколишню природу. Забруднення природного середовища в зв'язку з розвитком виробничих сил не є закономірністю. Навпаки, досягнення і успіхи в розвитку науки, зокрема гігієнічної, перспективи подальшого розвитку обумовлюють все необхідне для запобігання негативних впливів виробництва на оточуюче людину середовище. Високий методичний рівень наукових робіт забезпечується постійним удосконаленням існуючих і створенням нових методів та принципів досліджень [30-33].

Фундаментальні дослідження останніх десятиліть дозволили визначити основні механізми функціонування репродуктивної системи жіночого

організму. Прослідковано взаємозв'язок між функцією яєчників і секрецією гонадотропінів, визначені механізми регуляції фолікулогенезу в яєчниках, сформована теорія про вплив рівня статевих гормонів на тонічну та циклічну секрецію гонадотропінів гіпофізом, доведено цирхоральний ритм їх секреції. Це дозволило визначити не тільки основні закономірності функціонування репродуктивної системи в нормі, але й встановити типи її порушень при різних патологічних станах [34,35].

Незважаючи на широко вивчену репродуктивну систему та функцію чоловічого організму, детально описану гістологію сперматогенезу та ендокринні фактори, котрі необхідні для його завершення та для оптимальної фертильності, залишається багато питань щодо міжклітинної взаємодії, паракринних та генетичних факторів, необхідних для нормального сперматогенезу, і, мабуть, більш важливого значення, в який момент виявляються порушення, що призводить до чоловічого безпліддя, котре на разі зростає [36].

Небажані наслідки застосування пестицидів були визнані серйозною проблемою охорони здоров'я впродовж останніх десятиліть. Відомо, що вплив інсектицидів може викликати проблеми зі здоров'ям [37]. Віддалені наслідки дії інсектицидів у експериментальних тварин часто виникають внаслідок хронічного та тривалого їх впливу [38]. Жіноча репродуктивна система та чоловіча, зокрема, є однією із органів мішеней у ссавців, які можуть піддаватися впливу ксенобіотиків, порушуючи їх фізіологічну функцію [39].

Основним завданням превентивної токсикології є запобігання шкідливому впливу ксенобіотиків, що надходять в організм людини з різних об'єктів навколишнього середовища. Такими об'єктами можуть служити продукти харчування, харчові добавки та вода, забруднені залишковими кількостями хімічних засобів захисту рослин. В усьому світі використовуються синтетичні пестициди, кількість яких швидко зросла за останні п'ятдесят років завдяки інтенсифікації сільського господарства.

Вирішення цієї проблеми зводиться до мінімізації забруднення пестицидами, а також до оцінки ризику їх застосування, яка неможлива без адекватної і надійної ідентифікації небезпеки хімічних сполук, як показали кілька недавніх досліджень [7,25,40].

Ідентифікація небезпеки репродуктивної токсичності пестицидів є однією з найактуальніших у процесі оцінки ризику їх застосування. У зв'язку з цим методологія дослідження репродуктивної токсичності та гонадотоксичності, зокрема, є детермінуючим фактором в отриманні релевантних даних [33,41]. С. Bolognesi та Т. Naharashi [42,43] розглянули та проаналізували оцінку ризиків, яка ґрунтується на отриманих результатах досліджень від батьківського покоління та потомства, що охоплюють всі етапи онтогенезу. Показали, що генетичне пошкодження, пов'язане з пестицидами, виникає у популяціях людей, які зазнають високого рівня впливу через інтенсивне та неправильне їх використання. Більшість досліджень цитогенетичних біомаркерів у працівників, які зазнали впливу пестицидів, показали деякі залежні від дози ефекти із збільшенням тривалості та інтенсивності впливу [42,43].

Проблеми зі здоров'ям у людей та тварин у всьому світі зростають прямопропорційно зі збільшенням використання пестицидів [1-6,9]. Тому, що хімічні засоби захисту рослин впливають, і як на тваринний, так і на людський організм. Пріоритетним завданням превентивної токсикології є попередження потенційно небезпечного впливу цих речовин на здоров'я людини.

Дослідження впливу пестицидів та інших хімічних сполук на репродуктивну функцію, є обов'язковою складовою під час їх токсиколого-гігієнічної регламентації. Поняття “репродуктивна токсичність хімічних речовин” у контексті ідентифікації їх небезпеки для репродуктивної системи передбачає здатність тестових сполук індукувати як порушення функції розмноження у дорослих тварин, так і патологію розвитку у потомства. Однак слід зазначити, що в силу ряду причин вивчення патогенетичних

порушень у процесі ембріогенезу виноситься за рамки всіх інших досліджень з оцінки репродуктивної токсичності і методологічно кардинально від них відрізняється [41].

Одним із найперших методологічних підходів до ідентифікації репродуктивної токсичності хімічних сполук є тест на трьох поколіннях – “Three Generation Reproductive Study” [44,45]. Але в зв’язку з використанням дуже великої кількості тварин у даному тесті, дослідники почали відходити від цього дослідження.

На даний час у списку тестів Агентства з охорони навколишнього середовища США (US EPA) та Європейської Організації економічного співробітництва та розвитку (OECD), існує декілька методів по вивченню репродуктивної токсичності при дії на різні етапи життєвого циклу:

- вплив на репродуктивні функції, такі як функції статевих залоз, сексуальна поведінка, спарювання, розвиток плода та народжуваність (Скринінг тест OECD 421 “Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test”, 422 “Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test”);
- вплив на фертильність. Функції статевих залоз, сексуальна поведінка, спарювання, розвиток плода та народжуваність F1 покоління (OECD 415 “One-Generation Reproduction Toxicity Study”);
- вплив на репродуктивні функції, такі як функції статевих залоз, сексуальна поведінка, спарювання, розвиток плода та народжуваність F1 та F2 покоління (OECD 416 “Two-Generation Reproduction Toxicity Study”);
- вплив на перед- та післянатальний розвиток, а також оцінка системної токсичності у дорослих і потомства, життєздатність потомства. Вплив досліджуваної речовини на репродуктивну систему дорослих самців і самиць. Вивчення нейротоксичності та імунотоксичності (OECD 443 “Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study”);
- вплив на розвиток, тератогенез (OECD 414 “Prenatal Developmental

Toxicity Study”) [46-52].

В нашій крваїні використовується тест на гонадотоксичну активність, тобто вплив під час періоду гаметогенезу, а потім вже вивчення, як це впливає на розвиток, на репродуктивні функції гонад, на ембріогенез тощо [41,53]. Даний методичний підхід проводиться із використанням набагато меншої кількості тварин, а ніж тести, що перераховані вище, і може відповісти на запитання про дію хімічних сполук на організм тварин, таких, як: фертильність, цикл сперматогенезу, статевий (естральний) цикл у самиць, статеву чутливість (так, як піддослідні тварини спарюються з інтактними тваринами), репродуктивну функцію [54,55].

1.2. Пестициди – ендокринні деструктори та проблема їхнього впливу на репродуктивну систему

Ендокринна система є однією з основних систем гомеостатичного контролю організму, метою якої є підтримка нормальних функцій і розвитку в умовах постійно змінного навколишнього середовища. Працюючи в тандемі з нервовою системою, яка в основному відповідає за швидкі і негайні реакції, приблизно 30 різних залоз, котрі входять до складу ендокринної системи, мають тенденцію діяти повільніше та більш стійко, щоб регулювати такі різні процеси, як жіночий репродуктивний цикл, зростання кісток, проліферація клітин і психосоціальна поведінка. Множинні ендокринні залози також працюють спільно один з одним, утворюючи складні петлі зворотного зв'язку, що жорстко регулюють критичні фізіологічні процеси.

Як і всі системи гомеостатичного контролю, здатність підтримувати фізіологічні параметри в межах норми є обмеженою, і коли ця здатність перевищується за рахунок хімічного впливу, препаратів або стресу та впливом навколишнього середовища, можуть виникнути несприятливі наслідки. У середині 90-х років стурбованість щодо потенціалу хімічних речовин, наркотиків та інших стресових факторів, що змінюють ендокринну

фізіологію, швидко зростає та приділяється велика увага як у токсикологічному співтоваристві, так і в громадських засобах масової інформації. Ці обставини спричинили шквал досліджень механізмів токсичності, нові запитання про те, як боротися з кумуляційним впливом ендокринно-активних сполук (ЕАС) від антропогенних, дієтичних та ендогенних джерел, а також створення основних програм хімічного обстеження та тестування, зосереджених на ендокринних опосередкованих способах токсичної дії.

Занепокоєння щодо ендокринних деструкторів було ще більше посилено через повідомлення про те, що такі сполуки можуть викликати унікальні ефекти на рівні низьких доз та виявляти немонотонні відповіді на дозу. Проблемою виявлення цих ефектів пов'язана з тим, що в регуляторній токсикології, дослідження, як правило, проводяться при більш високих дозах [56].

Поняття, пов'язане з низькою дозою, – це поняття немонотонної відповіді. В монотонній відповіді спостережувані ефекти можуть бути лінійними або нелінійними, але нахил кривої не змінюється знаком. Навпаки, крива доза-відповідь немонотонна, коли нахил кривої змінюється знаком десь у межах діапазону досліджуваних доз. Криві немонотонної дозо-залежності часто мають U-подібну форму (з максимальною реакцією вимірюваної кінцевої точки, що спостерігається при низьких і високих дозах) або інвертовану U-подібну форму (з максимальними реакціями, що спостерігаються при проміжних дозах). Немонотонність не є синонімічною з низькою дозою, оскільки є низькі дози, що слідує за монотонними кривими реакції на дозу.

У стандартній практиці регуляторної токсикології розраховується безпечна доза, яку ще називають референтною дозою, котра перевіряється рідко. Всі діючі стандарти впливу, що застосовуються урядовими установами по всьому світі, включаючи FDA та EPA, були розроблені з використанням припущення про монотонність. Діапазон низьких доз, який, зазвичай отримує

широка громадськість, рідко, якщо взагалі, перевіряється безпосередньо. Стандартна процедура регуляторного тестування, як правило, включає серію тестів, щоб встановити найнижчу дозу, при якій ефект спостерігається (LOAEL), потім дозу, нижчу за ту, при якій ефекту не спостерігається (NOAEL). Потім використовується ряд розрахунків, щоб визнати невизначеність даних, різницю видів, різницю у віці тощо, і ці розрахунки, починаючи з LOAEL або NOAEL, дають еталонну дозу, яка, як вважається, є безпечною для людей. Як правило, референтна доза в 3-1000 разів нижча, ніж NOAEL. Ця контрольна доза потім стає допустимою для експозиції і вважається безпечною, навіть коли її ніколи не досліджують безпосередньо. Для хімікатів із монотонними лінійними кривими доза-відповідь може бути доречною. Але для хімічних речовин, що демонструють немонотонні структури, це, ймовірно, може призвести до помилкових негативних наслідків, тобто зробити висновок, що вплив цієї дози є безпечним, але насправді це не так [57].

Пестициди є одним із найбільш поширених забруднювачів антропогенного походження в навколишньому середовищі. Проте їх використання продовжує зростати, оскільки до теперішнього часу людство не знайшло адекватної заміни хімічних засобів захисту рослин. Разом з тим, більшість пестицидних препаратів, в силу свого призначення, націлені на руйнування життєво важливих функцій сільськогосподарських шкідників, не можуть бути нешкідливими при впливі на нецільові організми.

Відомо, що пестициди викликають репродуктивну токсичність на високих дозах у моделях на тваринах, однак несприятливі наслідки в менших дозах для здоров'я людей важко оцінити [25,40].

Було виявлено кілька десятиліть тому, що репродуктивна токсичність багатьох пестицидів зумовлена їх здатністю деструктивно впливати на ендокринну регуляцію репродуктивної системи тварин і людини, що призводить до відповідних порушень функції відтворення [6,9].

Як відомо, до ендокринних деструкторів відносяться речовини, що

втручаються в продукцію, зберігання, вивільнення, транспортування, зв'язування, активність та елімінацію природних циркулюючих у крові гормонів, відповідальних за підтримання гомеостазу та регулювання диференціації життєво важливих процесів [10]. Ендокринно-деструктивні властивості багатьох пестицидів обумовлені їх структурною подібністю з природними гормонами, у зв'язку з чим, потрапляючи в організм і зв'язуючись з ядерними рецепторами, вони чинять гормоноподібну дію, що порушує гомеостатичні механізми регуляції ендогенними гормонами процесів життєдіяльності живих організмів [10,58-65]. Виникаючі внаслідок цього порушення системи відтворення потомства, можуть бути виявлені в процесі ідентифікації небезпеки в тест-системах дослідження цілісного організму [66].

Як відомо, деякі фунгіциди порушують ендокринні системи і можуть призвести до вад репродуктивної функції та розвитку плоду. Ряд пестицидів, таких як вінклозолін, дикофол, атразин та інші, відносяться до важливих класів хімічних речовин, що руйнують ендокринну систему, котрі, як відомо, перешкоджають синтезу, транспорту, зв'язуванню, дії, елімінації природних гормонів в організмі, які відповідальні за підтримання гомеостазу, регулювання процесів розвитку та обміну речовин, про що стверджує ряд авторів [67-70].

Деякі фунгіциди впливають на відтворення різних механізмів дії, ендокринні порушення: екзогенні речовини перешкоджають нормальному процесу відтворення та розвитку [71,72]. У чоловіків нормальна репродуктивна функція передбачає взаємодію гіпоталамо-гіпофізарного зв'язку з гонадами та щитовидної залози. У самок збільшується концентрація естрогенів, що можуть впливати на функцію яєчників через порушення механізму зворотного зв'язку в гормональному ланцюзі.

В статті Nidhi Mathur та ін. [18] оцінено тератогенні ефекти деяких пестицидів (триадимефон, тебуконазол, ципроконазол) на ембріонах щурів. Ця робота вказує на те, що випробувані триазоли володіють тератогенною

активністю у гризунів та викликають аномалії розвитку.

Наприклад, фенаримол, прохлораз та хлоратолоніл викликають безпліддя у самців та самиць щурів через інгібування ферментів, які беруть участь у метаболізмі стероїдів, зміні сексуальної диференціації через антагонізм рецепторів андрогенів. Дослідження авторів Joshi SC та ін. [73] показали, що фунгіцид вінклозалін викликає ендокринно-модулюючі ефекти у плодів самців, після експозиції під час останнього триместру вагітності. Виявлено морфологічні зміни статевих органів, зменшення аногенітальної відстані та інші вади розвитку у нащадків [74].

Не останнє місце в асортименті пестицидних препаратів займають синтетичні піретроїди, що володіють високою інсектицидною активністю і відносно низькими нормами витрат, і використання яких упродовж останніх років збільшилось у кілька разів, котрі, попри свої нейротоксичні властивості, є ендокринними деструкторами [75-77].

Так, проведені останнім часом дослідження, показали, що піретроїди володіють ендокрин-деструктивними властивостями при впливі на організм ссавців, органи і системи, в тому числі і репродуктивну. Ендокринно-деструктивні властивості піретроїдів пов'язані з порушенням функції безлічі ядерних і мембранних гормональних рецепторів, що в кінцевому підсумку призводить до патологічних змін функції гонад і процесів відтворення потомства [13-15, 78-81].

Одним з широко використовуваних у даний час інсектицидів є синтетичний піретроїд II типу лямбда-цигалотрин [82-84]. З цим, мабуть, пов'язаний більший інтерес з боку багатьох дослідників до вивчення тонких механізмів його дії на різних видах тварин (щури, кролики, миші, риби). Результати, отримані в цих дослідженнях, свідчать про універсальну шкідливу дію даного інсектициду на ендокринну систему зазначених представників тваринного світу [85-93].

1.3. Токсикологічна характеристика синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину

Синтетичні піретроїди (СП), є найбільш широко вживаною групою інсектицидних препаратів, що застосовується для боротьби з переносниками захворювань: тарганами, комарами, кліщами та мухами. СП є структурними похідними природних піретринів і були розроблені з метою поліпшення специфічності та активності природного інсектицидного піретруму, таким чином вони є більш ефективними ніж хлорорганічні речовини, органофосфати та карбамати, а також складають понад 30 % засобів для боротьби зі шкідливими комахами у всьому світі [94,95]. Вигідні властивості СП, такі як низькі норми витрат при обробці сільськогосподарських культур та низька летючість, сприяли також їх широкому застосуванню [96].

Піретроїди класифікують на дві великі групи [97,98]. У піретроїдів I типу (наприклад, алетрин, перметрин) відсутня ціаногрупа. Піретроїди II типу (наприклад, дельтаметрин, фенвалерат і цигалотрин) мають ціаногрупу в α -позиції. Вони нейротоксичні як для ссавців, так і для комах. Піретроїди демонструють схему токсичної дії, характерну для сильного збуджуючого впливу на нервову систему. У ссавців описано два різних токсичних синдроми: T-синдром, індукований піретроїдами I типу, і синдром CS, індукований сполуками II типу [99-101]. Піретроїди I типу викликають гіперзбудження, атаксію, судоми, параліч, і повторюванні нервові імпульси [102-105]. На відміну від I типу, отруєння піретроїдами II типу характеризується гіперчутливістю, рясним слиновиділенням, хореоатетозом, тремором і паралічем, але відсутністю безперервних нервових імпульсів у сенсорних нервах [102,103,106]. Деякі піретроїди, що викликають тремор і слиновиділення, класифіковані як проміжний TS-синдром. Хоча молекулярні аспекти дії піретроїду ще не до кінця вивчені, детальне електрофізіологічне дослідження наголошує, що залежний від напруги натрієвий канал у нервовій мембрані є загальною мішенню як для комах, так і для ссавців, включаючи

людину [94,103-108]. СП (піретроїди типу II) впливають на нервові клітини шляхом зв'язування з білком, який регулює механізм передачі імпульсів через натрієво-калієвий канал.

Відомо, що всі пестициди, володіючи високою біологічною активністю щодо цільових об'єктів, можуть чинити токсичний ефект і на нецільові організми [109-113].

Механізми токсичної дії пестицидів на організм ссавців дуже різноманітні. СП, завдяки своїм фізико-хімічним властивостям, що полягають у високій ліпофільності, з легкістю проникають через біологічні мембрани та акумулюються в тканинах експонованого організму.

Одним із важливих молекулярних механізмів, пов'язаних із токсичністю, викликану СП, вважається перекисне окислення ліпідів [114-121]. У нормальному фізіологічному стані активні форми кисню (АФК) та антиоксиданти залишаються більш-менш збалансованими. Коли ця рівновага порушується в бік збільшення АФК, відбувається оксидативний стрес. АФК впливає на кілька фізіологічних процесів від дозрівання ооцитів до запліднення; викликаючи зміни в метаболічних реакціях, розвитку ембріона та вагітності.

Що стосується самців щурів, то як показали експериментальні дослідження Kale M. C et al. та Elbetieha A. et al. [122,123], одним із механізмів токсичного впливу піретроїдів на гонади є формування високого рівня вільних радикалів у процесі метаболізму СП, що викликають оксидативний стрес у експонованих тварин, що призводить до погіршення їх репродуктивної функції. Особливо чутливими до оксидативного стресу є сперматозоїди, оскільки їх плазматичні мембрани містять високу концентрацію поліненасичених жирних кислот, а цитоплазма містить низькі концентрації антиоксидантних ферментів [124,125]. Ці клітини природним чином захищені від такого ушкодження антиоксидантними властивостями сім'яної плазми, яка містить ряд ферментативних (супероксиддисмутази, каталаза, глутатіонпероксидази, глутатіон-S-трансфераза та ін.) та

неферментативних антиоксидантів (таурин, гіпотарин, адреналін, піруват та ін.), можуть нейтралізувати потенційно токсичні пошкодження вільними радикалами [126-128]. Однак, незважаючи на добре розвинену антиоксидантну систему захисту, сперматозоїди можуть піддаватись впливу активних форм кисню (АФК) за дії токсичних хімікатів та забруднюючих речовин навколишнього середовища. В експериментах минулих років дослідниками описано різні структурні зміни в сперматозоїдах і пов'язаних з ними біохімічними порушеннями в сім'яниках після впливу СП в умовах *in vitro* і *in vivo* таких як: циперметрин, фенвалерат та лямбда-цигалотрин [129-131]. Наприклад, кількість сперматозоїдів у сім'яниках та придатках, а також добове виробництво сперми були значно знижені у самців щурів, які піддавались впливу циперметрину [123]. С. Yuan і співавт. [132] показали, що в тесті *in vitro* через 4 години інкубації сперми щурів лінії Sprague-Dawley з перметрином та циперметрином, рухливість сперматозоїдів була знижена. Ці дослідження підтверджують чутливість плазматичної мембрани сперматозоїдів, яка багата поліненасиченими жирними кислотами, до дії оксидативних агентів [124].

Більше того, піретроїдні інсектициди та їх метаболіти можуть порушити ендокринний баланс [133]. Наприклад, повідомлялося про естрогенну активність метаболітів піретроїдів, включаючи 3-феноксibenзиловий спирт, 3-геноксibenзальдегід та 3-феноксibenзойну кислоту [133-136]. Крім того, синтетичні піретроїдні інсектициди індукують гістопатологічні зміни в різних органах ссавців, включаючи сім'яники, печінку, нирки та селезінку [76,83,137-141].

Лямбда-цигалотрин (ЛЦТ), представник четвертого покоління синтетичних піретроїдів II типу, широко застосовується в якості активного інгредієнта в препаративних формах засобів захисту рослин для боротьби з комахами-шкідниками в сільському господарстві, побуті, охороні здоров'я [82,83,142,143]. Має шлункову та контактну токсичну дію проти широкого спектру членистоногих шкідників [144-147]. Для боротьби зі шкідниками

членистоногих сільськогосподарського та громадського здоров'я доступно понад 170 препаратів ЛЦТ [148-150].

Лямбда-цигалотрин отримують шляхом кристалізації більш активної пари енантіомерів з цигалотрину. Чистий лямбда-цигалотрин є рацемічною сумішшю енантіомерів пари В-ізомерів у співвідношенні 1:1. Пара енантіомерів А присутня в низькій концентрації в комерційному продукті.

Цигалотрин був розроблений компанією ICI в 1977 році. Його синтезують шляхом естерифікації 3-(2-хлоро-3,3,3-тріфлуоропроп-1-еніл)-2,2-диметилциклопропанкарбонової хлорид кислоти з α -ціано-3-феноксibenзиловим спиртом. Цигалотрин має два асиметричні центри в кислотному фрагменті та один у спиртовому фрагменті, а також у Z і E форм. Таким чином, існує 16 можливих ізомерних форм (вісім енантіомерних пар). Однак на практиці цигалотрин виробляється лише у формах Z і цис, зменшуючи кількість ізомерів до чотирьох. Вони включають дві цис-енантіомерні пари:

Енантіомерна пара А: (Z), (1R, 3R), R- α -ціано (Z),
(1S, 3S) S- α -ціано;

Енантіомерна пара В: (Z), (1R, 3R), S- α -ціано (Z),
(1S, 3S) R- α -ціано.

Лямбда-цигалотрин має той же спектр інсектицидної активності, що і цигалотрин, але він більш активний. Як і інші фотостабільні синтетичні піретроїди, лямбда-цигалотрин відносно стійкий до деградації на сонячному світлі. Це дозволяє використовувати їх як практичний інструмент у сільському господарстві [144].

Вплив широко використовуваного інсектициду ЛЦТ на людину, домашніх тварин та тварин дикої природи можливий безпосередньо, через участь у його виробництві, обробці та застосуванні, або опосередковано, через споживання продуктів, забруднених інсектицидом або його метаболітами.

За даними EFSA (European Food Safety Authority), лямбда-цигалотрин

загалом проявляє більш високу гостру пероральну токсичність ніж цигалотрин. Токсичність цигалотрину помірна для щурів при значенні LD50 – 144-243 мг/кг; тоді як у лямбда-цигалотрину вище – LD50 56-79 мг/кг. При дослідженні гострої оральної токсичності на мишах лямбда-цигалотрин є сильно токсичним, після перорального введення LD50 20 мг/кг, а для цигалотрина – 37-62 мг/кг. Ознаки інтоксикації характерні для токсичності піретроїдів II типу і включають пілоерекцію, пригнічену поведінку, атаксію, слиновиділення [16].

Токсичність ЛЦТ для ссавців та його здатність викликати оксидативний стрес у моделях *in vitro* та *in vivo* були описані в роботах різних авторів [83,139,151-153]. Показано, що цей інсектицид викликає генотоксичність (утворення мікроядер, хромосомні аберації в клітинах кісткового мозку щурів, тощо) окрім того, викликає сексуальну дисфункцію у щурів-самців [154-158]. Нещодавні дослідження повідомляють, що реактивні види кисню (ROS) беруть участь у токсичності, спричиненій ЛЦТ [83,139,152].

До теперішнього часу дослідження репродуктивної токсичності оригінальної молекули ЛЦТ у тесті декількох поколінь не проводились. Єдині дані, котрі нам вдалося знайти, це дослідження впливу лямбда-цигалотрину на параметри сперми у мишей, що призводить до пошкодження морфології сперматозоїдів [16,159].

Оцінка ризику репродуктивної токсичності ЛЦТ для людини здійснювалась на основі екстраполяції даних, отриманих з експерименту на трьох поколіннях тварин з цигалотрином [16,159]. Дослідження впливу цигалотрину було проведено на щурах в дозах: 0,0; 10,0; 30,0 і 100,0 ppm [144]. Токсичність для репродуктивної системи щурів не була виявлена в максимальній досліджуваній дозі. Для батьківського покоління недіюча доза (NOAEL) 30 ppm і для потомства встановлено NOAEL 10 ppm, на підставі зниження маси тіла дорослих тварин при дії максимальної дози (100 ppm) і вираженої системної токсичності для щурят у період лактації та зниження

виживання після народження в дозах токсичних для батьківського покоління.

Прийнятна допустима добова доза (ДДД) лямбда-цигалотрину в Європі – 0,0025 мг/кг маси тіла, була встановлена базуючись з дослідження репродуктивної токсичності на трьох поколіннях тварин цигалотрину зі застосуванням коефіцієнт невизначеності (UF) 200 (стандартний UF 100 і додатковий коефіцієнт два для перерахунку з цигалотрину на лямбда-цигалотрин) до NOAEL 0,5 мг цигалотрину/кг маси тіла на добу [16]. В Україні ДДД для лямбда-цигалотрину встановлена на рівні 0,003 мг/кг маси тіла.

Тому, в контексті цього, постає актуальна науково-практична задача дослідження впливу генеричних зразків лямбда-цигалотрину на репродуктивну функцію самців та самиць щурів Wistar Han у період гаметогенезу та порівняння отриманих даних. А також оцінити оборотність або необоротність виявлених змін за показниками отриманих на самцях щурів.

Висновки до розділу 1

На основі проведеного аналітичного огляду й аналізу сучасної вітчизняної та, переважно, іноземної наукової літератури за темою дисертаційної роботи встановлено, що репродуктивна токсичність лямбда-цигалотрину не досліджена. Екстраполяція даних щодо репродуктивної токсичності з менш токсичного цигалотрина на більш токсичний лямбда-цигалотрин не дає можливості в повній мірі оцінити потенційний його ризик для людини. Тому проведення комплексного дослідження репродуктивної токсичності шести зразків пестициду лямбда-цигалотрину, котрі різняться чистотою діючої речовини є актуальною задачею і вимагає різнобічного вивчення всіх аспектів репродуктивної токсичності та його можливого впливу на ендокринну систему щурів, що дозволить надати оцінку його потенційної небезпечності для людини.

Літературний аналіз дав можливість обґрунтувати актуальність дисертаційної роботи та визначити основні напрямки досліджень.

Основні результати даного розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46.
2. Колянчук ЯВ. Проблема оцінки репродуктивної токсичності (гонадотоксичності) пестицидів. Мед. та клін. хімія. 2018;20(2):123-30.
3. 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.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали, біологічні моделі й умови проведення експериментів

Дослідження виконані у відділі “Інститут експериментальної токсикології та медико-біологічних досліджень” ДП “Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України”. Експериментальна робота проведена згідно з принципами GLP (Good Laboratory Practice, Directive 2004/10/EC of the European Parliament and of the Council of 11 February 2004) та стандартних операційних процедур, розроблених у відповідності до рекомендацій та вимог OECD 415 (One-Generation Reproduction Toxicity Study) [49,160].

Один із основних напрямків сучасної токсикології прямо пов’язаний із дослідженням патологічних змін в організмі при хронічних токсичних впливах. Використання в експерименті лабораторних тварин, як біологічних моделей, дозволить простежити динаміку патологічних змін в органах і скласти уявлення про розвиток патологічних процесів на системному, органному, клітинному і субклітинному рівнях. При проведенні досліджень по репродуктивній токсичності хімічних речовин, для оцінки їх впливу на здатність до відтворення потомства, розвиток плода та перед- і постнатальну токсичність, найбільш часто використовуються такі види тварин як щурі. Також, у зв’язку з особливостями протікання у них овуляторного циклу і високою швидкістю розмноження, щурі є найбільш придатними для виявлення впливу токсичних речовин на репродуктивні функції.

Дослідження на тваринах проведені згідно з вимогами та положень Комісії з етики медичних та біологічних досліджень Наукового центру (закон України № 3447-IV від 21.02.2006 року “Про захист тварин від жорстокого поводження”) та “Європейської конвенції про захист тварин,

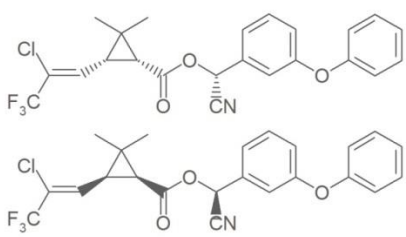
що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 18.03.1986) ETS №123, “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (National Academies Press, USA, 2011) [161-163].

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, зокрема досліджень їх репродуктивної токсичності. Особливої актуальності ці дослідження набули, після того як в Україну почали надходити численні заявки на реєстрацію пестицидних препаратів від фірм виробників пестицидів-генериків, що не забезпечені токсикологічними базами даних. Для вирішення питань про можливість реєстрації пестицидів-генериків в Україні проводяться обов’язкові експериментальні дослідження їх репродуктивної токсичності, на підставі чого здійснюється ідентифікація небезпеки та оцінка ризику репродуктивної токсичності всіх заявлених препаратів.

Дослідження гонадо- та репродуктивної токсичності було проведено для шістьох зразків генеричного синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину (ЛЦТ) різних виробників, що різняться між собою вмістом діючої речовини (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Структура та ідентифікація лямбда-цигалотрину

Номер CAS	91465-08-6
Структура	

Хімічна назва IUPAC	(R)- α -ціано-3-феноксібензил(1S)-цис-3-[(Z)-2-хлоро-3,3,3-тріфлуоропропеніл]-2,2-діметилциклопропанкарбоксилат і (S)- α -ціано-3- феноксібензил (1R)-цис-3-[(Z)-2-хлоро 3,3,3- тріфлуоропропеніл]-2,2-діметилциклопропанкарбоксилат
Молекулярна формула	C ₂₃ H ₁₉ ClF ₃ NO ₃
Молекулярна маса, г/моль	409,9
Хімічний клас	синтетичні піретроїди
Чистота лямбда-цигалотрину	
Лямбда-цигалотрин - ЛЦТ 1	97,00 %
Лямбда-цигалотрин - ЛЦТ 2	96,00 %
Лямбда-цигалотрин - ЛЦТ 3	97,10 %
Лямбда-цигалотрин - ЛЦТ 4	96,70 %
Лямбда-цигалотрин - ЛЦТ 5	95,60 %
Лямбда-цигалотрин - ЛЦТ 6	98,06 %

Самці та самиці щурів Wistar Hannover отримані з SPF розплідника ДП “Науковий токсикологічний центр імені академіка Л.І. Медведя МОЗ України” віком 5-6 тижнів та масою тіла 80-100 грам. Адаптаційний період продовжувався не менше п’яти днів. Упродовж цього часу проводили щоденні спостереження за їх фізіологічним станом для виявлення ознак патологій. Щури рандомізувались за масою тіла та кожній тварині робилось маркування нанесенням міток на хіст для присвоєння індивідуального номеру. Тварин вибраковували при значному відхиленні від середньої маси тіла.

Умови утримання тварин. Тварини були розміщені в конвенційному віварії. Кімната була забезпечена примусовою вентиляцією (12 об’ємів в

годину), яка виключала рециркуляцію повітря. Температура і відносна вологість повітря реєструвалися щодня, коливання температури складали від 19 до 24 °С, вологості – від 30 до 70 %. Освітлення було природним.

Забезпечення водою. Тварини отримували деіонізовану, незаражену УФ-опроміненням і очищену зворотним осмосом, фільтровану питну воду *ad libitum* з пластикових пляшок об'ємом 0,5 літра через металеві накінечники.

Раціон. Упродовж всього експерименту щури отримували *ad libitum* збалансований гранульований корм зі зниженим вмістом природних фітоестрогенів виробництва Альтромін (Німеччина).

Тип кліток і кількість тварин в клітці. Тварини були розміщені в клітках типу М4 впродовж усього періоду досліджень. Корпус клітки (40x30x15 см) виготовлений із міцного пластмасового матеріалу, згори накритий металевими решітками, що знімаються. Підстилка зі стерилізованого, не хлорованого харчового паперу змінювалася 1 раз на тиждень.

Для кожної тестової субстанції лямбда-цигалотрину (ЛЦТ) тварини були розподілені на три групи: по 20 самців та самиць щурів у кожній. Паралельно з контрольними і піддослідними тваринами для кожної тестової сполуки утримувалась група з 20 інтактних самців та 40 самиць, призначених для спарювання (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Кількість тварин та дози лямбда-цигалотрину

№ групи	Стать	Дози, мг/кг	Кількість тварин
ЛЦТ1			
1	самці	0,0	20
	самиці	0,0	20
2	самці	0,3	20
	самиці	0,3	20

№ групи	Стать	Дози, мг/кг	Кількість тварин
3	самці	3,0	20
	самиці	3,0	20
4 інтактні	самці	–	20
	самиці	–	40
ЛЦТ2			
1	самці	0,0	20
	самиці	0,0	20
2	самці	0,3	20
	самиці	0,3	20
3	самці	3,0	20
	самиці	3,0	20
4 інтактні	самці	–	20
	самиці	–	40
ЛЦТ3			
1	самці	0,0	20
	самиці	0,0	20
2	самці	0,3	20
	самиці	0,3	20
3	самці	3,0	20
	самиці	3,0	20
4 інтактні	самці	–	20
	самиці	–	40
ЛЦТ4			
1	самці	0,0	20
	самиці	0,0	20
2	самці	0,3	20
	самиці	0,3	20

№ групи	Стать	Дози, мг/кг	Кількість тварин
3	самці	3,0	20
	самиці	3,0	20
4 інтактні	самці	–	20
	самиці	–	40
ЛЦТ5			
1	самці	0,0	20
	самиці	0,0	20
2	самці	0,3	20
	самиці	0,3	20
3	самці	3,0	20
	самиці	3,0	20
4 інтактні	самці	–	20
	самиці	–	40
ЛЦТ6			
1	самці	0,0	20
	самиці	0,0	20
2	самці	0,3	20
	самиці	0,3	20
3	самці	3,0	20
	самиці	3,0	20
4	самці	10,0	10
5 інтактні	самці	–	20
	самиці	–	40
Всього тварин:			1090
Всього проаналізовано плодів:			6283

Дослідження репродуктивної токсичності цигалотрину на трьох

поколіннях тварин проведено з використанням доз 0,5, 1,5 та 5 мг/кг маси тіла, але зважаючи на те, що лямбда-цигалотрин більш токсичний за LD50 ніж цигалотрин, нами були обрані дози 0,3 і 3,0 мг/кг маси тіла та додатково для зразку лямбда-цигалотрину № 6 – 10 мг/кг маси тіла для самців щурів [16].

Піддослідним тваринам вводилась тестова субстанція *ex tempore* щодня, крім суботи та неділі, внутрішньошлунково за допомогою зонду – трьом групам тварин у дозах 0,0; 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла впродовж 11 тижнів для самців та 10 тижнів для самиць. При дослідженні ЛЦТ6 додатково було створено групу із 10 самців, котрі отримували дозу 10 мг/кг маси тіла. Тварини контрольної групи отримували дистильовану воду з емульгатором (ОП-10) у еквівалентних кількостях.

Суспензію для введення готували щодня *ex tempore*, розведену дистильованою водою. Концентрація розчину тестових субстанцій лямбда-цигалотрину в залежності від дози була: 0,2 - 0,06 - 0,006 % (табл. 2.3)

Таблиця 2.3

Приготування суспензії лямбда-цигалотрину (концентрація та дози)

Дози ЛЦТ	Концентрація (мг/мл)	%
0,0 мг/кг	0	0
0,3 мг/кг	0,006	0,006
3,0 мг/кг	0,06	0,06
10 мг/кг	0,2	0,2

Суспензію вводили з розрахунку 0,5 мл на 100 грам маси тіла тварин. Для корекції об'єму розчину, що вводився відповідно до збільшення маси тіла, тварини щотижня зважувалися.

По закінченню експозиції самців досліджували функціональні показники стану гонад і здатність тварин до відтворення потомства. Оцінювали кількість рухливих сперматозоїдів, їх загальну кількість, а також

число патологічно змінених форм статевих клітин. У дослідженні ЛЦТ6 частину самців (по п'ять із кожної групи) залишали на відновний період без експозиції впродовж одного повного циклу сперматогенезу (70 днів) та додатково 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 день вагітності піддослідних самиць, які завагітніли від інтактних самців, і інтактних самиць, спарених з піддослідними самцями. При цьому реєстрували кількість жовтих тіл в яєчниках, кількість живих, мертвих і резорбованих плодів і зародків, масу тіла плодів, загальну масу приплоду, наявність грубих аномалій розвитку. Визначали індекси спарювання, зачаття, фертильності, вагітності, враховували тривалість прекоітального інтервалу.

2.2. Методи вивчення гонадотоксичної активності при дії на самців щурів Wistar Han

Піддослідні самці піддавались експозиції тестовими сполуками лямбда-цигалотрину 11 тижнів, упродовж якого оцінювали динаміку маси тіла, зважуючи тварин кожного тижня. Після закінчення запланованого періоду експозиції з піддослідних груп у довільному порядку відбирали 10 самців, які піддавались дослідженню морфо-функціонального стану гонад. У дослідженні ЛЦТ 6 в дозі 10 мг/кг маси тіла відбирали по 5 самців, а іншу частину (5 самців) залишали на відновний період без експозиції впродовж одного повного циклу сперматогенезу (70 днів) та додатково вимірювали рівень вмісту тестостерону в сироватці крові у всіх самців.

Фертильність самців залежить від безперервної щоденної продукції мільйонів сперматозоїдів. Процес сперматогенезу є надзвичайно складним, котрий включає скоординовану серію мітотичних та мейотичних поділів,

удосконалені цитодиференційовані етапи та постійно змінні міжклітинні взаємодії, що контролюються взаємодією автокринної, паракринної та ендокринної системами. Сперматогенез здійснюється в сім'яниках, а саме в сім'яних каналцях, котрі складаються з базального і адлюмінального шарів, містять клітини двох типів – гермінативні (зародкові) клітини і клітини Сертолі (соматичні). В базальному шарі містяться сперматогонії, які діляться шляхом мітозу, ближче до просвіту каналця (в адлюмінальному шарі) знаходяться сперматоцити першого порядку, що проходять стадію мейозу і трансформуються в сперматоцити другого порядку, і сперматиди. Базальний і адлюмінальний шари розділені клітинами Сертолі, що формують специфічний гемато-тестикулярний бар'єр. Бар'єр захищає адлюмінальний шар від проникнення макромолекул із крові та інтерстиціальної рідини, що створює сприятливі умови для мейозу. Сім'яні каналці оточені інтерстиціальною тканиною, котра розміщена між сім'яними каналцями та містить кровоносні і лімфатичні судини, які необхідні для переміщення гормонів та поживних речовин у сім'яник та з нього. Важливо відзначити, що інтерстицій містить клітини Лейдіга, які секретують андрогени, зокрема тестостерон, а також інші стероїди [36,164,165].

Складний процес сперматогенезу регулюється гонадотропними гормонами гіпофіза та гормонами сім'яника. Після статевого дозрівання гіпоталамус починає виділяти гонадотропний рилізінг-гормон (ГнРГ), під впливом якого гіпофіз секретує фолікулостимулюючий гормон (ФСГ), який стимулює розвиток і функціонування клітини Сертолі і лютеїнізуючого гормону (ЛГ), що стимулює клітини Лейдіга до вироблення тестостерону. Тестостерон впливає на розвиток клітин Сертолі, а також на попередники статевих клітин (в асоціації з андроген-зв'язуючим білком, виділеним клітинами Сертолі) [166-168].

Секреторна активність гіпофіза регулюється клітинами Сертолі та клітинами Лейдіга. Тестостерон, що секретується клітинами Лейдіга, пригнічує активність гіпофіза до вироблення ЛГ і ФСГ. Естрадіол, що

утворюється шляхом ароматизації тестостерону в клітинах Сертолі, та інгібін пригнічують гіпофіз до вироблення ФСГ і клітин Лейдіга – тестостерону [169]. Морфо-функціональний стан гонад регулюється гормонами аденогіпофіза – ФСГ і ЛГ, при цьому рівень гормонів постійний, є лише незначні коливання.

Всі ці процеси сперматогенезу у самців щурів протікають 70 днів, цим і був обумовлений режим впливу тестових сполук лямбда-цигалотрину. Показники, котрі оцінювались у наших дослідженнях (такі, як загальна кількість сперматозоїдів, кількість та відсоток рухливих сперматозоїдів та їх паталогічні форми), свідчать про якість або порушення процесу сперматогенезу (розвиток, дозрівання тощо) [170]. Оскільки всі ці етапи, як було зазначено раніше, регулюються гормонами, дуже важливо дослідити рівень одного з найважливіших чоловічих гормонів – тестостерону, котрий приймає безпосередню участь у процесі сперматогенезу.

Для вивчення морфо-функціонального стану сім'яників, тобто параметрів сперматогенезу (загальна кількість сперматозоїдів, кількість та відсоток рухливих сперматозоїдів та їх паталогічні форми), а також маси сім'яників і придатків, тварин піддавали евтаназії за допомогою CO₂-боксу, розкривали черевну порожнину, відбирали правий сім'яник, відокремлювали придаток сім'яника, ретельно звільняючи від жирової тканини, та зважували його. Заздалегідь готували лабораторні пробірки з 2 мл фізіологічного розчину в кожній, котрі маркували відповідно до кількості та номеру піддослідних самців і розміщували їх у водяному термостаті при температурі 37 °C.

Після цього на підігріте за допомогою мікротермостата годинне скло наливали близько 0,5 мл фізіологічного розчину з відповідної пробірки, клали в нього придаток, розсікали його вздовж, після чого фізіологічний розчин разом із розсіченим епідідімумом повертали в ту ж пробірку, ретельно зскрібаючи скляною паличкою залишки тканин. Вміст пробірки інтенсивно струшували і занурювали в водяний термостат. Після цього утворену

суспензію сперматозоїдів лейкоцитарним меланжером набирали до першої мітки та розводили фізіологічним розчином (температура 37 °С) до другої мітки, меланжер струшували, спускали дві краплі і утвореною суспензією заповнювали підігріту до 37 °С камеру Горяєва (модель 851, МРТУ 64 -1-816-63) для підрахунку формених елементів крові.

За допомогою світлового мікроскопа в п'яти великих квадратах підраховували загальну кількість сперматозоїдів і кількість рухливих сперматозоїдів. Визначали кількість аномальних сперматозоїдів.

Рівень загального тестостерону в сироватці крові в дослідженні ЛЦТ6 визначали методом рідинної мас-спектрометрії за допомогою хроматографа Shimadzu LC-30A в градієнтній рідинній фазі з мас-детектором Shimadzu LCMS-8050.

Усі піддослідні самці, які розтиналися в ході експерименту, піддавалися макроскопічному обстеженню. Реєстрували виявлені зміни і відхилення. Сім'яники і придатки від 10 піддослідних і контрольних самців виділяли і зважували. В дослідженні вивчення впливу ЛЦТ 5 додатково вимірювали масу простати і сім'яних пухирців.

Інших самців, які залишилися з кожної групи, спарювали з інтактними самицями (в співвідношенні 1 самець до 2 самиць). Кожен ранок упродовж періоду спарювання брали вагінальні мазки для кожної самиці, потім їх фарбували 1% водно-спиртовим розчином метиленового синього та досліджували під світловим мікроскопом (10×10) на наявність сперматозоїдів. День знайдення сперматозоїдів у вагінальному вмісті самиці приймався за 0 день вагітності. Після встановлення факту спарювання самицю відсаджували в окрему клітку та припиняли взяття мазків. Тривалість періоду спарювання не перевищувала трьох тижнів.

Схема дослідження на самцях представлена на рис. 2.1.

Визначали прекоітальний інтервал – час, що пройшов від моменту підсаджування самців до самиць до встановлення факту запліднення. Значення прекоітального інтервалу вираховували за наступною формулою:

$\Sigma(\text{День періоду спарювання}) \cdot (\text{кі-ть самиць, спарених у цей день})$

Загальна кількість спарених самиць

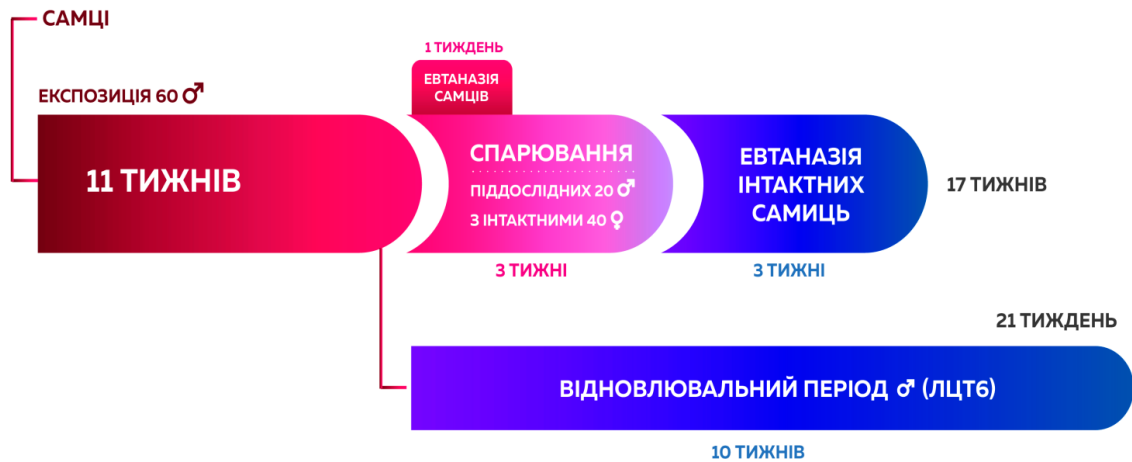


Рис. 2.1. Схема дослідження гонадо- та репродуктивної токсичності лямбда-цигалотрину на самцях щурів Wistar Hannover.

Показники репродуктивної здатності визначали на 20-й день вагітності у контрольних та інтактних самиць, спарених із піддослідними та контрольними самцями. Самиці піддавались евтаназії за допомогою CO₂-боксу, їм розтинали черевну порожнину, витягували і вирізали матку. Потім для кожної самиці підраховували і реєстрували: загальну кількість жовтих тіл в яєчниках, кількість місць імплантації, кількість резорбованих зародків і плодів, кількість мертвих та живих плодів, наявність грубих аномалій розвитку, середню масу плодів та загальну масу приплоду.

Всіх самиць, які спарились але не завагітніли, піддавали евтаназії на 20-й день припустимої вагітності. Самиць, у яких впродовж трьох тижнів спарювання факт запліднення так і не був зареєстрований та у разі відсутності явних ознак вагітності, розтинали і досліджували на 20-й день post coitum. Евтаназія тварин здійснювалась за допомогою CO₂-камери.

Для кожної групи самців були визначені індекси спарювання, запліднення, фертильності та вагітності у інтактних самиць, котрі завагітніли від них, за наступними формулами:

$$\begin{aligned} \text{Індекс спарювання} &= \frac{\text{кі-сть спарених самців}}{\text{кі-сть самців, які спарювались}} \times 100 \\ \text{Індекс запліднення} &= \frac{\text{кі-сть самиць, котрі завагітніли}}{\text{кі-сть самиць, котрі спарились}} \times 100 \\ \text{Індекс фертильності} &= \frac{\text{кі-сть самиць, які завагітніли}}{\text{кі-сть самиць, які спарювались}} \times 100 \\ \text{Індекс вагітності} &= \frac{\text{кі-сть самиць з живими плодами}}{\text{кі-сть самиць, які завагітніли}} \times 100 \end{aligned}$$

При плануванні експерименту поряд з ідентифікацією ступеня, характеру і особливостей токсичного впливу ЛЦТ6 метою нашого дослідження було також вивчення стійкості порушень, що виникають під впливом досліджуваної сполуки, тобто оцінити та встановити можливість оборотності і/або незворотності потенційно можливих ефектів, котрі проявились після періоду експозиції. Для цього частину тварин було залишено на відновний період (без впливу ЛЦТ6) тривалістю 70 днів (повний цикл сперматогенезу). Після закінчення відновного періоду вивчали ті ж параметри (показники морфо-функціонального стану гонад та загальний вміст тестостерону в сироватці крові), що і після закінчення експозиції ЛЦТ6.

2.3. Методи вивчення гонадотоксичної активності при дії на самиць щурів Wistar Han

Експериментальні самиці отримували тестові субстанції лямбда-цигалотрину *ex tempore* впродовж 10 тижнів. Піддослідних тварин зважували щотижня до періоду спарювання та на 0, 6, 13 і 20 дні *post coitum*.

Схема дослідження на самицях представлена на рис. 2.2.

Впродовж останніх двох тижнів періоду експозиції у піддослідних і контрольних самиць щодня брались вагінальні мазки з метою визначення впливу тестових сполук на тривалість всього естрального циклу, частоту і циклічність його окремих стадій: еструс, метаеструс, діеструс та проеструс.



Рис. 2.2. Схема дослідження гонадо- та репродуктивної токсичності лямбда-цигалотрину на самицях щурів Wistar Hannover.

Оскільки стан слизової оболонки матки і піхви синхронно реагує на функціонування яєчників і процеси, котрі пов'язані з ритмічним дозріванням фолікулів, овуляцією і утворенням жовтих тіл, то за складом клітин у вагінальному мазку судять про функціональний стан яєчників, а також ідентифікацію змін циркулюючих концентрацій статевих стероїдів та гонадотропінів. Нормальна тривалість естрального циклу у щурів становить 4-5 днів. Моменту овуляції відповідає стадія еструса (період між фолікулярною та лютеїною фазою), за нею йде метаеструс (утворення жовтого тіла), потім – діеструс (лютеїнова фаза), який переходить у стадію проеструса (фолікулярна фаза) (рис. 2.3).

Класичний еструс характеризується наявністю в мазку великої кількості одного типу ороговілих полігональних без'ядерних клітин у формі лусочок. Ця стадія триває 1-2 дні. Її змінює стадія метаеструса, при цьому в мазку, поряд із залишками клітин форми луски, з'являється велика кількість епітеліальних клітин і лейкоцитів, котрі, разом із слизом, часто утворюють сітку, яка покриває все поле зору. Метаеструс в нормі триває один день. Потім настає діеструс, що характеризується наявністю в мазку переважно лейкоцитів і слизу. Тривалість цієї фази становить 1-2 дні. Найменш тривалою (від 6 до 12 годин) є фаза проеструса, в зв'язку з чим її не завжди

вдається вловити. Однак, гістологічна картина мазка в цю фазу дуже характерна. Мазок очищається, зникають лейкоцити та слиз і з'являються гронаподібні скупчення круглих ядерних епітеліальних клітин.

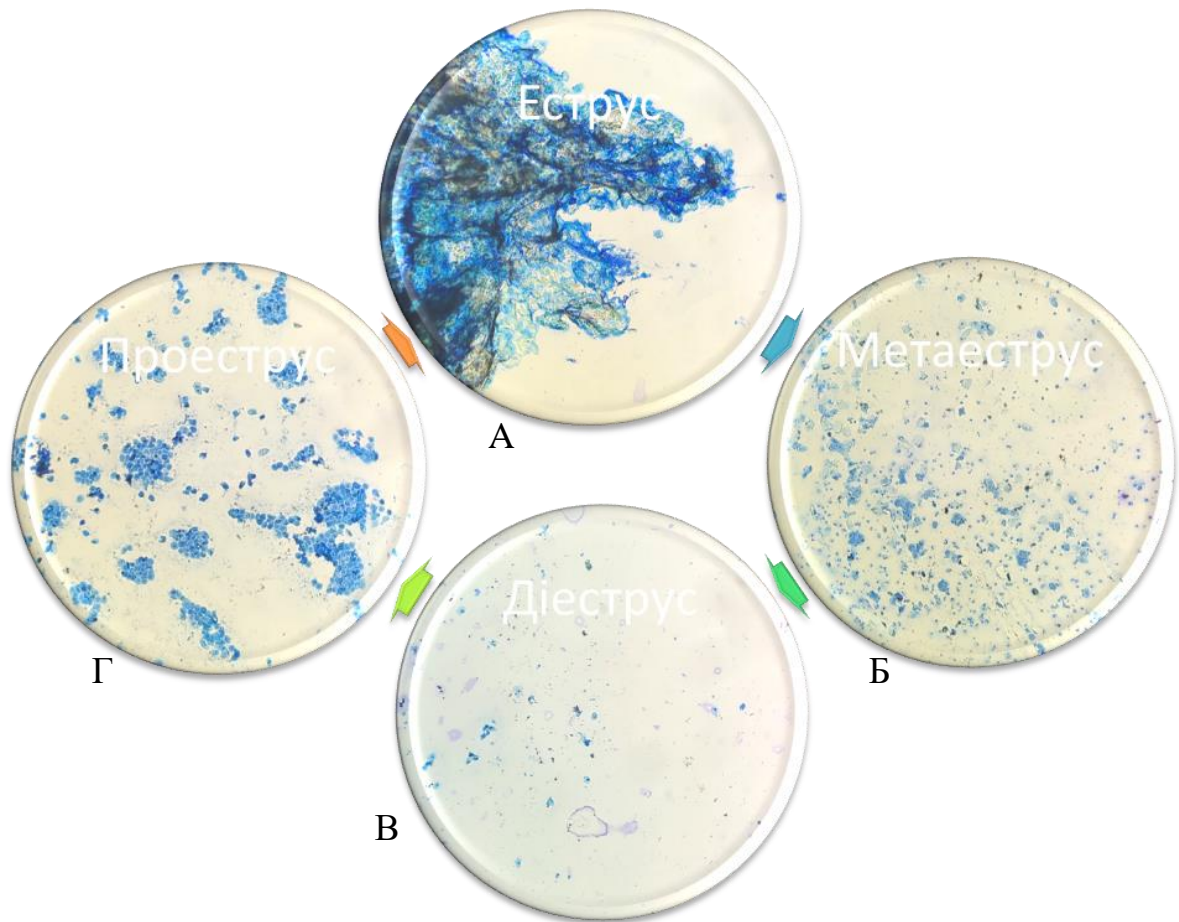


Рис. 2.3. Стадії естрального циклу у щурів (світлова мікроскопія 10×10):

- А – еструс;
- Б – метаеструс;
- В – діеструс;
- Г – проеструс.

Зроговіння вагінальних епітеліальних клітин, як правило, характеризується днем еструсу – овуляцією, являється відповіддю на підвищення рівня естрадіолу, який починається на кінець фази діеструсу і пік його настає близько середини циклу проеструсу. Ці зростаючі концентрації діють на підвищення регуляції гіпоталамічних механізмів мозку, підсилюючи

пульсаційне вивільнення гонадотропін-релізінг гормону в порталні судини, котрі спускаються до передньої частини гіпофізу. Підвищення естрадіолу також сенсibiliзує гіпофіз, і саме ця комбінація впливу на гіпоталамус та гіпофіз запускає овуляторний сплеск лютеїнізуючого гормону. Сплеск, у свою чергу, приводить до дії кінцевої стадії дозрівання фолікулів яйцеклітин і яєчників, які передують овуляції – розриву фолікул, цей період продовжується у щура впродовж 10-12 годин (рис. 2.4) [171].

Порушення циклу, спричинене дією ксенобіотиків, може індукувати ациклічність, що характеризується постійним еструсом або діеструсом та викликати картину із нерегулярним циклом подовженої тривалості. Повідомляється, що дія естрогенних сполук призводить до постійного вагінального зроговіння [172]. Було виявлено, що більш низькі дози викликають стійкий діеструс або псевдовагітність [173]. Проводячи щоденне пероральне введення етинілестрадіолу (0,01 та 0,1 мг/кг, 25 днів), у дослідженні повідомили про первинну появу псевдовагітності з подальшим постійним згущенням мазка [174].

Псевдовагітність пояснюється збільшенням секреції пролактину, стимульованого естрогеном, що, в свою чергу, підтримує функціонування жовтого тіла. Це по суті стосується стану ендокринної системи, характерної для вагітності, але без імплантації та ембріонального розвитку. Циклічність пригнічується зі збереженням лейкоцитів у вагінальному мазку. У щура як денний, так і нічний сплеск пролактину підтримує функцію жовтого тіла (лютеотрофічний ефект, обмежений переважно гризунами), завдяки чому підвищується рівень прогестерону, що секретується приблизно за 12-14 днів до настання лютеолізу. З продовженням впливу естрогенними сполуками, пролактинові сплески припиняються, секреція прогестерону зменшується, а мазок стає ороговіваним, як правило, внаслідок атрофічних змін яєчників внаслідок зменшення секреції гонадотропіну, що є ймовірним наслідком впливу естрогену або естрогенної сполуки на головний мозок та гіпофіз [175].

Естральний цикл у гризунів

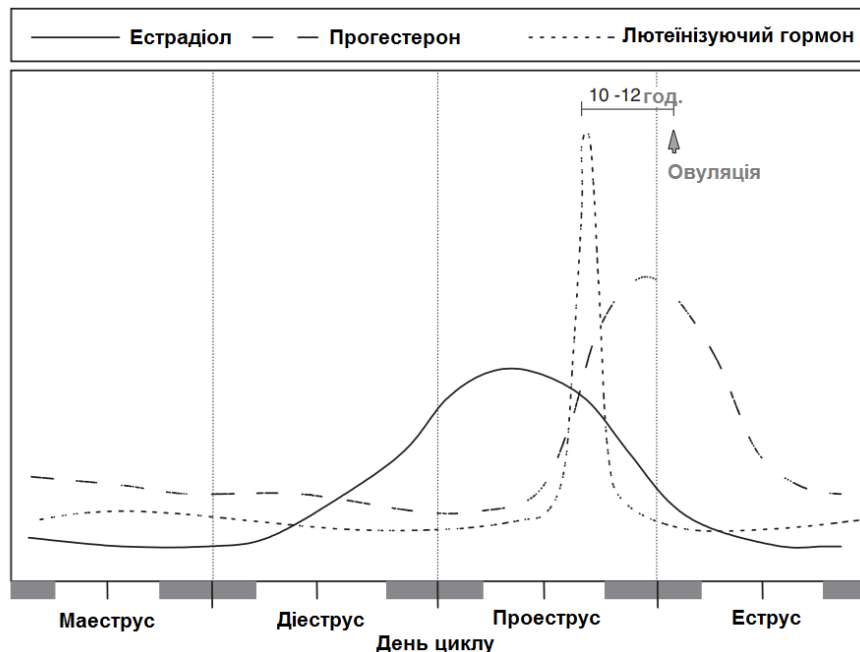


Рис. 2.4. Схематична картина 4-денного естрального циклу у щура із зображенням концентрацій естрадіолу та прогестерону в сироватці крові, оскільки вони залежать у часі від сплеску лютеїнізуючого гормону. Овуляція зазвичай відбувається в ранкові години фази еструсу, приблизно через 10-12 годин після підвищення лютеїнізуючого гормону. Заштриховані блоки в основі фігури вказують на темний період часу [175].

У токсикологічних дослідженнях дані, що представлені з характеристикою естрального циклу, або як доповнення до інших показників, є корисними з різних причин.

Як було зазначено раніше, зміни в ендокринних зв'язках між гіпоталамусом, гіпофізом та яєчниками, як компонентами репродуктивної осі, можуть надавати помітний вплив на циклічність. Токсичний вплив на будь-який із цих ланок може порушити цикл і блокувати овуляцію. Крім того, закономірності змін циклу можуть часто давати цінну інформацію про характер впливу сполуки на репродуктивну систему. У токсикологічних дослідженнях разом із визначенням концентрації статевих гормонів, важливим є вивчення естрального циклу. Наприклад, зміни концентрацій

естрадіолу та прогестерону, виявлені у сироватці крові, взяті при некропсії після впливу ксенобіотиків, не обов'язково можуть бути наслідком прямого впливу на стероїдний шлях. Фактично це може бути вторинною ознакою по відношенню до самиці, яка стає ациклічною, або при наявності псевдовагітності [176].

Після двотижневого періоду вивчення естрального циклу та запланованого десятитижневого періоду експозиції тестовими сполуками ЛЦТ тварин спарювали. Піддослідні самиці спарювались з інтактними самцями, а контрольні самиці з контрольними самцями в співвідношенні один самець до двох самиць до моменту виявлення факту спарювання тобто до виявлення вагінальної пробки або наявності у вмісті мазка сперматозоїдів або закінчення тритижневого періоду парування.

Кожен ранок упродовж періоду спарювання брались вагінальні мазки для кожної самиці, які досліджували на наявність сперматозоїдів. Вагінальні мазки готувались за допомогою ватних тампонів, змочених у воді, що значно скорочує час їх приготування і переносячи потім вміст на предметне скло. Після цього мазки просушували на відкритому повітрі при кімнатній температурі і фарбували 1 % водно-спиртовим розчином метиленового синього та досліджували їх під мікроскопом (збільшення 10x10).

День виявлення сперматозоїдів у вагінальному вмісті самиці або вагінальної копуляторної пробки приймалися за 0 день вагітності. Після встановлення факту спарювання самицю відсаджували в окрему клітку і припиняли взяття мазків. Тривалість періоду спарювання не перевищувала трьох тижнів. Самиць, у яких упродовж трьох тижнів спарювання не встановлено факт запліднення, спостерігали впродовж трьох тижнів після закінчення періоду спарювання.

Для контрольних та піддослідних самиць також оцінювали прекоітальний інтервал: визначали час, що пройшов від моменту підсаджування самців до самиць до встановлення факту запліднення. Значення прекоітального інтервалу вираховується за формулою:

$\Sigma(\text{День періоду спарювання}) \cdot (\text{кі-ть самиць, спарених в цей день})$

Загальна кількість спарених самиць

Показники репродуктивної здатності вивчали на 20-й день вагітності у всіх контрольних та піддослідних самиць, котрі спарилися. Тварини піддавались евтаназії за допомогою CO₂-камери, розтинали черевну порожнину, підраховували загальну кількість жовтих тіл в яєчниках, витягували і вирізали матку, потім реєстрували для кожної самиці:

- кількість місць імплантації;
- кількість резорбованих зародків і плодів;
- кількість живих плодів;
- кількість мертвих плодів;
- наявність грубих аномалій розвитку у плодів;
- середню масу плодів;
- загальну масу приплоду [177].

Термінальні дослідження: інтактні самці після закінчення періоду спарювання виводились з експерименту. Всі самиць, які спарились, піддавали евтаназії на 20-й день post coitum.

Самиць, у яких впродовж трьох тижнів спарювання факт запліднення так і не був зареєстрований, у разі відсутності явних ознак вагітності, розтинали і досліджували на 20-й день після закінчення періоду спарювання. Евтаназія тварин здійснювалась за допомогою CO₂-камери.

Усі піддослідні самиці, які розтиналися в ході експерименту, піддавалися макроскопічному обстеженню. Процедура включала в себе ознайомлення з результатами спостереження за тваринами упродовж експерименту і обстеження внутрішніх органів грудної та черевної порожнин. Реєстрували виявлені зміни і відхилення.

Здатність до спарювання та плодючості визначали для кожної групи самиць за індексами спарювання, зачаття, фертильності та вагітності, котрі прораховувались за наступними формулами:

$$\begin{aligned} \text{Індекс спарювання} &= \frac{\text{кі-сть спарених самиць}}{\text{кі-сть самиць, які спарювались}} \times 100 \\ \text{Індекс зачаття} &= \frac{\text{кі-сть самиць, які завагітніли}}{\text{кі-сть спарених самиць}} \times 100 \\ \text{Індекс фертильності} &= \frac{\text{кі-сть самиць, які завагітніли}}{\text{кі-сть самиць, які спарювались}} \times 100 \\ \text{Індекс вагітності} &= \frac{\text{кі-сть самиць з живими плодами}}{\text{кі-сть самиць, які завагітніли}} \times 100 \end{aligned}$$

2.4. Статистична обробка результатів

Отримані в експерименті дані були оброблені з використанням стандартного ліцензійного пакету програмного забезпечення Microsoft® Office Excell 2007, відповідно до статистичних методів у медико-біологічних дослідженнях [178]. 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" та методів 2-way ANOVA. Різницю вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Статистична оцінка індексів спарювання, зачаття, фертильності та вагітності здійснювалась критерієм Fisher's Exact.

Основні результати даного розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. 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.
2. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46.
3. 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.

4. Колянчук ЯВ. Проблема оцінки репродуктивної токсичності (гонадотоксичності) пестицидів. *Мед. та клін. хімія.* 2018;20(2):123-30.

5. Проданчук ГМ, Костик ЮМ, Колянчук ЯВ, Ковтун ІО. Організація проведення експериментальних токсикологічних досліджень згідно вимог GLP. *Сучас. проблеми токсикології.* 2011;(5):112.

6. Rashkivska I, Kolyanchuk Y. P-5. Wistar Hannover rat reproductive parameters. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2016;67(Suppl 1):36.

РОЗДІЛ 3

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕБЕЗПЕКИ РЕПРОДУКТИВНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ШЕСТИ ЗРАЗКІВ ЛЯМБДА- ЦИГАЛОТРИНУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА САМЦЯХ І САМИЦЯХ ЩУРІВ WISTAR HANNOVER В УМОВАХ ЇХНЬОГО ВПЛИВУ В ПЕРІОД ГАМЕТОГЕНЕЗУ

3.1. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 1 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han

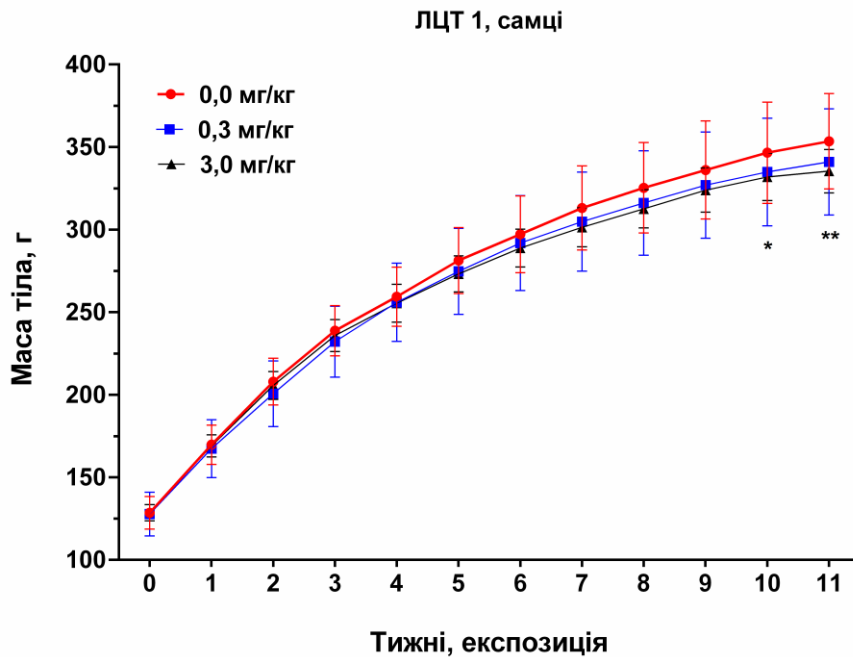
3.1.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han. Досліджувана тестова субстанція лямбда-цигалотрину № 1 (ЛЦТ1) у всіх вивчених дозах не впливала на загальний фізичний стан піддослідних самців і не викликала їх смертності.

У групі самців за дії тестової субстанції в мінімальній дозі 0,3 мг/кг достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж усього терміну експозиції. Після впливу максимальної дози 3,0 мг/кг було відзначено вірогідне зниження маси тіла піддослідних тварин у порівнянні з контрольною групою на 10 та 11 тижні експерименту на 4,23 і 5,12 % відповідно, це свідчить про те, що ЛЦТ1 чинить системну токсичність на організм (рис. 3.1).

У піддослідній групі самців, котрі отримували дозу 0,3 мг/кг, не спостерігалось достовірних змін маси і коефіцієнта маси сім'яників та придатків, загальної кількості сперматозоїдів, кількісного і процентного співвідношення рухливих сперматозоїдів, а також патологічних форм сперматозоїдів, таких як: аномалії хвостика, головки і шийки сперматозоїда.

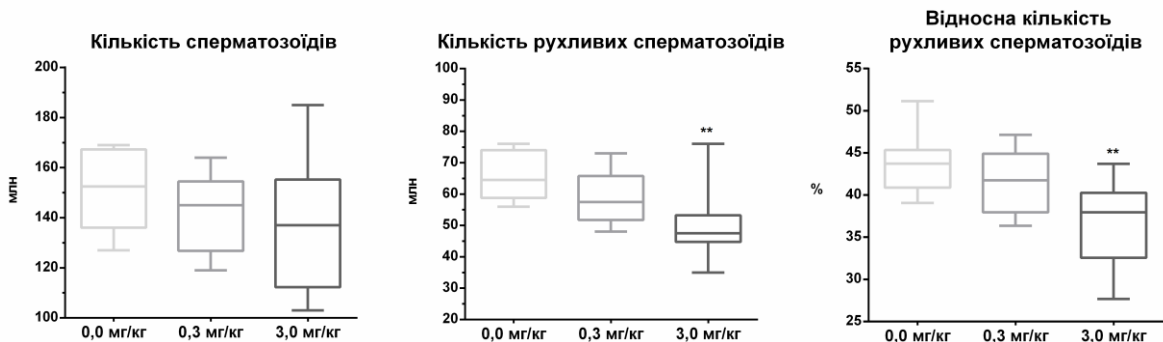
Під час дослідження морфо-функціональних показників стану статевих залоз у піддослідній групі самців, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг ЛЦТ1, було встановлено достовірне зниження кількості рухливих сперматозоїдів на 24 %. Одночасно спостерігалось вірогідне зниження

відсотка рухливих сперматозоїдів на 16 % відносно контрольної групи (рис. 3.2).



Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.1. Динаміка маси тіла самців щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином.

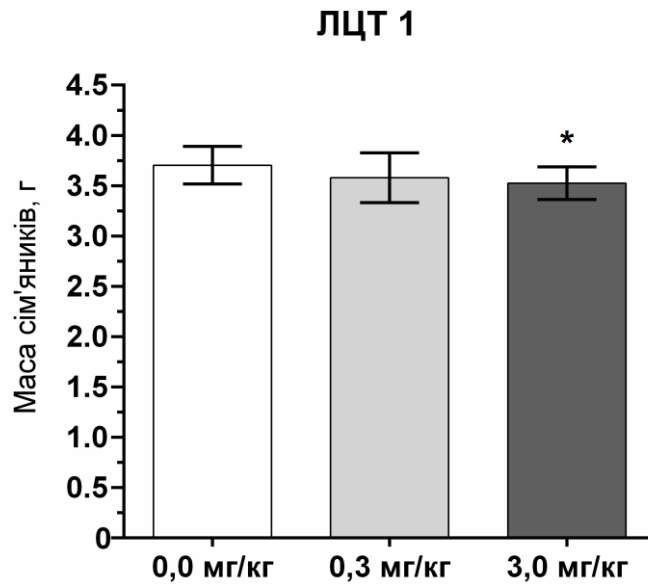


Примітка. ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.2. Загальні функціональні показники сперми самців за дії лямбда-цигалотрину № 1.

Після впливу ЛЦТ1, при макроскопічному обстеженні сім'яників і придатків, не виявлено видимої патології цих органів. Але в групі самців, котрі отримували максимальну дозу 3 мг/кг маси тіла, було відзначено

достовірне зниження маси сім'яників по відношенню до контрольної групи на 4,9 %. Достовірних змін маси сім'яників та придатків не відзначалося при дії мінімальної дози 0,3 мг/кг (рис. 3.3).



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.3. Маса сім'яників у самців.

ЛЦТ1 в дозах 0,3 мг/кг та 3,0 мг/кг не проявляє шкідливого впливу на функцію відтворення потомства піддослідних самців, яку оцінювали за станом репродуктивної функції інтактних самиць, які завагітніли від них. Кількість живих плодів, число жовтих тіл в яєчниках, число і процентне співвідношення загиблих до і після імплантації зародків і плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи.

У піддослідних групах самців, котрі отримували дози 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла, здатність до запліднення та їх плодючість вірогідно не відрізнялися від контролю (рис. 3.4).

Значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самців ніяких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТ1, не виявлено.

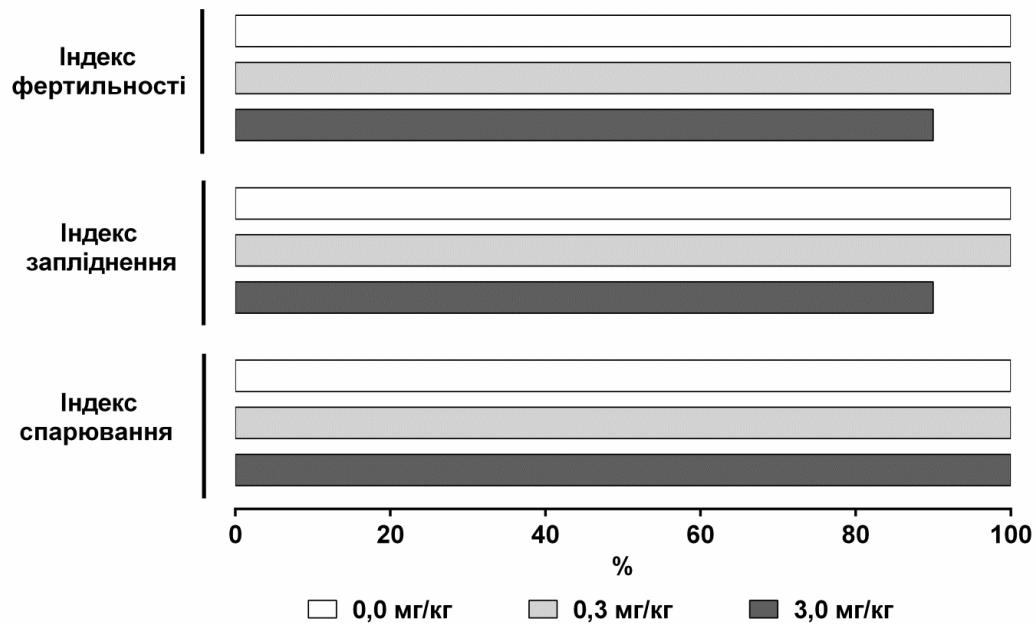


Рис. 3.4. Індекси спарювання, запліднення та фертильності.

Встановлено, що тестова субстанція ЛЦТ1, при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла, володіє системною токсичністю та чинить антиандрогенну дію, котра проявляється змінами морфо-функціональних показників стану статевих залоз у самців, а саме зниженням кількості та відсотка рухливих сперматозоїдів і маси сім'яників. Вплив ЛЦТ1 в дозі 0,3 мг/кг маси тіла на репродуктивну функцію самців щурів не виявлено [179,180].

3.1.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han. Досліджувана тестова субстанція ЛЦТ1 у всіх вивчених дозах не впливала на загальний фізичний стан піддослідних самиць і не викликала їх смертності.

На відміну від самців, ця тестова субстанція не проявила системного токсичного ефекту на піддослідних самиць, оскільки достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж усього терміну експозиції та під час вагітності (рис. 3.5).

Упродовж двох тижневого періоду спостереження за естральним циклом у самиць, які отримували ЛЦТ1 в обох досліджуваних дозах, тривалість циклу та інших окремих його стадій вірогідно не змінювались (рис. 3.6).

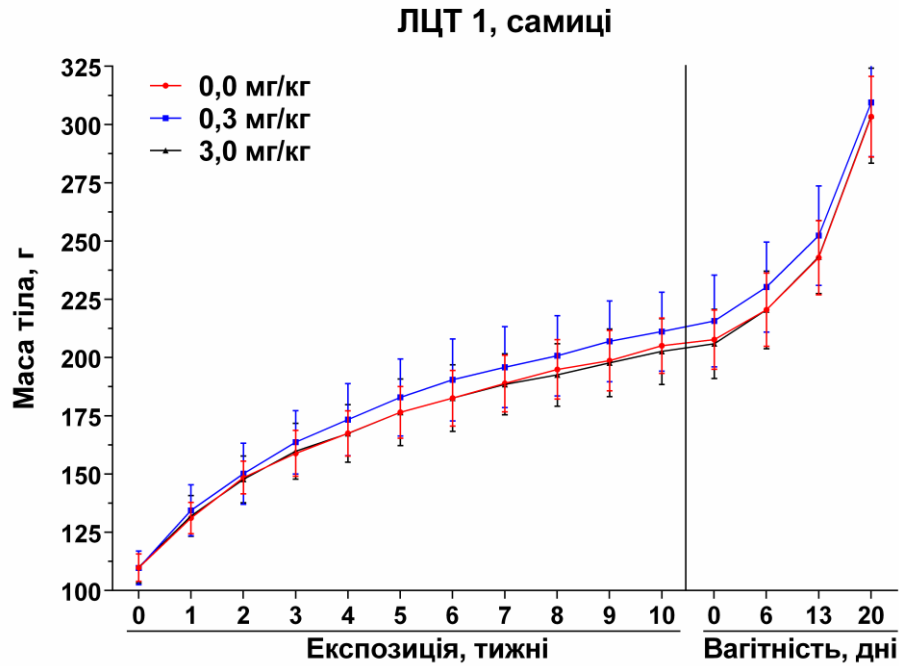


Рис. 3.5. Динаміка маси тіла самиць щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 1 і вагітності.

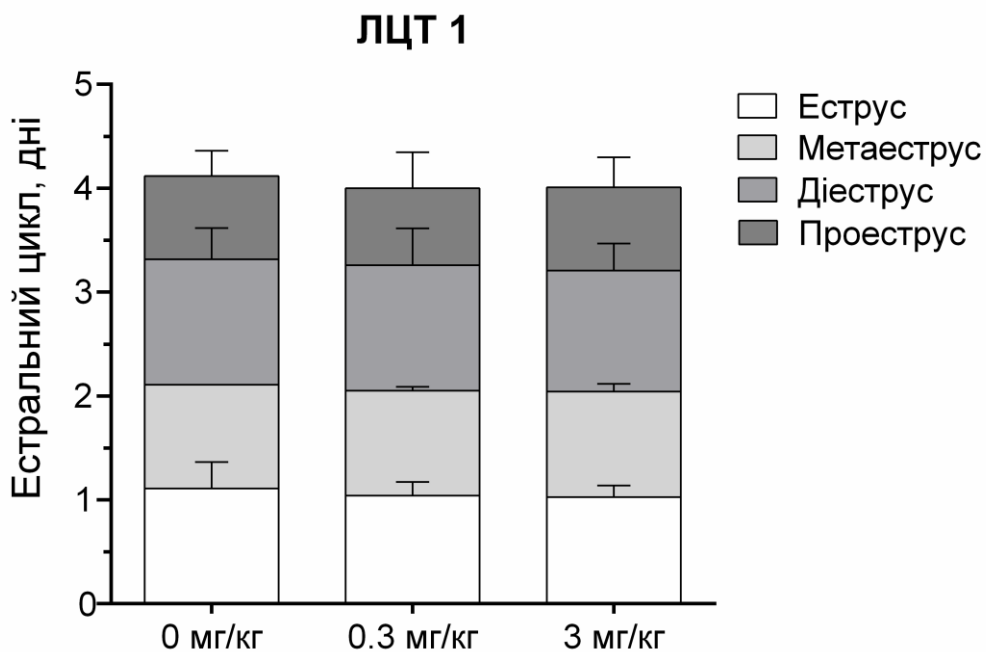


Рис. 3.6. Естральний цикл та тривалість окремих його стадій.

Тестова сполука в дозах 0,3 та 3,0 мг/кг не проявила шкідливого впливу

на фертильність самиць та негативного впливу на показники стану репродуктивної функції в піддослідних групах самиць (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Репродуктивні показники контрольних та піддослідних самиць

Показники			Дози ЛЦТ1, мг/кг		
			0,0	0,3	3,0
Середня кі-сть жовтих тіл		(M±m)	13,35±0,42	13,25±0,32	13,95±0,49
Середня кі-сть живих плодів		(M±m)	10,55±0,56	11,00±0,43	10,90±0,46
Доімплантаційна загибель зародків	кі-сть	(M±m)	1,80±0,48	1,70±0,39	1,85±0,43
	%	(M±m)	13,72±3,94	12,72±2,99	12,89±2,76
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть	(M±m)	1,05±0,26	0,55±0,23	1,20±0,31
	%	(M±m)	7,38±1,79	3,85±1,58	7,98±1,67
Загальна маса приплоду, г		(M±m)	39,95±1,93	43,06±1,78	41,86±1,83
Середня маса плодів, г		(M±m)	3,83±0,06	3,94±0,10	3,84±0,05

Кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число і процентне співвідношення загиблих до та після імплантації плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значень контрольної групи.

В обох досліджуваних дозах показники індексів спарювання, зачаття, фертильності та вагітності вірогідно не відрізнялися від контрольної групи (рис. 3.7).

Таким чином, всі самиці з контрольної та піддослідних груп завагітніли після встановленого факту спарювання.

Більшість самок спарилися з самцями в першу стадію еструса, тому значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контрольної.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самиць ніяких

змін, пов'язаних із впливом ЛЦТ1, не виявлено.

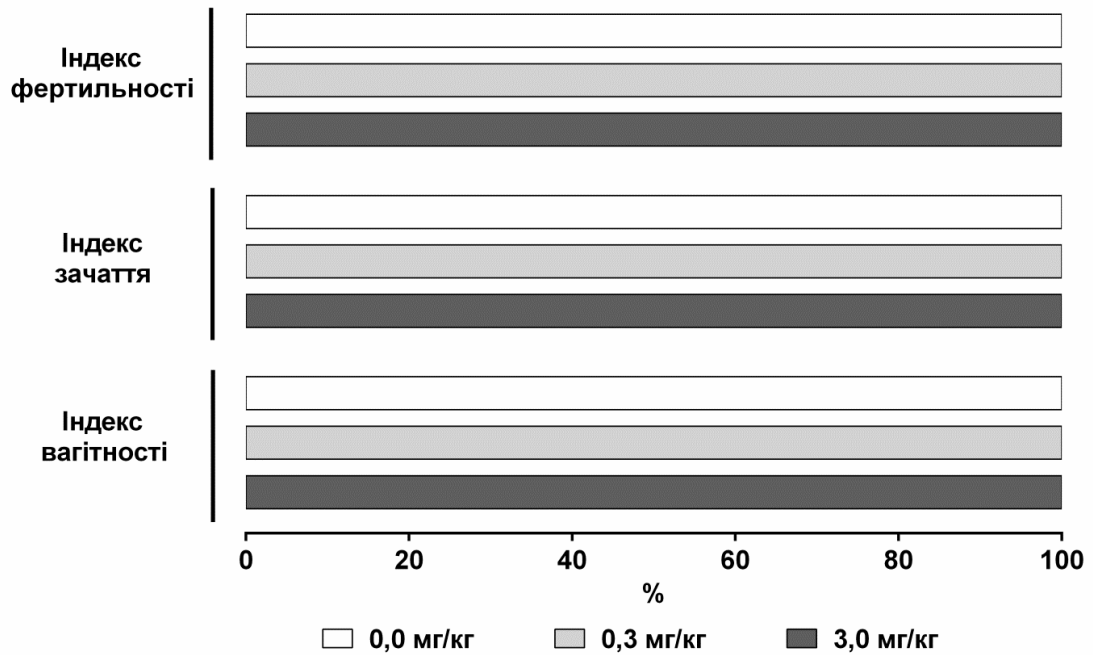


Рис. 3.7. Індекси зачаття, фертильності та вагітності самиць.

Отже, отримані результати свідчать про те, що тестова субстанція ЛЦТ1 при дії на самиць щурів не проявила репродуктивну токсичність та не володіє системним токсичним ефектом в обох досліджуваних дозах.

Підсумовуючи результати досліджень впливу ЛЦТ1 на самців та самиць щурів, встановлено статеву чутливість до дії цієї сполуки. Відмічена більш виражена дія на самців щурів у дозі 3,0 мг/кг, яка зумовлена негативними змінами параметрів статевих залоз та зниженням маси тіла під час періоду експозиції. Слід зазначити, що отримані дані впливу ЛЦТ1 у діапазоні вивчених доз, характеризуються дозовою, а саме лінійною залежністю. Доза 0,3 мг/кг маси тіла не проявила негативного впливу на репродуктивну функцію самців та не володіє системною токсичністю. У даному експерименті у самиць щурів за дії всіх вивчених доз змін досліджуваних параметрів не виявлено [179,181].

3.2. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 2 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han

3.2.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han. Лямбда-цигалотрин № 2 (ЛЦТ2), у всіх вивчених дозах, не впливав на загальний фізичний стан піддослідних самців і не викликав їх смертності.

Впродовж усього терміну експозиції ЛЦТ2 не проявив системний токсичний ефект, тобто не спостерігалось достовірних змін динаміки маси тіла самців при дії максимальної та мінімальної дози (рис. 3.8).

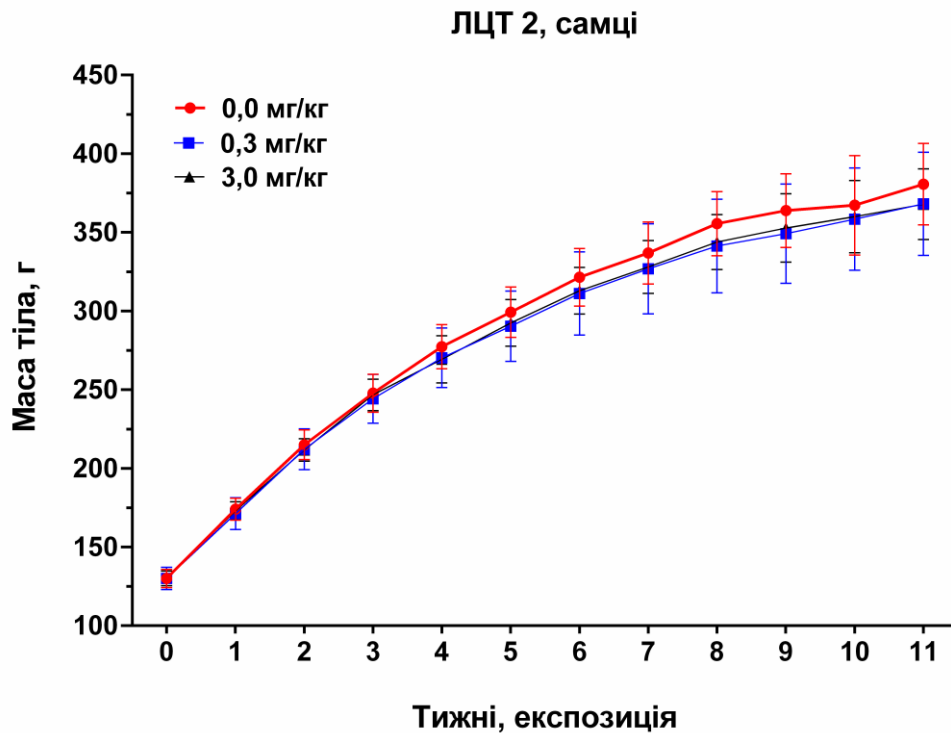
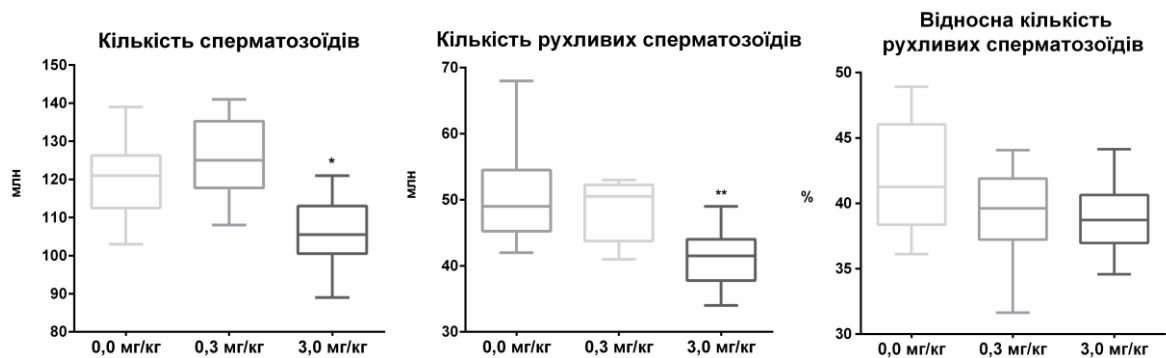


Рис. 3.8. Динаміка маси тіла самців щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 2.

У піддослідній групі самців, котрі отримували дозу 0,3 мг/кг, не спостерігалось вірогідних змін абсолютної маси і коефіцієнта відносної маси сім'яників та придатків, загальної кількості сперматозоїдів, кількісного і процентного співвідношення рухливих сперматозоїдів, а також патологічних

форм сперматозоїдів (аномалії хвостика, головки і середини сперматозоїда).

Під час дослідження морфо-функціональних показників стану статевих залоз у піддослідних групах самців, які отримували ЛЦТ2 у дозі 3,0 мг/кг маси тіла, було встановлено достовірне зниження кількості рухливих сперматозоїдів та їх загальної кількості на 18 % та 12 % відповідно. У цій групі самців вірогідних змін всіх інших показників по відношенню до рівня контролю не відмічалось (рис. 3.9).



Примітка. * - $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.9. Загальні функціональні показники сперми самців за дії лямбда-цигалотрину № 2.

При макроскопічному обстеженні сім'яників і придатків після впливу ЛЦТ2 видимої патології не виявлено. Достовірних змін маси сім'яників та придатків при дії доз 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла не відзначалося (рис. 3.10).

ЛЦТ2 в дозах 0,3 мг/кг та 3,0 мг/кг не проявив шкідливого впливу на такі показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, які завагітніли, як кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число і відсоткове співвідношення загиблих до і після імплантації зародків і плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду, які достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи.

При вивченні запліднюючої здатності та фертильності самців, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг, відмічались вірогідні зниження індексів запліднення на 21 % та фертильності – 25 %. У піддослідній групі самців,

при дії дози 0,3 мг/кг, здатність до запліднення та їх плодючість вірогідно не відрізнялася від контрольної групи (рис. 3.11).

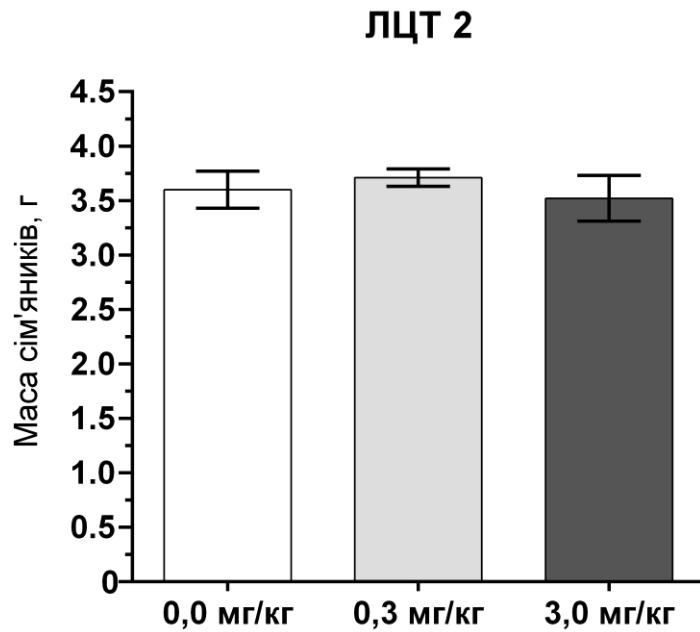
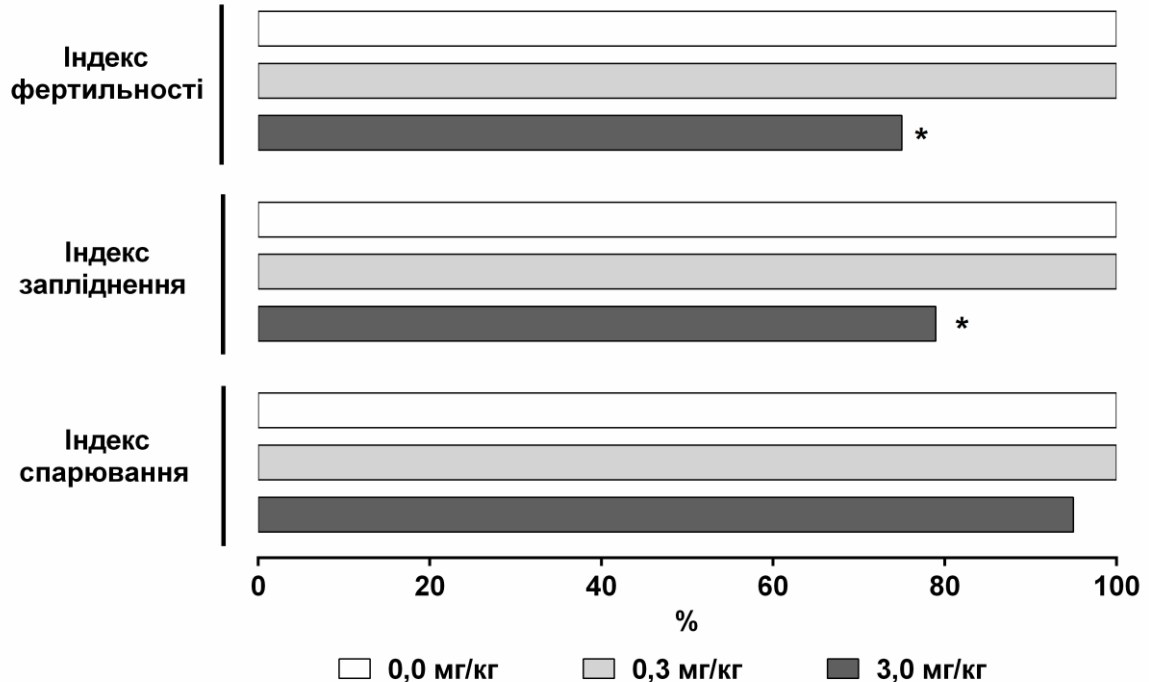


Рис. 3.10. Маса сім'яників у самців.



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.11. Індеси спарювання, запліднення та фертильності.

Значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах

достовірно не відрізнялися від контрольної групи.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самців ніяких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТ2, не виявлено.

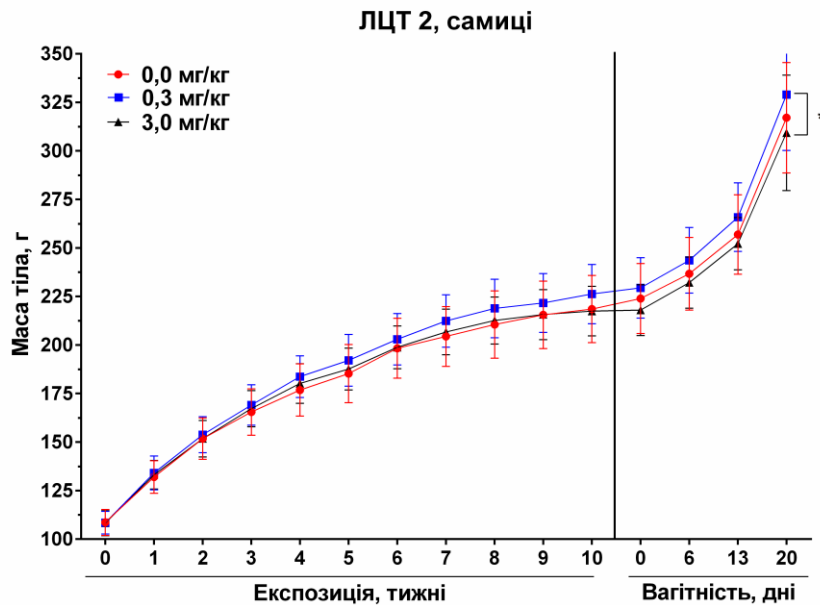
Отже, вплив ЛЦТ2 на всі досліджувані показники самців щурів в діапазоні вивчених доз характеризується дозовою лінійною залежністю. Встановлено зміни функціонального стану статевих залоз, а також порушення запліднюючої здатності та фертильності самців за показниками індексів зачаття та фертильності при дії максимальної дози 3,0 мг/кг маси тіла. У даному експерименті експозиція ЛЦТ2 в дозі 0,3 мг/кг маси тіла не впливала на досліджувані параметри самців щурів Wistar Han [180].

3.2.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han. Тестова субстанція ЛЦТ2 у всіх вивчених дозах не впливала на загальний фізичний стан піддослідних самиць і не викликала їх смертності.

Достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж усього терміну експозиції при дії 0,3 та 3,0 мг/кг маси тіла. Зокрема не було відмічено вірогідного зменшення динаміки маси тіла під час вагітності по відношенню до контрольної групи. Однак, у групі самиць, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг, відмічена достовірна різниця маси тіла на 20-й день вагітності на 6,2 % по відношенню до групи піддослідних самиць за дії дози 0,3 мг/кг маси тіла. Враховуючи відсутність вірогідних змін динаміки маси тіла самиць між контрольною та піддослідними групами, можна констатувати, що ЛЦТ2 не проявив системної токсичної дії на самиць щурів у період експозиції (рис. 3.12).

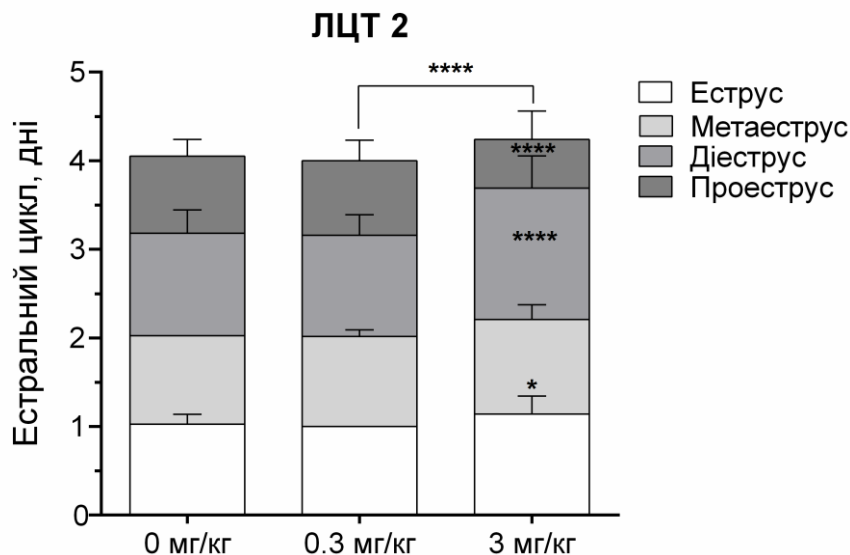
При вивченні естрального циклу у самиць упродовж двох тижнів, котрі отримували ЛЦТ2 в максимальній дозі, нами було зафіксовано достовірне збільшення тривалості стадії дієструс на 28,2 %, а також тривалості стадії еструс на 11,3 % та зниження стадії проеструс у порівнянні з контрольною групою на 36,5 %. Також, у групі самиць, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг, відмічено зниження тривалості стадії проеструс на 29,5 % по відношенню до групи піддослідних самиць за дії дози 0,3 мг/кг маси тіла. У

піддослідній групі самиць, які отримували дозу 0,3 мг/кг маси тіла, тривалість циклу та окремих його стадій вірогідно не змінювались (рис. 3.13).



Примітка. * – $p \leq 0,05$ – міжгрупова різниця.

Рис. 3.12. Динаміка маси тіла самиць щурів в період експозиції лямбда-цигалотрином № 2 та вагітності.



Примітка. * – $p \leq 0,05$; **** – $p \leq 0,001$ у порівнянні з контрольною групою, а лінією позначено міжгрупову різницю.

Рис. 3.13. Естральний цикл і тривалість його окремих стадій.

Порушення естрального циклу є досить чутливим показником дисбалансу статевих гормонів, про що свідчить зменшення тривалості естроген-залежної стадії проєструса у самиць, а також збільшення прогестеронової фази дієструса. З огляду на це, можна припустити, що вміст рівнів гормонів естрогену та прогестерону в організмі піддослідних самиць є аномальний. Тому, ідентифіковані зміни в експерименті по дослідженню гонадотоксичної активності ЛЦТ2, свідчать про наявність його ендокрин-деструктивних властивостей.

Тестова субстанція ЛЦТ2 не проявила шкідливого впливу на фертильність самиць. Кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число і відсоткове співвідношення загиблих до і після імплантації плодів, а також середня маса плодів та загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Репродуктивні показники контрольних і піддослідних самиць

Показники		Дози ЛЦТ2, мг/кг			
		0,0	0,3	3,0	
Середня кі-сть жовтих тіл	(M±m)	14,80±0,53	14,00±0,40	13,79±0,54	
Середня кі-сть живих плодів	(M±m)	11,65±0,45	11,30±0,71	11,32±0,71	
Доімплантаційна загибель зародків	кі-сть	(M±m)	1,70±0,29	1,90±0,49	1,42±0,33
	%	(M±m)	11,30±1,89	14,04±3,94	11,46±3,73
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть	(M±m)	1,45±0,34	0,80±0,22	1,05±0,24
	%	(M±m)	9,45±2,18	6,06±1,84	7,99±1,90
Загальна маса приплоду, г	(M±m)	43,78±1,72	41,56±2,73	41,67±2,63	
Середня маса плодів, г	(M±m)	3,76±0,05	3,68±0,09	3,49±0,20	

При вивченні здатності самиць до зачаття та їх плодючості, доза 3 мг/кг ЛЦТ2 виявляє тенденцію до зниження індексів зачаття та

фертильності, але не досягнула значень вірогідності. У піддослідних групах самиць, котрі отримували дозу 0,3 мг/кг, здатність до зачаття та їх плодючість вірогідно не відрізнялися від контрольної групи (рис. 3.14).

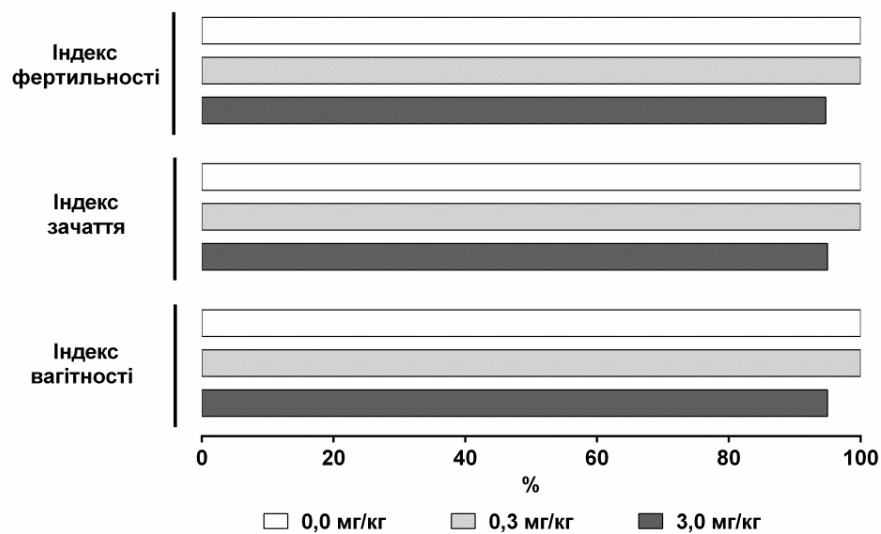


Рис. 3.14. Індекси зачаття, фертильності та вагітності самиць.

Зафіксовано, що дві самиці при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла, котрі спарились з інтактними самцями, не завагітніли. Всі інші самиці завагітніли після встановлення факту спарювання.

Більшість самиць спарилися з самцями в першу стадію еструса, тому значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самиць ніяких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТ2, не виявлено.

Таким чином, зафіксовані зміни показників естрального циклу в експерименті на самицях щурів за умов дії ЛЦТ2 в дозі 3,0 мг/кг маси тіла, свідчать про порушення ендокринної системи. Збільшення тривалості стадії циклу еструс та діеструс, а також скорочення стадії проеструс, може виникати через естрогеноподібні властивості тестової сполуки ЛЦТ2. За дії дози 3,0 мг/кг маси тіла у самців проявляється антиандрогенний ефект (зниження загальної кількості та кількості рухливих сперматозоїдів) та порушується їх репродуктивна функція (зниження індексів зачаття та

фертильності). В умовах проведеного дослідження, вплив ЛЦТ2 на репродуктивну функцію самців та самиць щурів характеризувався лінійною дозовою залежністю в діапазоні вивчених показників. ЛЦТ2 при дії дози 0,3 мг/кг маси тіла не викликав змін пов'язаних із впливом тестової сполуки [180,181].

3.3. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 3 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han

3.3.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han. Досліджувана тестова субстанція ЛЦТ3 в усіх вивчених дозах не впливала на загальний фізичний стан піддослідних самців і не викликала їх смертності.

Під час усього терміну експозиції самців ЛЦТ3 в дозах 0,3 та 3,0 мг/кг достовірних змін у динаміці маси тіла не спостерігалось (рис. 3.15).

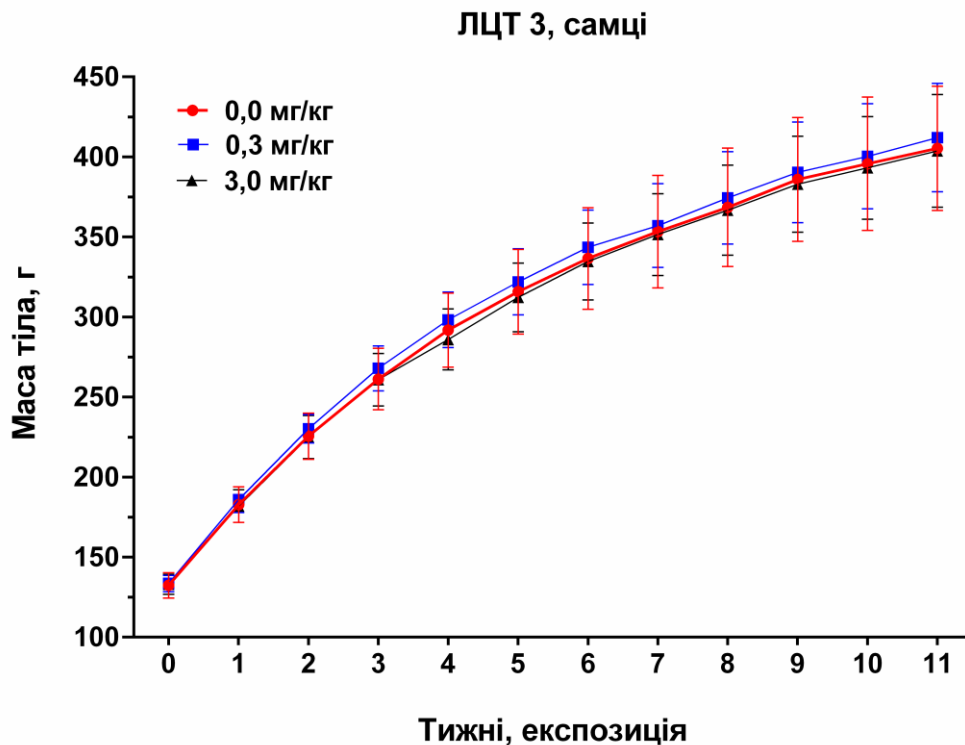
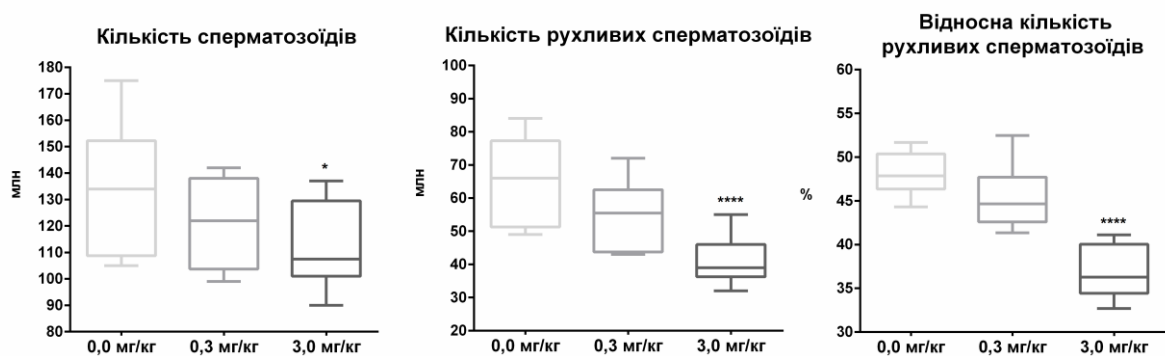


Рис. 3.15. Динаміка маси тіла самців щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 3.

У підослідній групі самців, котрі отримували дозу 0,3 мг/кг маси тіла, не спостерігалось достовірних змін маси та коефіцієнта маси сім'яників та придатків, загальної кількості сперматозоїдів, кількісного та процентного співвідношення рухливих сперматозоїдів, а також патологічних форм сперматозоїдів, таких як: аномалії хвостика, головки і шийки сперматозоїда.

Під час дослідження морфо-функціональних показників стану статевих залоз у підослідній групі самців, яка отримувала дозу 3,0 мг/кг, було встановлено достовірне зниження загальної кількості сперматозоїдів і кількості та відсотка рухливих сперматозоїдів на 17 %, 37 % та 24 % відповідно (рис. 3.16).



Примітка. * – $p \leq 0,05$; **** – $p \leq 0,001$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.16. Загальні морфо-функціональні показники сперми самців за дії лямбда-цигалотрину № 3.

При макроскопічному обстеженні сім'яників і придатків видимої патології цих органів після впливу ЛЦТЗ не виявлено. Після впливу обох досліджуваних доз (0,3 та 3,0 мг/кг) достовірних змін маси та коефіцієнта відносної маси сім'яників та придатків у самців не відмічалось (рис. 3.17).

ЛЦТЗ в дозах 0,3 мг/кг та 3,0 мг/кг не проявив шкідливого впливу на такі показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, котрі завагітніли, як кількість живих плодів, число жовтих тіл в яєчниках, число і процентне співвідношення загиблих до та після імплантації зародків і плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду, які достовірно не

відрізнялися від значення контрольної групи.

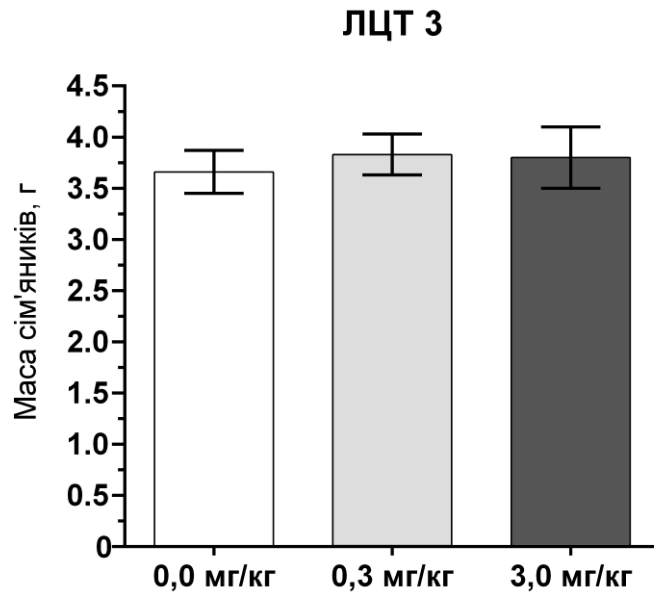


Рис. 3.17. Маса сім'яників у самців.

При вивченні запліднюючої здатності та фертильності самців, що оцінювались за показниками індексів, отриманими від інтактних самиць, вірогідних змін не відзначалось, але за дії максимальної дози спостерігалась тенденція до зниження індексів запліднення та фертильності (рис. 3.18).

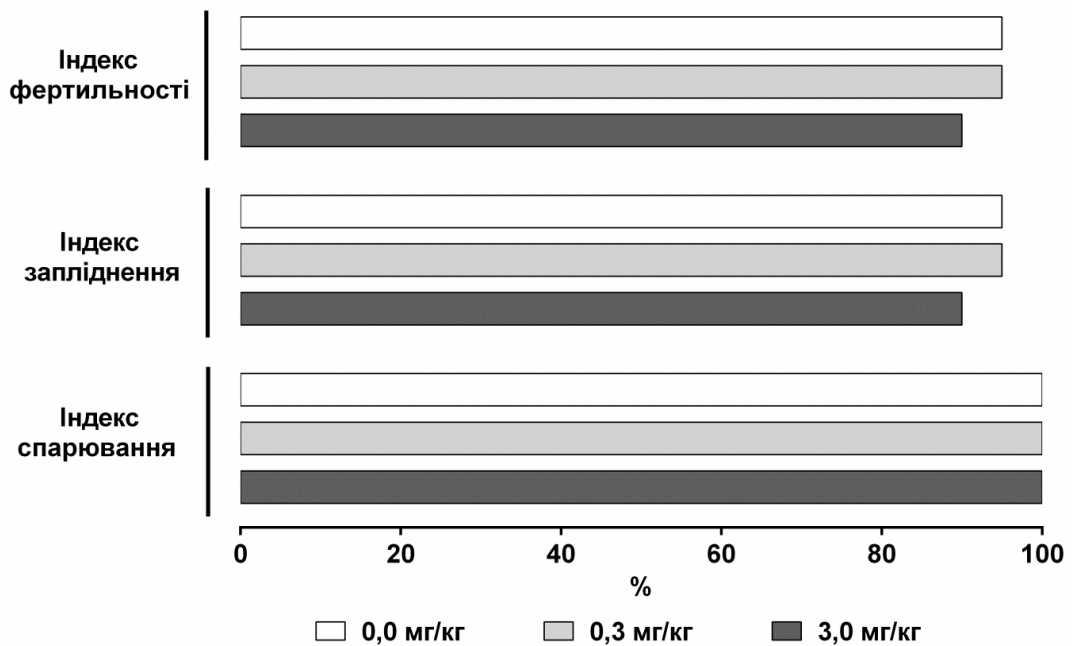


Рис. 3.18. Індеси спарювання, запліднення та фертильності.

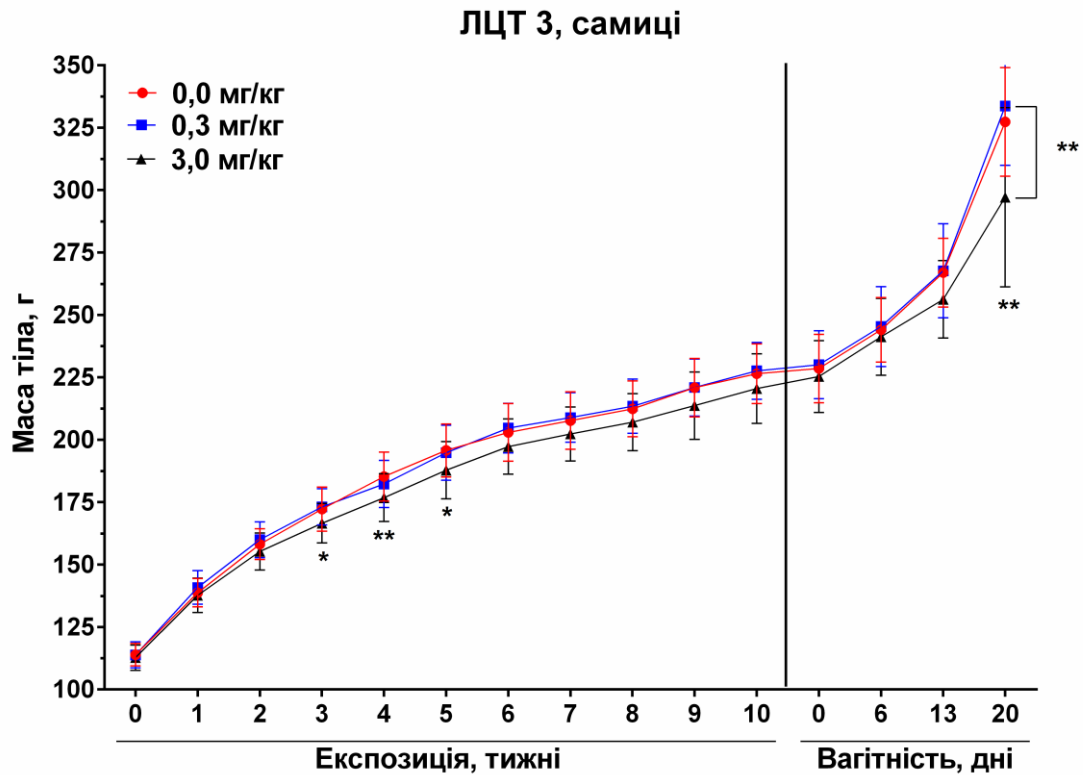
Значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялось від контролю.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самців ніяких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТЗ, не виявлено.

Підсумовуючи отримані дані по дослідженню впливу ЛЦТЗ на самцях, встановлено, що тестова субстанція при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла, має антиандрогенну дію, викликаючи зміни в показниках функціонального стану статевих залоз, такі як зниження загальної кількості сперматозоїдів, кількості та відсотка рухливих сперматозоїдів. Доза 0,3 мг/кг маси тіла не проявила шкідливого впливу на репродуктивну функцію. Максимальна та мінімальні досліджувані дози ЛЦТЗ не викликали системний токсичний ефект у самців щурів [180].

3.3.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han. ЛЦТЗ в усіх вивчених дозах не вплинув на загальний фізичний стан піддослідних самиць і не викликав їх смертності.

У групі самиць, котрі отримували мінімальну дозу (0,3 мг/кг), достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж усього терміну експозиції. Під час впливу максимальної дози (3,0 мг/кг маси тіла) проявилась тенденція до зниження динаміки маси тіла піддослідних тварин у порівнянні з контрольною групою, що привело до достовірного зниження з третього по п'ятий тиждень експерименту на 3,3 %, 4,6 % та 4,0 % відповідно. Зокрема було відмічене вірогідне зменшення маси тіла на 5,3 % на 20-й день вагітності самиць по відношенню до контролю. Також, у групі самиць, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг, відмічена достовірна різниця маси тіла на 20-й день вагітності на 6,1 % по відношенню до групи піддослідних самиць за дії дози 0,3 мг/кг маси тіла. Але зниження маси тіла було пов'язане з меншою кількістю плодів у цій групі самиць у порівнянні з контрольною. Тому, встановлено, що ЛЦТЗ у період експозиції володіє слаботоксичним ефектом на самиць щурів при дії максимальної досліджуваної дози (3,0 мг/кг) (рис. 3.19).

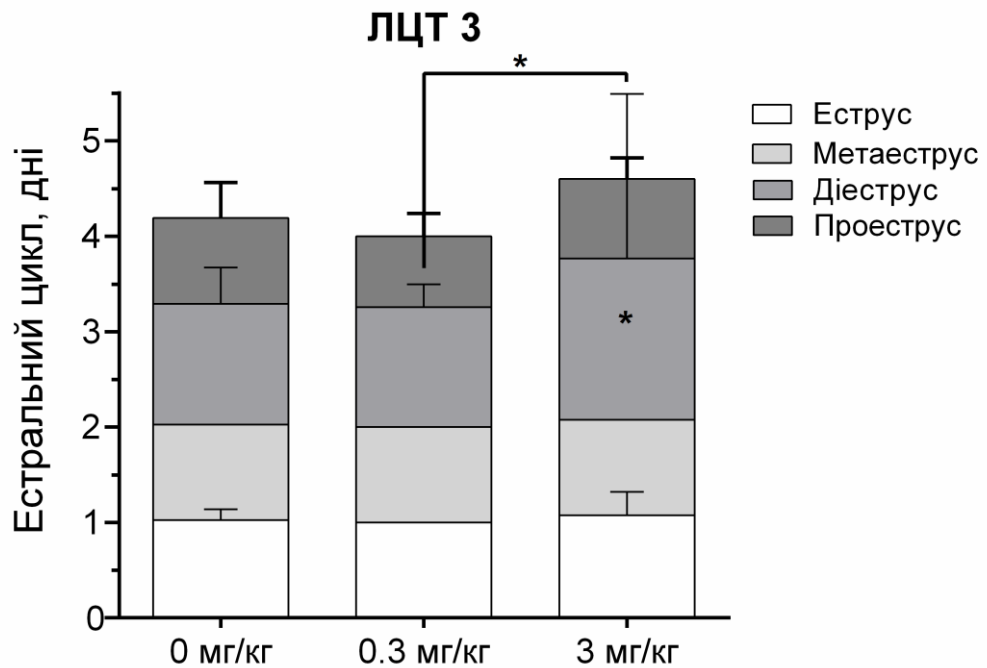


Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.19. Динаміка маси тіла самиць щурів в період експозиції лямбда-цигалотрином № 3 та вагітності.

Упродовж двох тижнів вивчення естрального циклу у самиць, які отримували дозу 3,0 мг/кг маси тіла, зафіксовано достовірне збільшення тривалості стадії дієструс по відношенню до контрольної групи на 33,5 %, а до групи самиць за дії дози 0,3 мг/кг – 31,2 %. Тривалість циклу та окремих його стадій у самиць за дії дози 0,3 мг/кг маси тіла вірогідно не змінювалась (рис. 3.20).

Збільшення стадії дієструс свідчить про порушення естрального циклу, котрий є чутливим показником дисбалансу статевих гормонів, а саме вмісту прогестерону. Отже, можна припустити, що ідентифіковані в цьому експерименті зміни, свідчать про наявність у ЛЦТ3 властивостей ендокринного деструктора.



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою, а лінією позначено міжгрупову різницю.

Рис. 3.20. Естральний цикл і тривалість його окремих стадій.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самиць будь-яких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТЗ, не виявлено.

Вивчаючи показники стану репродуктивної функції самиць на 20 день вагітності, виявлено достовірне зниження загальної маси приплоду на 16,4 % та збільшення відсотка до-імплантаційної загибелі зародків на 49,3 % при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла. Кількість живих плодів, число жовтих тіл в яєчниках, число та процент загиблих до та після імплантації плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду у піддослідній групі за дії мінімальної дози (0,3 мг/кг) достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи (табл. 3.3).

Вивчаючи здатність самиць до зачаття та їх плодючість при дії дози 3 мг/кг маси тіла, відзначалась тенденція до зниження індексів зачаття та фертильності порівняно з контрольною групою на 20 % та з групою самиць, котрі отримували мінімальну дозу (0,3 мг/кг) – 25 %. Встановлена тенденція

до зниження індексів зачаття та фертильності, що проявляється при дії максимальної дози, свідчить про порушення здатності до зачаття та плодючості – однієї з важливих функцій репродуктивної системи самиць. У піддослідній групі самиць при дії дози 0,3 мг/кг здатність до запліднення та її плодючості вірогідно не відрізнялася від контрольної (рис. 3.21).

Таблиця 3.3

Репродуктивні показники контрольних і піддослідних самиць

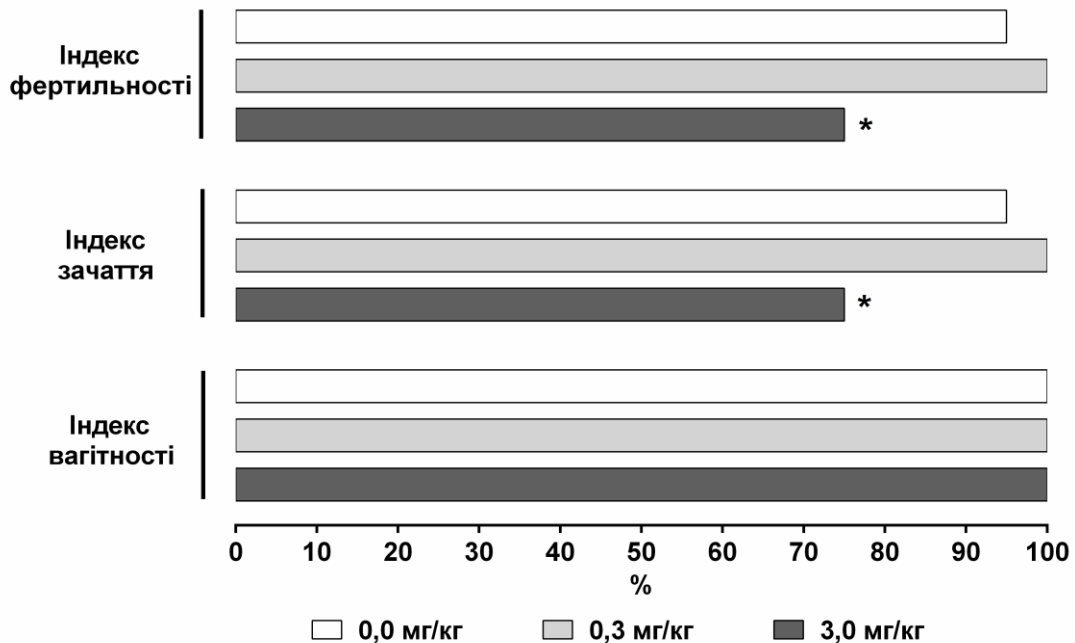
Показники		Дози ЛЦТЗ, мг/кг			
		0,0	0,3	3,0	
Середня кі-сть жовтих тіл		(M±m)	13,47±0,50	13,75±0,29	12,47±0,46
Середня кі-сть живих плодів		(M±m)	11,00±0,64	11,50±0,59	9,13±0,82
Доімплантаційна загибель зародків	кі-сть	(M±m)	1,95±0,54	1,50±0,41	2,53±0,60
	%	(M±m)	14,17±4,01	11,42±3,46	21,15±5,17*
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть	(M±m)	0,58±0,19	0,75±0,20	0,80±0,24
	%	(M±m)	4,34±1,37	5,74±1,61	6,27±1,90
Загальна маса приплоду, г		(M±m)	40,16±2,30	41,56±2,02	33,59±3,03*
Середня маса плодів, г		(M±m)	3,66±0,05	3,64±0,06	3,69±0,07

Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Більшість самиць спарилися з самцями в першу стадію еструса, тому значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

Отже, в дослідженні впливу ЛЦТЗ на самиць щурів при дії максимальної дози, встановлено слаботоксичний ефект під час періоду експозиції та порушення репродуктивної функції, а саме зниження загальної маси приплоду та збільшення відсотка загиблих до імплантації зародків, значне зниження індексів зачаття та фертильності. Відзначено зміни тривалості естрального циклу та окремих його стадій, що характеризують

ендокрин-деструктивні порушення, котрі пов'язані з естрогеноподібними властивостями ЛЦТЗ. При дії дози 0,3 мг/кг маси тіла не виявлено змін параметрів репродуктивної функції та системної токсичності.



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.21. Індокси зачаття, фертильності та вагітності самиць.

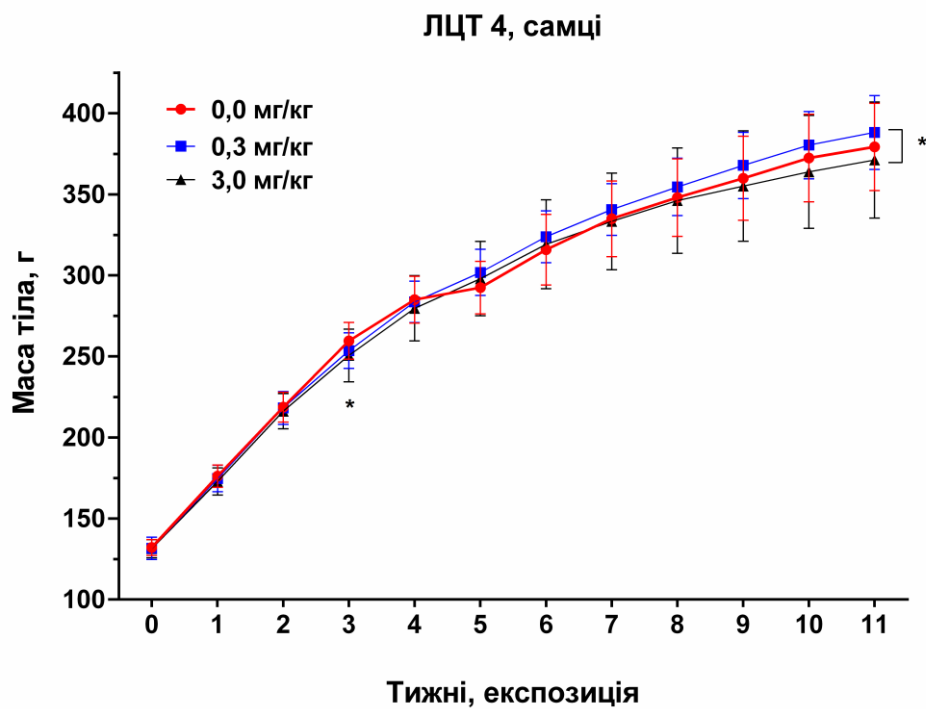
Отже, отримані дані свідчать про те що, ЛЦТЗ за дії дози 3,0 мг/кг маси тіла володіє антиандрогенною дією на самців, індукує зміни естрального циклу у самиць і порушує їх репродуктивну функцію, та таким чином проявляє свої ендокрин-деструктивні властивості. Доза 0,3 мг/кг маси тіла не вплинула на репродуктивну функцію самців та самиць щурів. Виявлені зміни в даному експерименті носять дозозалежний лінійний характер токсичного впливу ЛЦТЗ в діапазоні досліджених показників [180,181].

3.4. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 4 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han

3.4.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han. Досліджувана тестова субстанція лямбда-цигалотрину № 4 (ЛЦТ4) у всіх вивчених дозах не вплинула на загальний фізичний стан

піддослідних самців і не викликала їх смертності.

У групі самців за дії мінімальної дози 0,3 мг/кг маси тіла достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж усього терміну експозиції. Під час впливу максимальної дози 3,0 мг/кг маси тіла відзначено достовірне зниження маси тіла піддослідних тварин у порівнянні з контрольною групою на третьому тижні експозиції на 3,5 %. Зокрема, на 11 тижні експозиції відмічено вірогідне зменшення маси тіла групи самців, котрі отримували дозу 3,0 мг/кг на 4,5 % по відношенню до групи самців при дії дози 0,3 мг/кг. Отримано, що зміна маси тіла піддослідних самців не пов'язана з впливом ЛЦТ4 (рис. 3.22).



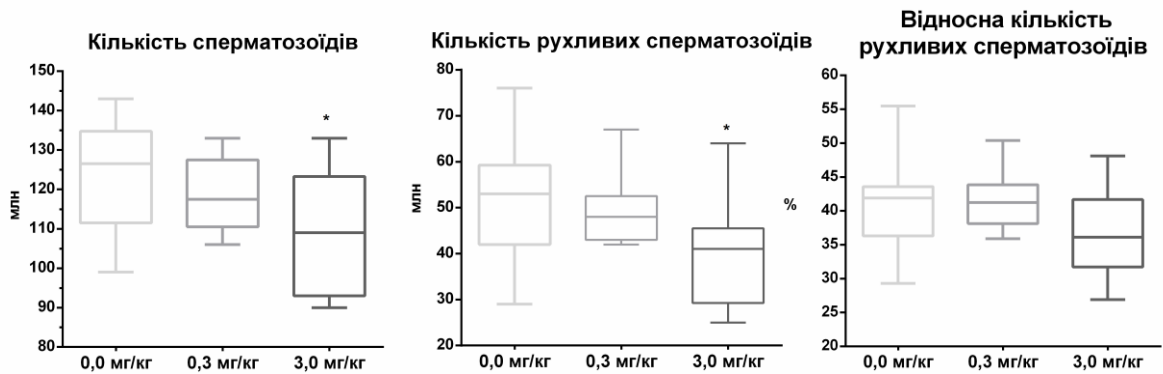
Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.22. Динаміка маси тіла самців щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 4.

У піддослідній групі самців при дії дози 0,3 мг/кг не спостерігалось достовірних змін маси і коефіцієнта маси сім'яників та придатків, загальної кількості сперматозоїдів, кількості та відсотку рухливих сперматозоїдів, а також патологічних форм сперматозоїдів (аномалії хвостика, головки і

шийки сперматозоїда).

Під час дослідження морфо-функціональних показників стану статевих залоз у піддослідних групах самців у дозі 3,0 мг/кг, було встановлено достовірне зниження загальної кількості та кількості рухливих сперматозоїдів на 12 % та 22 % відповідно (рис. 3.23). Достовірних змін усіх інших показників, а також маси сім'яників та придатків у цій дозі не відзначалося (рис. 3.24).



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.23. Загальні морфо-функціональні показники сперми самців за дії лямбда-цигалотрину № 4.

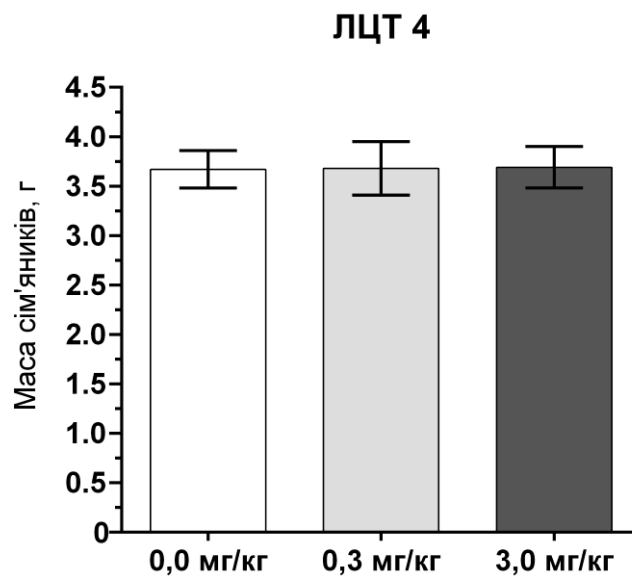


Рис. 3.24. Маса сім'яників у самців.

ЛЦТ4 в дозах 0,3 мг/кг та 3,0 мг/кг не проявив шкідливого впливу на репродуктивну функцію самців. У інтактних самиць, які завагітніли від піддослідних самців кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число і відсоток загиблих до і після імплантації зародків і плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи.

При вивченні запліднюючої здатності та фертильності самців, що оцінювались за показниками інтактних самиць, із збільшенням дози ЛЦТ4 відзначалась тенденція до зниження індексів зачаття та фертильності. При дії як максимальної (3,0 мг/кг) так і мінімальної (0,3 мг/кг) доз індекс спарювання залишається незмінним (рис. 3.25).

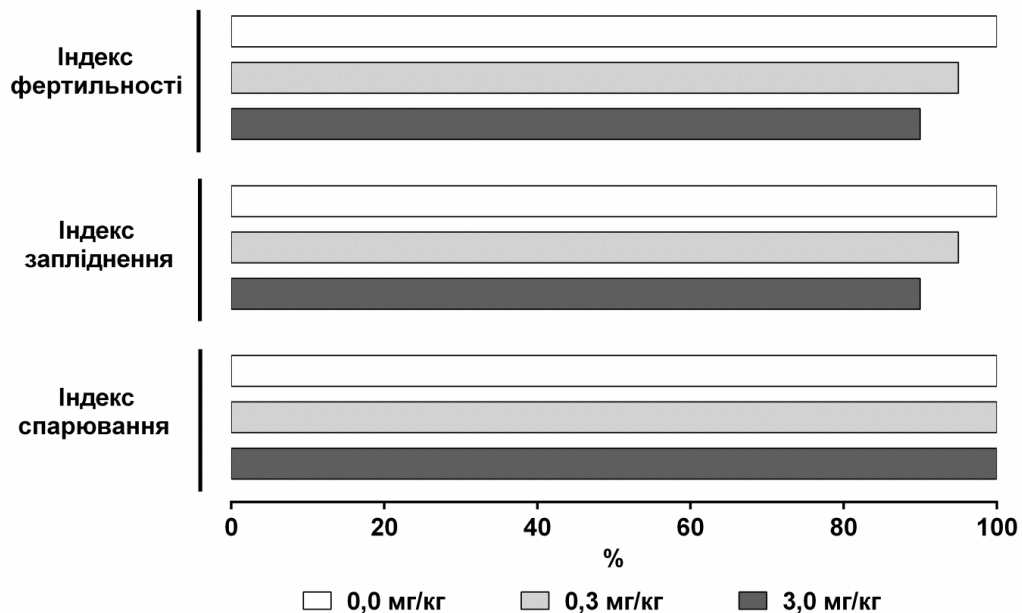


Рис. 3.25. Індеси спарювання, запліднення та фертильності.

Значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

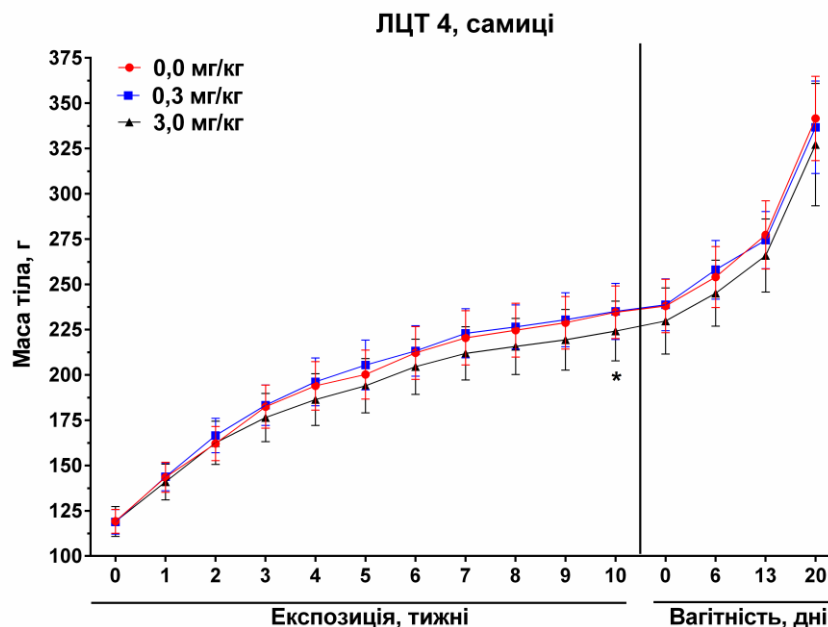
При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів самців будь-яких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТ4, не виявлено.

Отже, отримані результати по дослідженню впливу ЛЦТ4 на самців щурів у дозі 3,0 мг/кг маси тіла, показали зміни в якості сперми, тобто зниженню загальної кількості та кількості рухливих сперматозоїдів, що

свідчить про антиандрогенний ефект. За дії тестової сполуки в дозі 0,3 мг/кг, змін досліджуваних показників у самців щурів, пов'язаних із впливом ЛЦТ4 не виявлено [180].

3.4.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han. Тестова субстанція ЛЦТ4 у всіх вивчених дозах не впливала на загальний фізичний стан піддослідних самиць і не викликали їх смертності.

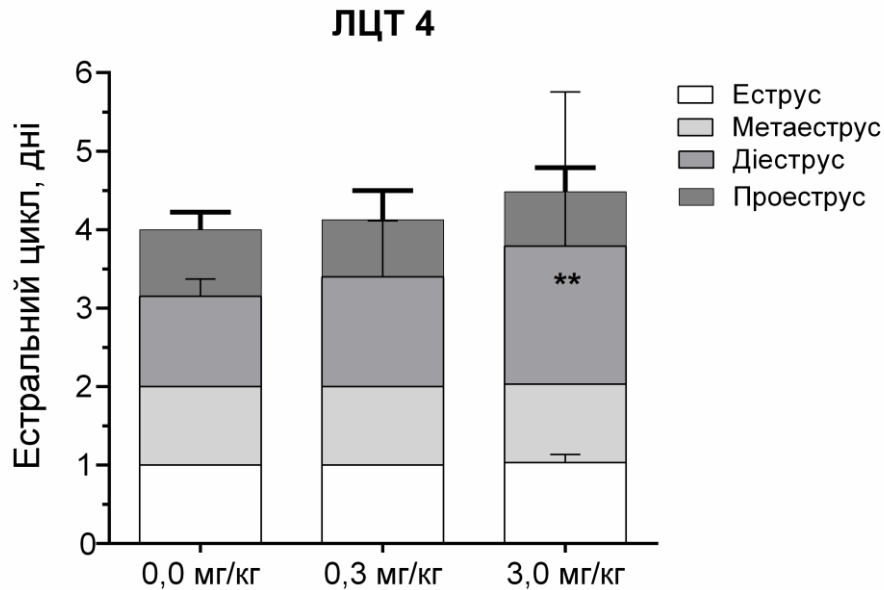
У групі самиць за дії мінімальної дози (0,3 мг/кг маси тіла), достовірних змін динаміки маси тіла не спостерігалось впродовж усього терміну експозиції. Під час впливу максимальної дози (3,0 мг/кг) була відзначена тенденція до зниження маси тіла, але вірогідне її зниження встановлено на останньому 10-му тижні періоду впливу на 4,4 % в порівнянні з контрольною групою. Під час усього терміну вагітності самиць, достовірних змін у динаміці маси тіла не спостерігалось, але за дії максимальної дози маса тіла залишилась зниженою. Тому, встановлено, що ЛЦТ4 проявляє незначний системний токсичний ефект на самиць під час періоду експозиції максимальної досліджуваної дози 3,0 мг/кг маси тіла (рис. 3.26).



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.26. Динаміка маси тіла самиць щурів в період експозиції лямбда-цигалотрином № 4 та вагітності.

Упродовж двох тижневого періоду спостереження за естральним циклом у самиць, які отримували ЛЦТ4 в максимальній дозі, нами зафіксовано достовірне збільшення тривалості прогестерон-залежної стадії дієструсу на 52,9 %. Тривалість циклу та інших окремих його стадій у самиць за дії досліджуваної дози 0,3 мг/кг маси тіла вірогідно не змінювалось (рис. 3.27).



Примітка. ** – $p \leq 0,01$ в порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.27. Естральний цикл і тривалість його окремих стадій.

З огляду на те, що порушення естрального циклу є досить чутливим показником дисбалансу статевих гормонів, можна припустити, що ідентифіковані у даному експерименті відхилення свідчать про зміну вмісту гормону прогестерону.

При макроскопічному обстеженні внутрішніх органів на 20-й день вагітності самиць ніяких змін, пов'язаних із впливом ЛЦТ4, не виявлено. Згідно з таблицею 3.4, за дії обох досліджуваних доз не проявився шкідливий вплив на фертильність самиць. Кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число та відсоток загиблих до та після імплантації плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи (табл. 3.4).

Репродуктивні показники контрольних і підослідних самиць

Показники			Дози ЛЦТ4, мг/кг		
			0,0	0,3	3,0
Середня кі-сть жовтих тіл		(M±m)	13,20±0,46	13,32±0,35	13,89±0,45
Середня кі-сть живих плодів		(M±m)	11,55±0,55	11,79±0,47	11,89±0,61
Доімплантаційна загибель зародків	кі-сть	(M±m)	1,05±0,29	0,79±0,30	1,21±0,29
	%	(M±m)	8,40±2,44	5,70±2,26	8,84±2,16
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть	(M±m)	0,60±0,13	0,74±0,28	0,79±0,20
	%	(M±m)	4,31±0,95	5,59±2,15	6,21±1,75
Загальна маса приплоду, г		(M±m)	40,42±1,9	41,92±1,79	41,84±2,26
Середня маса плодів, г		(M±m)	3,50±0,04	3,56±0,05	3,52±0,06

При вивченні індексів зачаття та фертильності у самиць відзначалась тенденція до їх зниженню, але значення не виходили за межі вірогідності (рис. 3.28). Індекс вагітності самиць після впливу ЛЦТ4 обох досліджуваних доз (0,3 та 3,0 мг/кг) не змінився в порівнянні з контрольним.

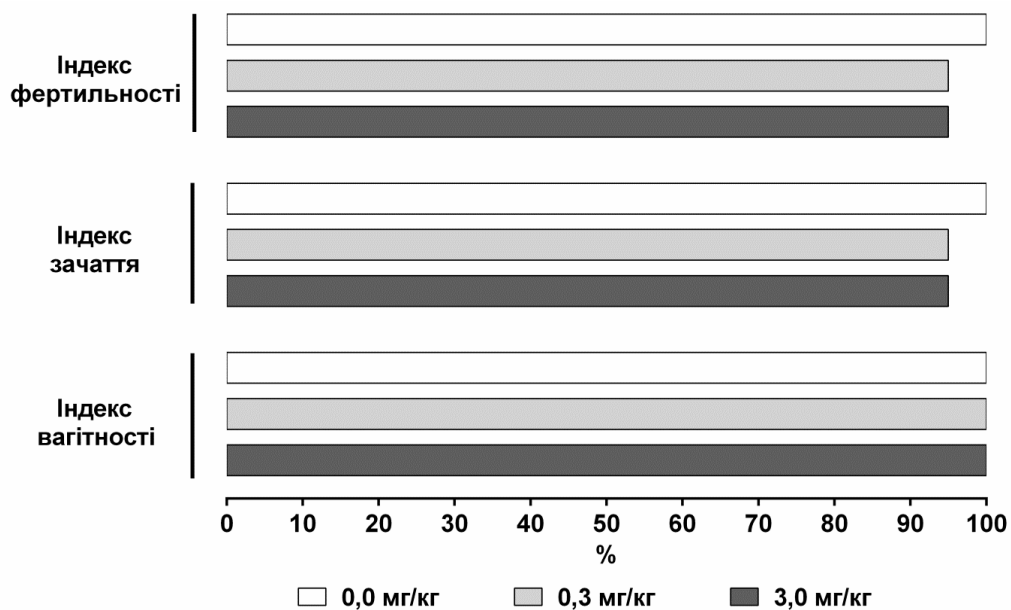


Рис. 3.28. Індеси зачаття, фертильності та вагітності самиць.

Зафіксовано, що в кожній із піддослідних груп було по одній самиці, які спарилися з інтактними самцями, але не завагітніли. Всі інші самиці завагітніли після встановлення факту спарювання.

Більшість самиць спарилися з самцями в першу стадію еструса, тому значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

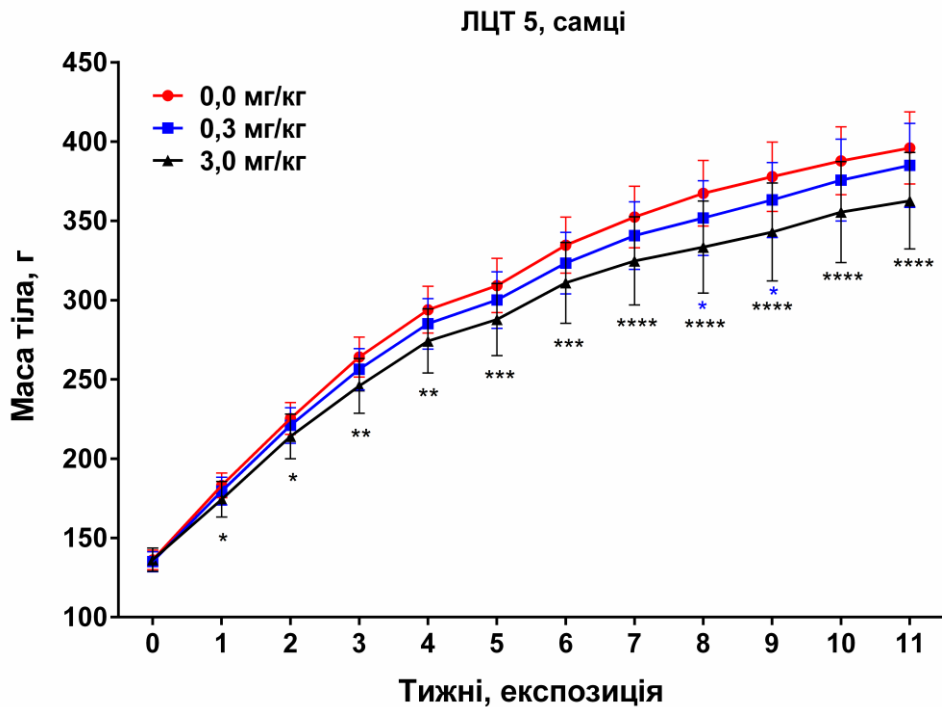
Аналізуючи данні, отримані в дослідженні на самицях щурів, можна зазначити, що ЛЦТ4 в дозі 3,0 мг/кг маси тіла володіє системною та репродуктивною токсичністю, це відображається змінами в динаміці маси тіла та естрального циклу відповідно.

Підсумовуючи результати дослідження впливу ЛЦТ4, у самців та самиць щурів відзначається слабовиражений системний токсичний ефект при дії максимальної дози 3,0 мг/кг маси тіла. Проявляється антиандрогенна дія при впливі на самців та порушення естрального циклу у самиць щурів, що відповідає ендокрин-деструктивними властивостями цієї сполуки. Експозиція ЛЦТ4 при дії дози 0,3 мг/кг маси тіла не вплинула на загально-фізіологічний стан тварин та на їх репродуктивну функцію. В діапазоні вивчених параметрів, виявлені зміни носять лінійний дозозалежний характер токсичного впливу ЛЦТ4 [180,181].

3.5. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 5 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han

3.5.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han. В ході експерименту впливу ЛЦТ5 у жодній із піддослідних груп не відзначалося смертності тварин. Однак за дії максимальної досліджуваної дози (3,0 мг/кг маси тіла), ЛЦТ5 чинив системну токсичну дію на самців, який проявлявся зниженням маси тіла впродовж усього періоду (11 тижнів) експозиції на 4,8 %, 5,0 %, 6,9 %, 6,7 %, 6,9 %, 7,1 %, 7,9 %, 9,2 %, 9,2 %, 8,4 % та 8,4 %. При дії мінімальної дози спостерігалася помірна

тенденція до зниження маси тіла, яка досягала рівня достовірності на восьмий і дев'ятий тижні експерименту на 4,2 % і 3,9 % відповідно (рис. 3.29).

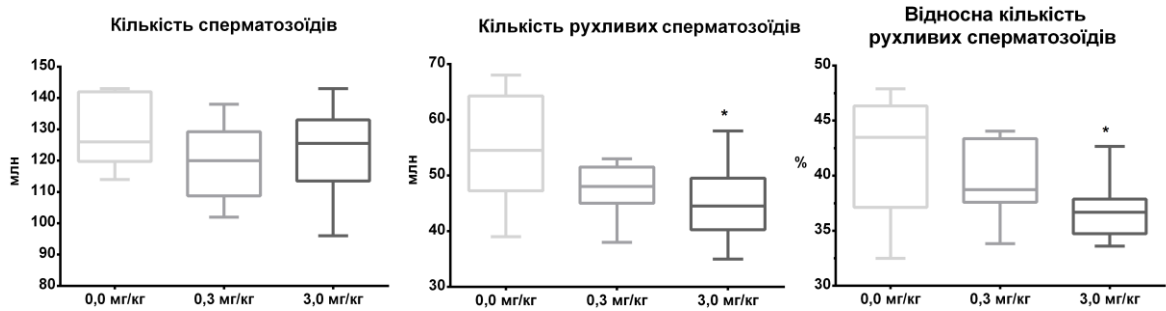


Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$; **** – $p \leq 0,0001$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.29. Динаміка маси тіла самців щурів в період експозиції лямбда-цигалотрином № 5.

Лямбда-цигалотрин проявив антиандрогенний ефект при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла, що характеризувався достовірним зниженням абсолютної та відносної кількості рухливих епідідимальних сперматозоїдів на 16,9 % та 12,2 % відповідно (рис. 3.30).

Загальна кількість сперматозоїдів, абсолютна та відносна кількість патологічних форм статевих клітин, а також маса сім'яників, придатків, простати та сім'яних пухирців достовірно не відрізнялися від контролю. Індекси зачаття та фертильності у піддослідних самців вірогідно не відрізнялися від контролю, хоча спостерігалась дозозалежна тенденція до зниження на 5 % і 10 % (рис. 3.31).



Примітка. * – $p \leq 0,05$ в порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.30. Загальні морфо-функціональні показники сперми самців за дії лямбда-цигалотрину № 5.

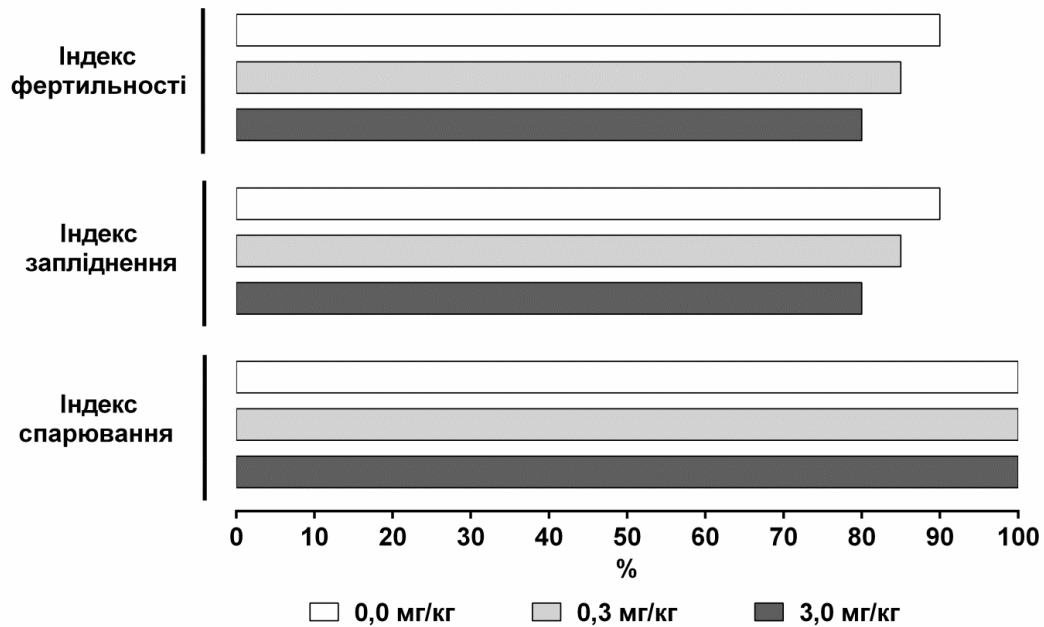


Рис. 3.31. Індеси спарювання, запліднення та фертильності.

Тестова субстанція не виявила негативного впливу на функцію відтворення потомства піддослідних самців, згідно з репродуктивними показниками інтактних самиць, які завагітніли. Кількість живих плодів у піддослідних групах, число жовтих тіл в яєчниках, число та відсоток загиблих до та після імплантації плодів, а також середня маса плодів і загальна маса приплоду достовірно не відрізнялися від значення контрольної групи.

Отже, досліджуючи вплив ЛЦТ5 на самців щурів, при дії максимальної

доз, було встановлено зміни функціонального стану статевих залоз, що характеризувались зниженням кількості та відсотка рухливих сперматозоїдів. При дії обох досліджуваних доз виявлена системна токсичність під час періоду експозиції, але менш вираженою вона була при дії мінімальної дози. Експозиція ЛЦТ5 в дозі 0,3 мг/кг маси тіла не впливала на досліджувані репродуктивні параметри самців щурів Wistar Han у цьому експерименті. [182]

3.5.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han. Тестова субстанція ЛЦТ5 у всіх вивчених дозах не впливала на загальний фізичний стан піддослідних самиць і не викликала їх смертності.

Піддослідні самиці виявилися менш чутливими до системної токсичної дії ЛЦТ5 у порівнянні з самцями. Тобто, не спостерігалось змін динаміки маси тіла піддослідних самиць у період експозиції по відношенню до контрольної групи (рис. 3.32).

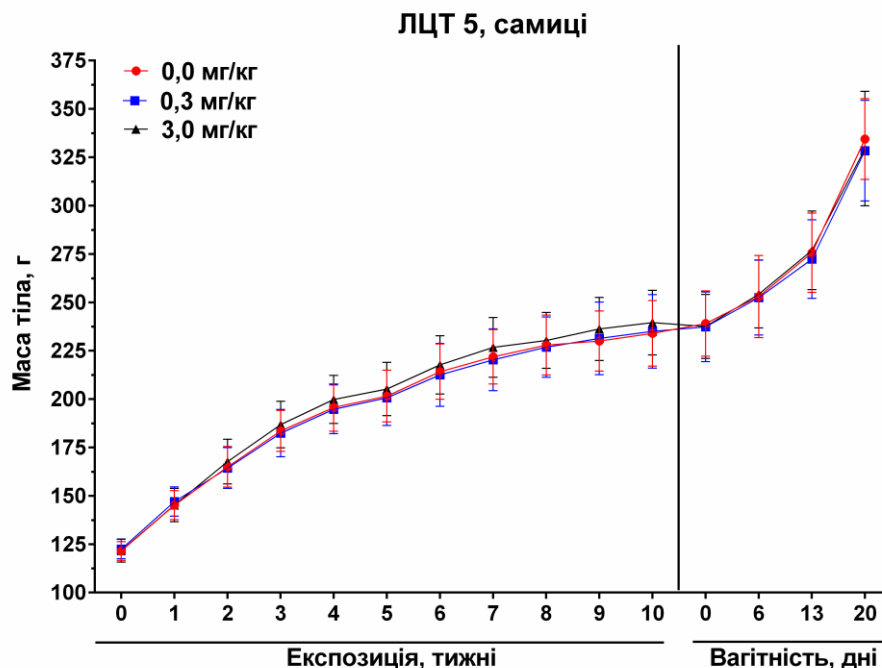
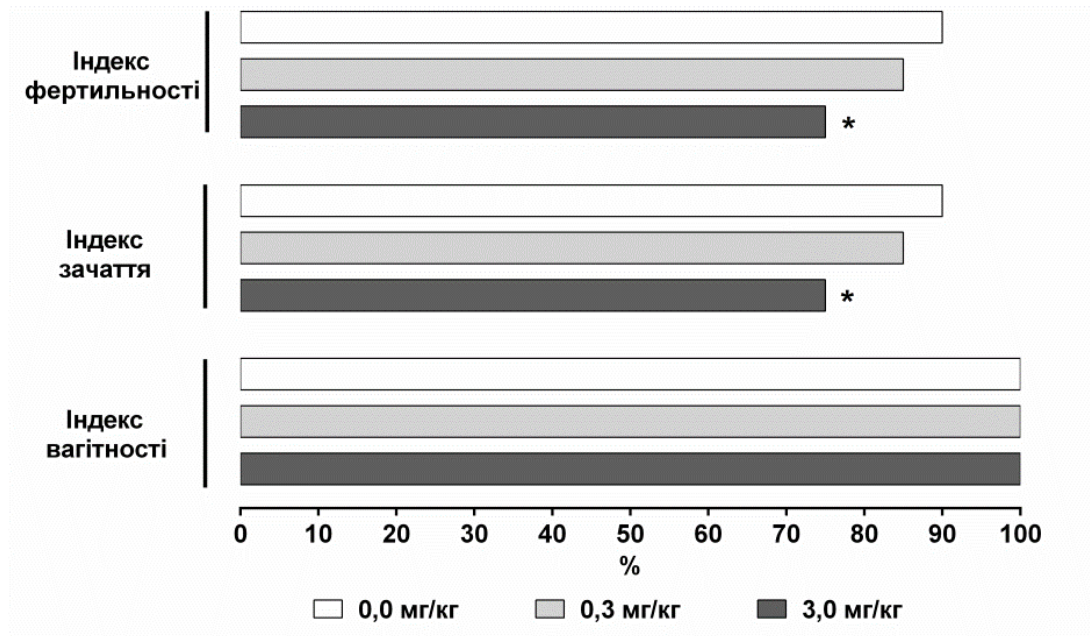


Рис. 3.32. Динаміка маси тіла самиць щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 5 та вагітності.

Водночас зміни параметрів їх репродуктивної функції виявилися більш вираженими ніж у самців, що проявлялося достовірним зниженням індексів

зачаття та фертильності на 15 % (рис 3.33), а також середньої маси плодів за умов дії дози 3 мг/кг маси тіла на 8,4 %. При дії цієї дози спостерігалася тенденція до збільшення доімплантаційної загибелі зародків, але його значення не виходило за межі вірогідності (табл. 3.5).



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.33. Індеси зачаття, фертильності та вагітності самиць.

Таблиця 3.5

Репродуктивні показники контрольних і піддослідних самиць

Показники		Дози ЛЦТ5, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кі-сть самиць, які злучалися	n	20	20	20
Кі-сть самиць, які завагітніли	n	18	17	15
Індекс спарювання	%	100	100	100
Індекс зачаття	%	90	85	75**
Індекс фертильності	%	90	85	75**
Індекс вагітності	%	100	100	100
Середня кі-сть жовтих тіл	(M±m)	14,00±0,69	13,12±0,52	13,80±0,40

Показники		Дози ЛЦТ5, мг/кг			
		0,0	0,3	3,0	
Середня кі-сть живих плодів		(M±m)	11,28±0,54	10,47±0,61	10,40±0,90
Доімплантаційна загибель зародків	кі-сть	(M±m)	1,61±0,43	1,71±0,31	2,53±0,79
	%	(M±m)	10,67±2,81	13,45±2,82	18,91±5,91
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть	(M±m)	1,11±0,25	0,82±0,27	0,87±0,27
	%	(M±m)	7,49±1,64	6,19±2,02	6,33±1,98
Загальна маса приплоду, г		(M±m)	38,94±2,43	34,91±2,43	32,77±2,93
Середня маса плодів, г		(M±m)	3,45±0,13	3,30±0,13	3,16±0,07*

Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з даними контрольної групи.

Зафіксовано кількість піддослідних самиць, які спарилися, але не завагітніли: п'ять самиць із групи, яка отримувала максимальну дозу, три із групи мінімальної дози, а також дві з контрольної групи. Всі інші самиці завагітніли після встановлення факту спарювання.

Упродовж двох тижневого періоду спостереження за естральним циклом не виявлено його порушення за дії обох досліджуваних доз.

Більшість самиць спарилися з самцями в першу стадію еструса, тому значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю.

Аналізуючи результати дослідження впливу ЛЦТ5 на самиць щурів, встановлено, що тестова субстанція володіє репродуктивною токсичністю при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла.

Згідно з отриманими результатами, можна зазначити, що самці були більш чутливі до системної токсичності при дії ЛЦТ5, а самиці – до змін параметрів репродуктивної функції. Таким чином за дії обох доз у самців, відзначалось зниження маси тіла під час експозиції, а при дії максимальної

доза проявилась антиандрогенна дія тестової сполуки. Щодо самиць, то було відмічене зниження індексів зачаття та фертильності, а також зменшення середньої маси плодів при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла. Експозиція ЛЦТ5 в дозі 0,3 мг/кг маси тіла не впливала на досліджувані репродуктивні параметри самців та самиць щурів Wistar Han у цьому експерименті. Виявлені зміни вивчених показників носять дозозалежний лінійний характер токсичного впливу ЛЦТ5 [182].

3.6. Вплив зразка лямбда-цигалотрину № 6 на репродуктивну функцію самців і самиць щурів Wistar Han

3.6.1. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самиць щурів Wistar Han. ЛЦТ6 у всіх вивчених дозах не впливав на загальний фізичний стан піддослідних самиць і не викликала їх смертності.

Піддослідні самиці не виявилися чутливими до системної токсичної дії ЛЦТ6, змін динаміки маси тіла не спостерігалось, як упродовж всього терміну експозиції так і під час періоду вагітності (рис. 3.34).

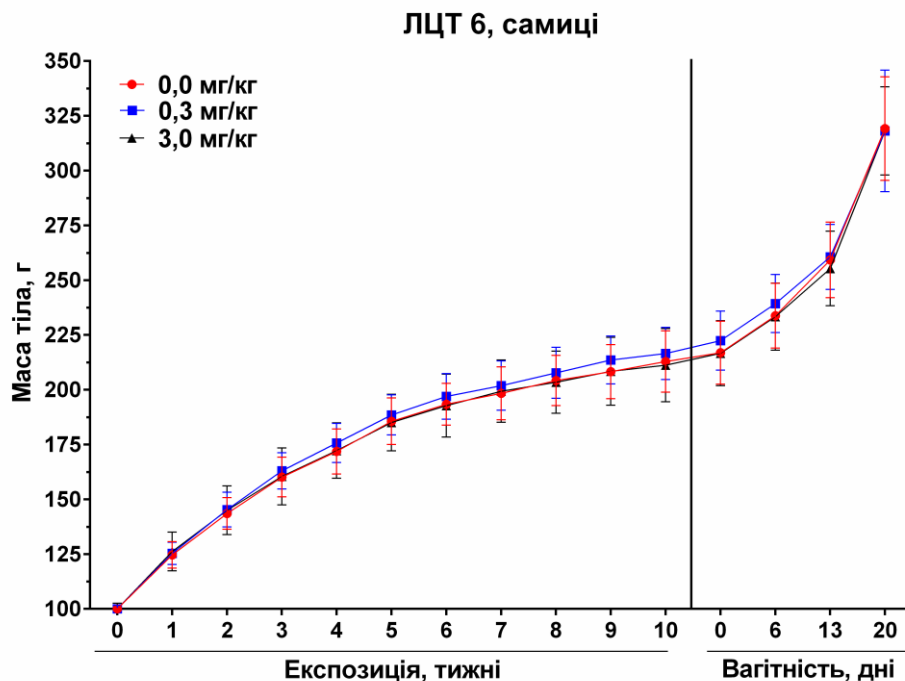


Рис. 3.34. Динаміка маси тіла самиць щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 6 і вагітності.

Водночас відзначено вплив ЛЦТ6 на показники стану репродуктивної функції в піддослідній групі самиць у дозі 3 мг/кг, який проявився достовірним збільшення кількості та відсотка пост-імплантаційної загибелі зародків (плодів) на 144 % та 159 % відповідно.

Значення індексів спарювання, зачаття, фертильності та вагітності не виходило за межі вірогідності, але тенденція до зниженню індексів зачаття та фертильності присутня (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Репродуктивні показники контрольних та піддослідних самиць

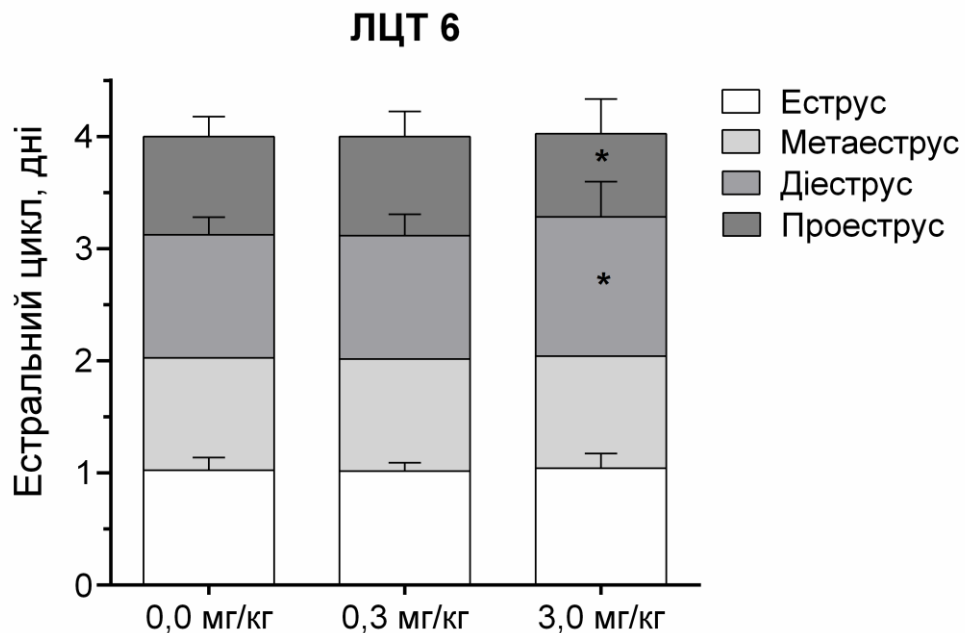
Показники			Дози ЛЦТ6, мг/кг		
			0,0	0,3	3,0
Кі-сть самиць, які злучалися	n		20	20	20
Кі-сть самиць, які завагітніли	n		19	18	18
Індекс спарювання	%		100	100	100
Індекс зачаття	%		95	90	90
Індекс фертильності	%		95	90	90
Індекс вагітності	%		100	100	100
Середня кі-сть жовтих тіл	(M±m)		13,63±0,42	12,89±0,54	13,39±0,29
Середня кі-сть живих плодів	(M±m)		11,74±0,61	10,67±0,8	11,50±0,41
Доімплантаційна загибель зародків	кі-сть	(M±m)	1,58±0,58	1,94±0,50	1,11±0,35
	%	(M±m)	11,32±4,16	16,29±4,92	8,30±2,67
Пост-імплантаційна загибель зародків, плодів	кі-сть	(M±m)	0,32±0,13	0,28±0,14	0,78±0,17*
	%	(M±m)	2,24±0,94	2,16±1,09	5,79±1,25*
Загальна маса приплоду, г	(M±m)		41,67±2,14	37,59±2,76	39,75±1,57
Середня маса плодів, г	(M±m)		3,57±0,05	3,55±0,05	3,46±0,06

Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з даними контрольної групи.

Зафіксовано кількість піддослідних самиць, які спарилися з інтактними

самцями, але не завагітніли: по дві самиці із піддослідних груп та одна з контрольної групи. Всі інші самиці завагітніли після встановлення факту спарювання.

Упродовж двох тижневого періоду спостереження за естральним циклом у самиць, які отримували ЛЦТ6, встановлено збільшення тривалості стадії дієструс на 13,0 %, а також зменшення тривалості стадії проєструс на 15,3 % за дії дози 3,0 мг/кг маси тіла. Тривалість естрального циклу та окремих його стадій за дії мінімальної дози (0,3 мг/кг маси тіла) вірогідно не змінювалась (рис. 3.35).



Примітка. *– $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.35. Естральний цикл і тривалість його окремих стадій.

Значення величини прекоітального інтервалу в піддослідних групах достовірно не відрізнялися від контролю, більшість самок спарилися з самцями в першу стадію еструса.

Таким чином, на підставі отриманих результатів, можна зробити висновок, що ЛЦТ6 впливає на репродуктивну функцію самиць при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла, що проявляється в збільшенні кількості та відсотка пост-імплантаційної загибелі зародків (плодів), а також володіє ендокрин-

деструктивними властивостями (порушення цитогормонального стану естрального циклу).

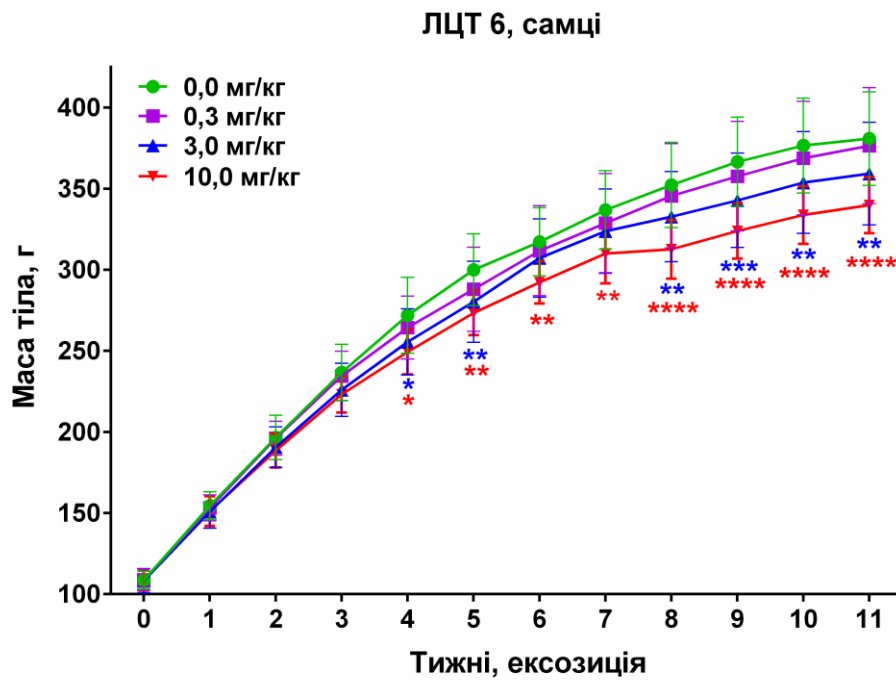
Експозиція ЛЦТ6 в дозі 0,3 мг/кг маси тіла не впливала на досліджувані параметри самиць щурів Wistar Han у цьому експерименті.

3.6.2. Гонадо- та репродуктивна токсичність для самців щурів Wistar Han після періоду експозиції та формування груп для відновлювального періоду. Дослідження впливу ЛЦТ6 на самців щурів проведено на трьох рівнях доз: мінімальний (0,3 мг/кг), середній (3,0 мг/кг) та максимальний (10 мг/кг). Упродовж всього періоду експерименту у жодній із піддослідних груп тварин не відзначалося смертності та їх загальний фізичний стан не змінювався. Однак, за умов дії максимальної дози 10 мг/кг маси тіла, починаючи з 4-го тижня до кінця періоду експозиції, спостерігався системний токсичний ефект, що характеризувався достовірним зниження маси тіла піддослідних тварин у порівнянні з контрольною групою на 8,3 %, 8,8 %, 7,9 %, 8,0 %, 11,3 %, 11,6 %, 11,4 % та 10,7 % відповідно.

Тенденція до зниження маси тіла відзначалася також і за дії середньої дози 3 мг/кг маси тіла, але вона була менш вираженою. Достовірне зниження маси тіла зафіксовано на 4, 5, 8, 9, 10 та на 11-му тижні експозиції на 6,0 %, 6,6 %, 5,6 %, 6,5 %, 6,1 % та на 5,5 % відповідно (рис. 3.36).

На підставі проведених досліджень, встановлено, що всі п'ять вивчених препаратів володіють антиандрогенною дією і тому впливають на сперматогенез. Отже, на нашу думку, доцільно вивчити стан гормонального фону, а саме одного з найбільш важливих гормонів для чоловічої репродуктивної системи – тестостерону. В зв'язку з виявленими порушеннями, дослідити оборотність або необоротність виявлених змін після відновлювального періоду.

Отже, після закінчення періоду експозиції у частини піддослідних та контрольних самців досліджували морфо-функціональні показники гонад та вміст тестостерону в сироватці крові.



Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$; **** – $p \leq 0,0001$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.36. Динаміка маси тіла самців щурів у період експозиції лямбда-цигалотрином № 6.

Виявлено зміни показника якості сперми у самців. Загальна кількість сперматозоїдів у порівнянні з контролем достовірно зменшувалася при дії максимальної дози (10 мг/кг маси тіла) на 13,6 %. При дії менших рівнів впливу відзначалась така ж тенденція, але, однак, вона не досягла статистично значимих величин. Число та відсоток рухливих сперматозоїдів у порівнянні з контролем знижується у самців, які отримували середню дозу, на 22,7 % та 11,2 % і максимальну дозу препарату – на 27,1 % та 14,6 % відповідно. У цих групах також зростає відсоток патологічних форм статевих клітин на 179 % за дії дози 3,0 мг/кг та на 271 % – 10 мг/кг маси тіла (табл. 3.7).

Що стосується вмісту тестостерону, то, як видно з наведених у таблиці 3.7 даних та згідно рис. 3.37, рівень цього гормону в сироватці крові проявляє тенденцію до зниження (статистично недостовірну) при дії мінімальної та максимальної вивчених доз, у той час як при дії середньої дози ця тенденція

досягає свого максимуму і проявляється зниженням вмісту тестостерону з високим ступенем достовірності ($p < 0,01$) на 72,0 %.

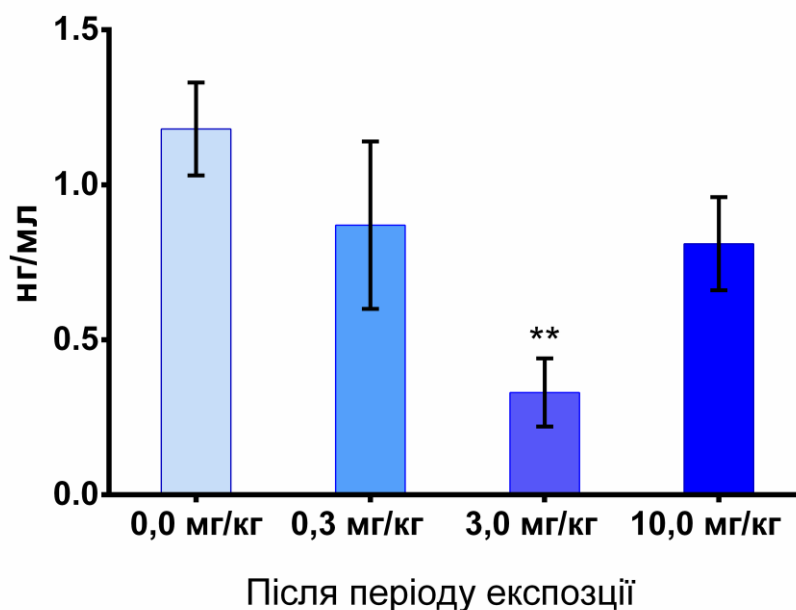
Таблиця 3.7

Морфо-функціональний стан статевих залоз і концентрація загального тестостерону в сироватці крові у самців щурів після періоду експозиції лямбда-цигалотрином № 6

Показники	Доза, мг/кг			
	0,0	0,3	3,0	10,0
Тестостерон, нг/мл	1,18±0,15	0,87±0,27	0,33±0,11**	0,81±0,15
Кі-сть рухливих сперматозоїдів, млн.	59,00±4,53	53,70±3,94	45,60±3,98*	43,00±1,70*
Загальна кі-сть сперматозоїдів, млн.	133,50±6,15	123,50±9,82	115,80±6,13	115,40±3,50*
% рухливих сперматозоїдів	43,71±1,41	43,40±1,77	38,82±1,54*	37,35±1,55*
% патологічних форм	0,53±0,23	0,84±0,23	1,48±0,30*	2,29±0,48**
Маса сім'яників, г	3,70±0,11	3,70±0,08	3,65±0,13	3,50±0,13
Маса придатків, г	1,16±0,03	1,20±0,03	1,13±0,06	1,16±0,01
Коефіцієнт відносної маси сім'яників	9,64±0,31	9,68±0,23	9,76±0,35	10,28±0,28
Коефіцієнт відносної маси придатків	3,03±0,09	3,16±0,10	3,02±0,17	3,40±0,04**
Маса самців	384,80±4,33	382,90±7,61	375,40±8,91	340,60±5,12***

Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,0001$ у порівнянні з даними контрольної групи.

Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що мінімальна вивчена доза, котру отримували самці в умовах проведеного експерименту, не вплинула на досліджувані показники.



Примітка. ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.37. Рівень вмісту тестостерону в сироватці крові самців щурів після закінчення періоду експозиції лямбда-цигалотрином № 6.

При плануванні експерименту поряд з ідентифікацією ступеня, характеру і особливостей токсичного впливу ЛЦТ6, метою нашого дослідження було також вивчення стійкості порушень, що виникають під впливом досліджуваної сполуки, тобто оцінити та встановити можливість оборотності і/або незворотності потенційно можливих ефектів, котрі проявились після періоду експозиції. Для цього частина самців була залишена на відновний період, без впливу ЛЦТ6, тривалістю 70 днів (повний цикл сперматогенезу) після закінчення якого вивчалися ті ж параметри (показники морфо-функціонального стану гонад та загальний вміст тестостерону в сироватці крові), що і після закінчення експозиції ЛЦТ6.

3.6.3. Дослідження параметрів гонадо- та репродуктивної токсичності самців після закінчення відновлювального періоду. Стан параметрів дослідження після закінчення періоду відновлення наведено в табл. 3.8 і на рис. 3.37, 3.38. У тварин, які отримували ЛЦТ6 в дозі 3,0 мг/кг маси тіла, показники не зазнають значимих змін. Деяко знижується відсоток патологічних форм сперматозоїдів, незначно збільшується абсолютне число рухливих

сперматозоїдів, хоча відносна їх кількість як і раніше залишається зниженою на 13,0 %. Практично на тому ж рівні, по відношенню до контролю, залишається вміст загального тестостерону в сироватці крові (знижується на 66,4 %).

Таблиця 3.8

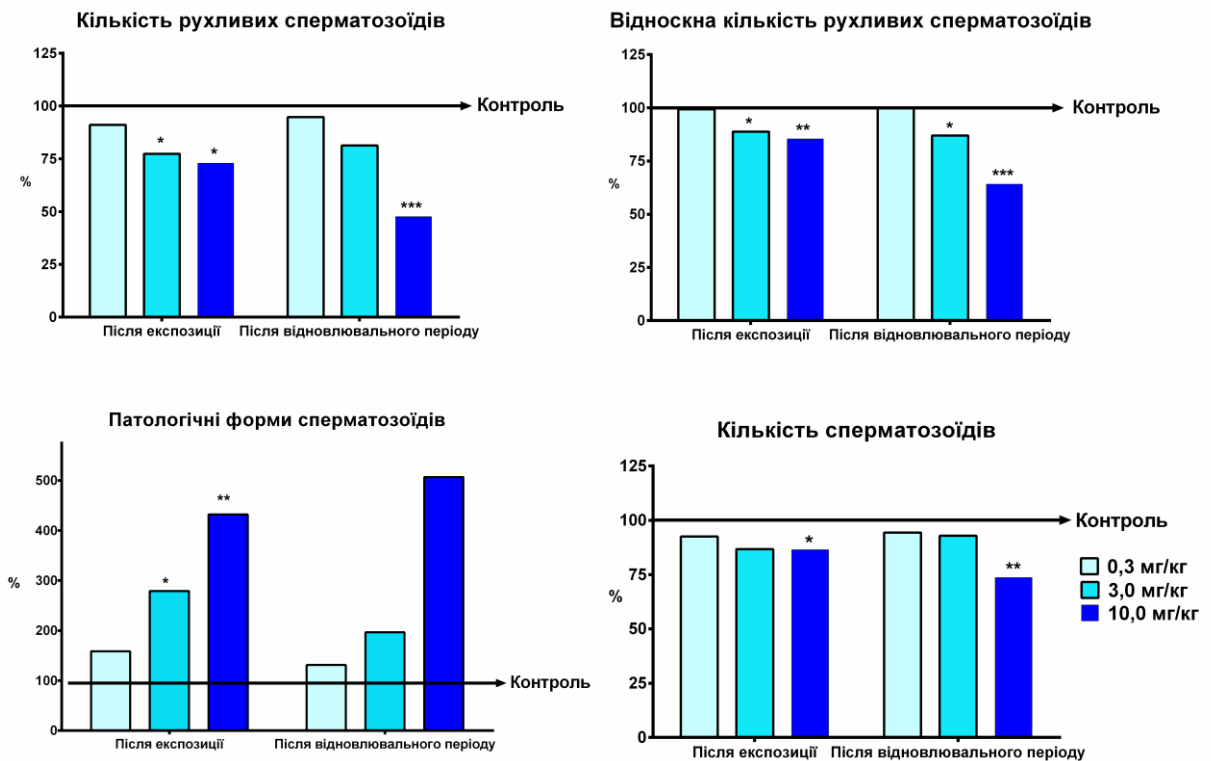
Морфо-функціональний стан статевих залоз і концентрація загального тестостерону в сироватці крові у самців щурів після періоду відновлення лямбда-цигалотрину № 6

Показники	Доза, мг/кг			
	0,0	0,3	3,0	10,0
Тестостерон, нг/мл	2,29±0,59	2,70±1,66	0,77±0,25*	3,03±0,60
Кі-сть рухливих сперматозоїдів, млн	53,40±3,67	50,60±5,41	43,40±4,47	25,40±3,19***
Загальна кі-сть сперматозоїдів, млн	127,00±5,66	119,80±9,31	118,00±8,13	93,60±4,98**
% рухливих сперматозоїдів	41,85±1,13	41,88±1,31	36,40±1,53*	26,84±1,95***
% патологічних форм	0,29±0,18	0,38±0,23	0,57±0,23	1,47±0,54
Маса сім'яників, г	3,73±0,13	3,59±0,11	3,82±0,25	3,72±0,18
Маса придатків, г	1,25±0,09	1,24±0,08	1,27±0,07	1,26±0,07
Коефіцієнт відносної маси сім'яників	8,75±0,26	8,77±0,28	9,04±0,45	9,26±0,17
Коефіцієнт відносної маси придатків	2,93±0,17	3,00±0,10	3,02±0,18	3,13±0,10
Маса самців	426,00±9,96	412,00±22,46	422,40±18,67	401,60±17,10

Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ у порівнянні з даними контрольної групи.

Дещо інша картина спостерігається у самців, які піддавалися впливу максимальної дози (10 мг/кг). Параметри сперми погіршуються, знижується і абсолютна (на 52,4 %), і відносна кількість рухливих сперматозоїдів (на

35,9 %), зменшується їх загальна кількість на 26,3 % (рис. 3.38). Водночас рівень вмісту тестостерону зростає в порівнянні з контролем і з величиною цього показника після закінчення періоду впливу (рис. 3.39).



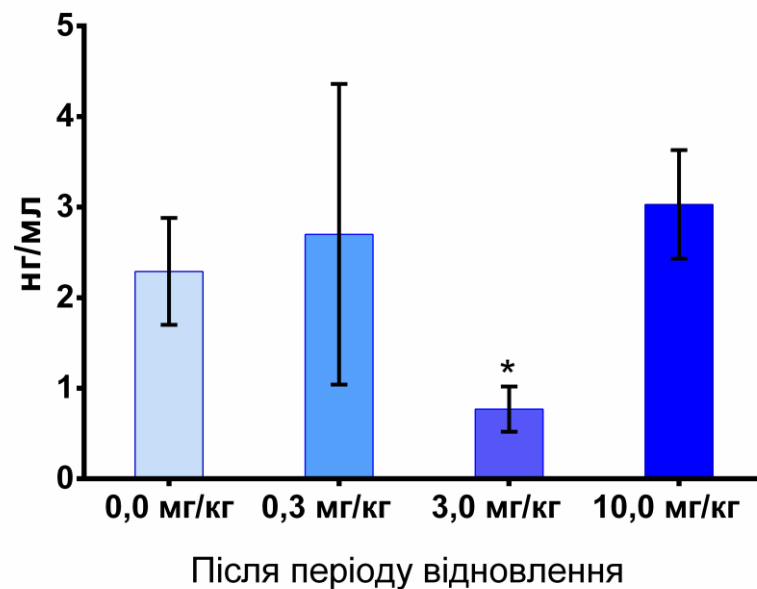
Примітка. * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$, *** – $p \leq 0,001$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.38. Морфо-функціональні показники сперми в самців після експозиції лямбда-цигалотрином № 6 і відновлювального періоду (дані відносно контролю, %).

Водночас впродовж відновного періоду у самців відновлюється маса тіла, яка знизилася після 11 тижнів впливу. Це свідчить про те, що системний токсичний ефект у тварин цієї групи за 10-тижневий період відновлення подоланий і його можна визнати оборотним (рис. 3.40).

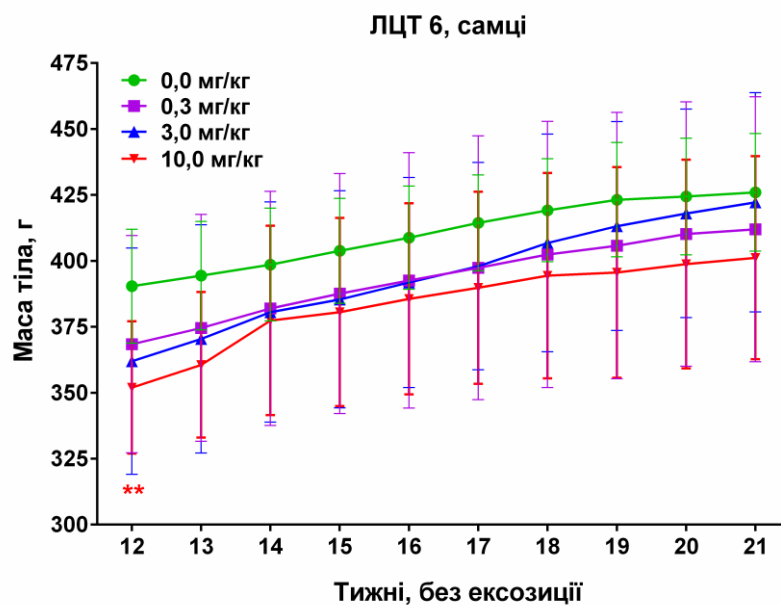
На підставі аналізу та узагальнення отриманих нами результатів можна зробити висновок, що вивчений ЛЦТ6 викликає антиандрогенний ефект за дії доз 3,0 та 10,0 мг/кг маси тіла, що характеризується порушенням процесів сперматогенезу і олігоспермією, а також зміною вмісту тестостерону в

сироватці крові піддослідних тварин у порівнянні з контролем. Залежність ступеня вираження олігоспермії від дози носить лінійний характер, у той час як відповідна реакція рівня вмісту тестостерону на збільшення дози є немонотонною.



Примітка. * – $p \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.39. Рівень вмісту тестостерону в сироватці крові самців щурів після відновлювального періоду ЛЦТ 6.



Примітка. ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3.40. Динаміка маси тіла самців щурів під час відновного періоду після експозиції лямбда-цигалотрином № 6.

Параметри, що характеризують процеси сперматогенезу, а також вміст тестостерону не досягли контрольного рівня за відновлювальний період, що свідчить про незворотність антиандрогенного ефекту впродовж 10 тижнів, а, можливо, і про повну незворотність виявлених порушень. Системний токсичний ефект, індукований максимальною досліджуваною дозою, можна визнати оборотним [183-186].

Висновки до розділу 3

На підставі аналізу та узагальнення отриманих нами результатів можна зробити наступні висновки:

Лямбда-цигалотрин, при внутрішньошлунковому введенні, викликає значну системну токсичність у самців щурів, а саме за дії досліджуваної дози 10,0 мг/кг маси тіла тестової субстанції ЛЦТ6, який характеризується зниженням середньої маси тіла тварин, починаючи з четвертого тижня експозиції до закінчення періоду дії на 8,3 %; 8,8 %; 7,9 %; 8,0 %; 11,3 %; 11,6 %; 11,4 % та 10,7 % відповідно. Також, вплив дози 3,0 мг/кг індукує достовірне зниження маси тіла піддослідних самців за дії ЛЦТ1 (з 10 по 11 тиждень на 4,2 % та 5,1 % відповідно), ЛЦТ4 (на третьому тижні – 3,5 %), ЛЦТ5 (з першого по 11 тиждень на 4,8 %; 5,0 %; 6,9 %; 6,7 %; 6,9 %; 7,1 %; 7,9 %; 9,2 %; 9,2 %; 8,4 % та 8,4 % відповідно) та ЛЦТ6 (на четвертий, п'ятий та з восьмого по 11 тиждень на 6,0 %; 6,6 %; 5,6 %; 6,5 %; 6,1 % та 5,5 % відповідно). Що стосується мінімальної дози (0,3 мг/кг), то лише під час впливу тестової сполуки ЛЦТ5 було виявлено незначне зниження маси тіла самців з восьмого по дев'ятий тиждень періоду експозиції на 4,2 % і 3,9 % відповідно. Вивчаючи вплив тестових субстанцій лямбда-цигалотрину на самиць щурів, зафіксовано зниження маси тіла тварин тільки за дії дози 3,0 мг/кг ЛЦТ3 (з третього по п'ятий тиждень експерименту на 3,3 %, 4,6 % та 4,0 % відповідно) та ЛЦТ4 (на 10 тижні – 4,4 %), а також на 20-й день вагітності самиць після впливу ЛЦТ3 цієї ж дози на 5,3 % по відношенню до контролю. Тестова сполука ЛЦТ2 не проявила системної токсичності на самців та самиць у жодній досліджуваній дозі. Отже, більш чутливими до

системної токсичної дії тестових субстанцій лямбда-цигалотрину виявилися самці щурі, що і підтверджується отриманими нами даними.

Досліджуванні зразки тестової субстанції (ЛЦТ1, ЛЦТ2, ЛЦТ3, ЛЦТ4 та ЛЦТ5) у піддослідних групах самців при дії дози 3,0 мг/кг проявляють антиандрогенний ефект, який характеризується порушенням процесів сперматогенезу та виражається у вірогідних змінах морфо-функціональних показників стану статевих залоз, таких як: зниження загальної кількості сперматозоїдів (ЛЦТ2 – 12 %, ЛЦТ3 – 17 % та ЛЦТ4 – 12 %), зниження кількості рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1 – 24 %, ЛЦТ2 – 18 %, ЛЦТ3 – 37 %, ЛЦТ4 – 22 % та ЛЦТ5 – 16,94 %), зниження відсотка рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1 – 16 %, ЛЦТ3 – 24 % та ЛЦТ5 – 12 %), зниження абсолютної маси сім'яників за дії ЛЦТ1 на 4,7 %, а також зниження фертильності на 25 % і запліднюючої здатності на 21 % після впливу ЛЦТ2.

В експерименті на самцях по дослідженню впливу ЛЦТ6 виявлено, що після 11-ти тижневого періоду експозиції, також проявляється антиандрогенний ефект. При дії максимальної дози (10 мг/кг маси тіла) достовірно зменшується показник загальної кількості сперматозоїдів на 13,6 %, число і відсоток рухливих сперматозоїдів знижується у самців, які отримували середню дозу 3,0 мг/кг маси тіла на 22,7 % та 11,2 % і максимальну дозу препарату на 27,1 % та 14,6 % відповідно. Також зростає відсоток патологічних форм статевих клітин за дії дози 3,0 мг/кг та 10 мг/кг маси тіла. Що стосується вмісту тестостерону, то, рівень цього гормону в сироватці крові достовірно знижується при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла на 72,0 %. Після періоду відновлення, у тварин, які отримували ЛЦТ6 в дозі 3,0 мг/кг, досліджувані параметри залишаються особливо не змінними. Знижується відсоток патологічних форм сперматозоїдів, збільшується абсолютне число рухливих сперматозоїдів, відносна їх кількість, як і раніше залишається зниженою на 13,0 %. Практично на тому ж рівні по відношенню до контролю залишається вміст загального тестостерону в сироватці крові на 66,4 %. У самців, які піддавалися впливу максимальної дози 10,0 мг/кг маси

тіла параметри сперми погіршуються, знижується і абсолютна на 52,4 %, і відносна кількість рухливих сперматозоїдів на 35,9 %, падає їх загальна кількість на 26,3 %. Рівень вмісту тестостерону зростає в порівнянні з контролем, але не вірогідно. При цьому впродовж відновного періоду у самців відновлюється маса тіла, яка знизилася після 10 тижнів впливу. Це свідчить про те, що прояви системної токсичності у тварин цієї групи за 10-тижневий період відновлення подоланий і його можна визнати оборотним.

Відсутність змін таких показників, як загальний розмір приплоду, кількість живих і мертвих плодів, маса плодів, індекси спарювання, зачаття, фертильності, вагітності у інтактних самиць, спарених з піддослідними самцями (ЛЦТ1, ЛЦТ3, ЛЦТ4 та ЛЦТ5) корелює з результатами, отриманими при дослідженні цигалотрина в тест-системі на 3-х поколіннях тварин, на підставі яких було зроблено висновок про відсутність репродуктивної токсичності цигалотрину в максимальній дозі 100 ppm [144]. Разом з тим, це є свідченням недостатньої діагностичної чутливості та інформативності тесту на 3-х поколіннях при вивченні репродуктивної токсичності хімічних речовин. Результати багатьох досліджень останніх років свідчать про високу небезпеку репродуктивної токсичності синтетичних піретроїдів, здатних порушувати процеси сперматогенезу і ендокринну функцію сім'яників [82, 122 – 132, 187, 188], що досить красномовно продемонстрували отримані нами дані.

В діапазоні вивчених доз встановлено, що дозовий рівень для всіх досліджуваних зразків ЛЦТ, котрий не має пошкоджуваної дії на гонади та репродуктивну функцію самців щурів Wistar Han (NOEL), є доза 0,3 мг/кг маси тіла.

Лямбда-цигалотрин чинить значний шкідливий вплив на репродуктивну функції самиць щурів при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла. При вивченні естрального циклу у самиць, зафіксовано статистично достовірне збільшення тривалості стадії дієструс за дії ЛЦТ2 на 28,2 %, ЛЦТ3 на 33,5 %, ЛЦТ4 на 52,9 % та ЛЦТ 6 – 13,0 %, також встановлено зниження стадії

проеструс за дії ЛЦТ6 на 15,3 %, а при дії ЛЦТ2 на 36,5 % та збільшення стадії еструс на 11,3 %. Після впливу ЛЦТ6, проявилось достовірне збільшення кількості та відсотка після-імплантаційної загибелі зародків (плодів) на 144,0 % та 158,5 % відповідно, а за дії ЛЦТ3 – відсотка загиблих до імплантації зародків на 49,3 %. Знижується загальна маса приплоду на 16,4 % після впливу ЛЦТ3 та середня маса плодів у групі самиць ЛЦТ5 на 16,7 %, по відношенню до контрольної групи. Також встановлено зниження індексів зачаття та фертильності на 15-20 % в групі самиць в дослідженнях тестових субстанцій ЛЦТ3 та ЛЦТ5.

В діапазоні вивчених доз спостерігається лінійна залежність «доза-ефект». Максимальним дозованим рівнем ЛЦТ, досліджуваних сполук ЛЦТ2 – ЛЦТ6, котрий не надає пошкоджуваної дії на гонади та репродуктивну функцію самиць щурів Wistar Han (NOEL), є доза 0,3 мг/кг маси тіла. ЛЦТ1 не володіє репродуктивною токсичністю при дії на самиць в обох досліджуваних дозах.

Основні результати даного розділу висвітлено в наступних публікаціях:

1. Проданчук ГМ, Костик ЮМ, Колянчук ЯВ, Ковтун ІО. Організація проведення експериментальних токсикологічних досліджень згідно вимог GLP. Сучас. проблеми токсикології. 2011;(5):112.
2. 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.
3. Rashkivska I, Kolyanchuk Y. P-5. Wistar Hannover rat reproductive parameters. Arh Hig Rada Toksikol. 2016;67(Suppl 1):36.
4. 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.

5. 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.
6. 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.
7. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.

12. 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.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У наш час попит на нові та високоефективні пестициди зростає з кожним днем через стійкість шкідників та збільшення виробництва продуктів для задоволення потреб населення. З одного боку пестициди допомагають людині, контролюючи інфекційні захворювання та збільшуючи врожайність сільськогосподарських рослин. Але з іншого боку, їх широке і тривале використання може завдавати шкоди здоров'ю, включаючи репродуктивне. Пестициди можуть порушити фізіологічні процеси репродуктивної, ендокринної, ниркової, серцево-судинної, дихальної, нервової, імунної та інших систем.

Складний і вразливий процес розмноження ссавців, навіть у відсутності екзогенних факторів, часто порушується. Причини безпліддя та аномалій розвитку плоду ще недостатньо вивчені, залишається не зрозумілим загибель ембріонів після запліднення, оскільки це відбувається на дуже ранніх стадіях внутрішньоутробного розвитку. На тлі високого рівня несприятливих наслідків вагітності у людини, часто надзвичайно важко виявити токсичну дію речовини на певному етапі репродуктивного циклу.

Більшість пестицидів негативно впливають на розвиваючі, біохімічні та поведінкові функції, котрі дуже важливі для репродуктивного здоров'я [189]. Втручаючись у фізіологію ендокринної системи, пестициди та їх метаболіти можуть діяти в якості гормональних агоністів/антагоністів або змінювати ендогенний стероїдний гормональний рівень та викликати репродуктивну токсичність [190].

Ендокринні-деструктори (ЕД), можуть порушувати функцію будь-якого органу ендокринної системи шляхом пригнічення гормональної регуляції. Найбільш вивченими гормонами ендокринної системи, на регуляцію яких впливає ендокринний-деструктор (імітуючи або блокуючи природний гормон), є: естроген (естрадіол та естрон), андрогени (тестостерон та дигідротестостерон) та тиреоїдні гормони (тироксин та трийодтиронін)

[11].

Відомо, що значна частина шкоди, заподіяної ЕД, виявляється під час гаметогенезу та раннього розвитку плоду, хоча наслідки можуть бути не очевидні до настання статевої зрілості, що ускладнює доведення зв'язків між ЕД та хворобою людини. Ембріони і немовлята також отримують великі дози ЕД через мобілізацію резервів материнського жиру під час гестації та лактації, а також через більше споживання їжі по відношенню до маси тіла. Дослідження показали несприятливі наслідки порушення ендокринної системи після впливу пестицидів, такі як гіпоспадія, крипторхізм та інші вроджені дефекти плоду. Тривалий вплив пестицидів може спричинити зниження народжуваності для обох статей, високу частоту викидня, змінення статевої поведінки, а також антиандрогенні ефекти [191,192].

Результати епідеміологічних досліджень свідчать про те, що приблизно 50 % випадків безпліддя обумовлені факторами, пов'язаними зі станом здоров'я чоловіків [193]. Порушення репродуктивної системи у жінок, при дії пестицидів, проявляються зниженням народжуваності, мертвонародженням, передчасними пологами, низькою вагою при народженні, вадами розвитку плоду, порушенням функції яєчників та гормонального дисбалансу. Все більше публікуються дані про підвищений ризик безпліддя у людей, які піддаються дії пестицидів у побуті або працюють на виробництві та сільському господарстві [1,17,20,40,81].

Використання фармацевтичних препаратів та інших ксенобіотиків зумовлюють необхідність в експериментальних дослідженнях на тваринах і епідеміологічних дослідженнях для оцінки ризиків, котрі можуть бути пов'язані з впливом хімічних речовин. Кожні отримані дані мають свої переваги та недоліки, котрі часто є проігноровані або не помічені. Зокрема, якість епідеміологічних даних про несприятливий вплив на репродуктивну функцію часто з очевидних причин залишає бажати кращого, оскільки потенційно токсичні речовини не досліджуються на людях.

Якщо наявні експериментальні дані по дослідженню на тваринах, то їх

результати можна екстраполювати на людину, і така інформація полегшує проведення епідеміологічних досліджень.

Оскільки дані отримані в експериментах на тваринах також мають обмеження, оцінити ризики для людини з бажаною точністю може бути проблематично. Існує дуже багато способів, якими ксенобіотики можуть порушувати/погіршувати фертильність самців та самиць. Наприклад, хімічна сполука може виявляти прямий вплив на зародковий епітелій або може діяти опосередковано, через гормональну регуляцію між гіпоталамусом, гіпофізом і статевими залозами тощо.

Щодо різних кінцевих точок, котрі необхідно враховувати, очевидно, що не може бути універсального тесту на «репродуктивну токсичність» – зокрема, не може бути тесту *in vitro*, який би використовувався як «альтернативний метод» для виявлення потенціалу токсичного впливу речовини на розмноження. Хімічні речовини можуть вплинути на організм тварин на різних етапах репродуктивного циклу та порушити його функцію, а саме:

1. Період до спарювання (гаметогенез): порушення функції гонад, розвитку та дозрівання гамет, що в свою чергу впливає на внутрішньоутробний розвиток потомства і трансгенераційне успадкування.
2. Період з моменту зачаття до імплантації: порушення репродуктивної функції дорослих самиць, до-імплантаційного розвитку та імплантації.
3. Органогенез – найбільш небезпечний період впливу токсичних речовин на плід: порушення ембріонального розвитку плоду та формування, росту та розвитку органів.
4. Лактаційний період: вплив на адаптацію новонароджених до позаматкового життя, розвиток та ріст.
5. Постлактаційний період до статевої зрілості: вплив на розвиток та ріст, адаптацію до самотійного життя та на досягнення статевого дозрівання.

Існує декілька методів по вивченню репродуктивної токсичності відповідно до OECD протоколів по тестуванню хімічних речовин: скринінг-тест репродуктивної токсичності та розвитку (OECD 421); комбіноване дослідження токсичності повторних доз на репродукцію і розвиток, скринінг-тест (OECD 422); дослідження репродуктивної токсичності на двох поколіннях тварин (OECD 416); пренатальна токсичність, тератогенність (OECD 414); розширене дослідження репродуктивної токсичності одного покоління тварин (OECD 443). Для оцінки ризику репродуктивної токсичності за кордоном використовується методичні вказівки OECD 416. Також використовується тест по вивченню гонадотоксичної активності (вплив під час періоду гаметогенезу) котрий показує як дія хімічних речовин впливає на фертильність, цикл сперматогенезу, статевий (естральний) цикл у самиць, статеву чутливість (так, як піддослідні тварини спаровуються з інтактними тваринами), репродуктивну та ендокринну функцію [41].

У випадку вивчення репродуктивної токсичності фармацевтичних препаратів, котре проводиться з використанням трьох стадійного дослідження репродуктивної функції (“Three period reproduction study” ICH S5 (R3)), результати в подальшому дадуть можливість запобігти розвитку безпліддя у пацієнтів, а також негативного впливу на плід, з подальшим впливом на новонароджену дитину в разі застосування лікарського засобу під час вагітності [194,195]. Якщо репродуктивна токсичність речовини перевищує допустимі норми, такий препарат буде відправлений на удосконалення або ж знятий з виробництва на етапі доклінічного дослідження. Також можливий пошук такої дози, при якій зберігається необхідний терапевтичний ефект, а репродуктивна токсичність залишається на прийнятному рівні. Щодо досліджень шкідливого впливу хімічних речовин, у тому числі і пестицидів, то дані по їх вивченню можуть бути використані для передбачення можливих проявів захворювань у людини та встановлення безпечних рівнів впливу на здоров'я.

На сьогодні в Україні застосовується велика кількість пестицидів. Широко використовується група інсектицидних препаратів – синтетичні піретроїди (СП). Основний механізм дії СП – вплив на нервову систему за рахунок порушення функції натрієво-калієвих каналів [93-100]. Окрім дії на нервову систему, ці сполуки спричиняють дисфункцію ендокринної та репродуктивної систем [13-15,80,81,85,86,88,92].

Одним із представників СП є ЛЦТ, котрий був отриманий шляхом кристалізації більш активної пари енантіомерів з цигалотрину. Даний інсектицид використовується, як в сільському господарстві для боротьби зі шкідниками так і в побуті, чим збільшує можливість токсичного впливу на людину. Дослідження репродуктивної токсичності оригінальної молекули ЛЦТ не проводились, оцінка ризику здійснювалась на основі екстраполяції даних, отриманих з експерименту на цигалотрині [16]. Проте, ці речовини різняться за своєю хімічною будовою, зокрема, вмістом енантіомерів і ізомерів, що, як відомо, значимо впливає на токсичний ефект і в тому числі репродуктивну токсичність.

Отже, метою наших досліджень було ідентифікувати небезпечність впливу ЛЦТ на репродуктивну функцію самців та самиць щурів за дії тестової сполуки в період гаметогенезу. Дослідити параметри та наслідки дії інсектициду на гонади, вивчити вплив на ендокринну систему за показниками сперматогенезу та рівня гормону тестостерону у самців та за естральним циклом у самиць. Також оцінити оборотність або необоротність виявлених змін за показникам отриманих від самців щурів, встановити статеву чутливість під дією ЛЦТ на стан репродуктивної функції щурів. Визначити індекси спарювання, зачаття, фертильності та вагітності. Всі ці параметри дозволять виявити вплив ЛЦТ на функцію репродуктивної та ендокринної систем, а також, виявити як вплине на спарювання, імплантацію, вагітність та розвиток плоду токсична дія тестової сполуки на гермінативну популяцію клітин у період гаметогенезу.

Дослідження гонадо- та репродуктивної токсичності проведено для шістьох зразків генеричного синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину (ЛЦТ1 – 97,00 %, ЛЦТ2 – 96,00 %, ЛЦТ3 – 97,10 %, ЛЦТ4 – 96,70 %, ЛЦТ5 – 95,60 %, ЛЦТ6 – 98,06 %) на самцях і самицях щурів у дозах 0,0; 0,3; 3,0 мг/кг маси тіла. Додатково в дослідженні ЛЦТ6 на самцях вивчався вплив дози 10 мг/кг маси тіла.

Під час періоду експозиції самців та самиць виявлено статеву чутливість до впливу тестових субстанцій ЛЦТ на загальний фізичний стан тварин. У дозі 3,0 мг/кг відмічалось достовірне зниження маси тіла самців щурів за дії ЛЦТ1 на 10-му тижні на 4,2 % та 11-му на 5,1 %, ЛЦТ4 на третьому тижні – 3,5 %, ЛЦТ5 з першого по 11 тиждень на 4,8 % – 9,2 % і ЛЦТ6 на четвертому, п'ятому та з 8 – 11 тиждень на 5,5 % – 6,6 %, а також за дії дози 10 мг/кг ЛЦТ6 з четвертого тижня експозиції до закінчення періоду експозиції на 8,0 % – 11,6 %. У самиць, в свою чергу, зафіксовано зниження маси тіла тільки при дії ЛЦТ3 з третього по п'ятий тиждень експерименту на 3,3 %, 4,6 % та 4,0 %, відповідно та ЛЦТ4 на 10 тижні – 4,4 % за дії дози 3,0 мг/кг ($p \leq 0,05$ - $p \leq 0,01$). Отже, більш виражений системний токсичний ефект встановлений у самців щурів ніж у самиць, що відображено в узагальнених табл. 1 та 2.

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 та підтримки фертильності. Цей баланс може бути порушений зміною рівня естрогену або прогестерону, що може вплинути на тривалість естрального циклу та овуляцію (затримка овуляції або ановуляція). Відомо, що пестициди ендокринні-деструктори, спричиняють значний шкідливий вплив на естральний цикл у щурів, що може бути пов'язано з прямою дією на яєчники або на вісь гіпоталамус-гіпофіз-яєчник [172,173,175,176].

Таблиця 1

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 сперматозоїдів	↓		↓			↓	↓	↓	↓	↓
% патологічних форм							↑	↑		
Маса сім'яників, г	↓									
Індекси запліднення		↓						—	—	—
Індекси фертильності		↓						—	—	—
Тестостерон, нг/мл	—	—	—	—	—	—	↓		↓	

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

Вірогідні зміни показників репродуктивної токсичності лямбда-цигалотрину в самиць

Показники		Дози, мг/кг				
		ЛЦТ 2	ЛЦТ 3	ЛЦТ 4	ЛЦТ 5	ЛЦТ 6
		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 показника, ↑ – збільшення значення показника, – не відмічалось достовірних змін показника.

Зважаючи на те, що естральний цикл є інформативним цитогормональним показником функції ендокринної системи, нами було вивчено його тривалість упродовж двох останніх тижнів експозиції. У самиць, при дії дози 3,0 мг/кг зафіксовано статистично достовірне збільшення тривалості прогестеронзалежної стадії діеструс: за дії ЛЦТ2 на 28,2 % ($p \leq 0,0001$), ЛЦТ3 на 33,5 % ($p \leq 0,05$), ЛЦТ4 на 52,9 % ($p \leq 0,01$) та

ЛЦТ6 – 13,0 % ($p \leq 0,05$). Також встановлено скорочення естроген-залежної стадії проеструс за дії ЛЦТ6 на 15,3 % ($p \leq 0,05$), а при дії ЛЦТ2 – на 36,5 % ($p \leq 0,0001$), що призводить до збільшення стадії еструс на 11,3 % ($p \leq 0,05$) по відношенню до контрольної групи.

Отриманні результати порушення естрального циклу можуть свідчити про те, що лямбда-цигалотрин володіє ендокрин-деструктивними властивостями, оскільки є ксеноагоністом естрогенових рецепторів при впливі на самиць щурів, зв'язується і активує рецептор естрогену, імітуючи гормон 17β -естрадіол. Як наслідок, зменшується вироблення гонадотропного рилізінг-гормону (ГрРГ) гіпоталамусом (система негативного зворотного зв'язку), а також ЛГ та ФСГ гіпофізом. У результаті, рівень ЛГ і ФСГ знизиться, що призведе до нестачі естрадіолу. В нормі, гіпоталамус буде ініціювати вироблення більшої кількості ГрРГ, однак ендокринний-деструктор перешкоджатиме цьому, а отже, спровокує порушення гормонального циклу [176]. 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 ЛГ і ФСГ, та як результат, запобігає запуску нового циклу. Тривалий вплив естрогеновою сполукою вплинуло на скорочення естроген-залежної стадії проеструс, тому що дозрівання фолікул відбувається швидше через велику концентрацію естрадіолу, що, в свою чергу, збільшує також тривалість фази еструсу.

Загалом, негативний вплив пестицидів на цикл яєчників може призводити до порушення фертильності та інших репродуктивних токсичних ефектів. Отже, на сьогодні дуже важливою й актуальною проблемою є з'ясування можливих механізмів, що залучаються до патофізіологічних наслідків дій хімічних речовин.

Оцінюючи репродуктивну функцію самиць щурів, встановлено значний токсичний вплив ЛЦТ при дії дози 3,0 мг/кг маси тіла. Після впливу ЛЦТ6 виявилось достовірне збільшення кількості та відсотка після-імплантаційної

загибелі зародків (плодів) на 144 % та 159 % ($p \leq 0,05$) відповідно, а за дії ЛЦТЗ – відсотка загиблих до імплантації зародків на 49,3 % ($p \leq 0,05$), тобто, у самиць порушується здатність до зачаття, що супроводжується зниженням загальної маси приплоду на 16,4 % ($p \leq 0,05$). У групі самиць ЛЦТ5 виявлено зниження середньої маси плодів на 16,7 % ($p \leq 0,05$) по відношенню до контрольної групи. Також, встановлено зниження індексів зачаття та фертильності у групі самиць у дослідженнях тестових субстанцій ЛЦТЗ на 20 % та ЛЦТ5 на 15 %.

Отже, репродуктивна токсичність ЛЦТ, що характеризується порушенням фертильності і функції відтворення потомства, виявлена за дії тестових субстанцій ЛЦТЗ, ЛЦТ5 і ЛЦТ6 та підтверджує можливий патологічний механізм дії на ендокринну систему самиць, як естрогеноподібної сполуки. Оцінюючи результати було встановлено, що ЛЦТЗ та ЛЦТ5 володіють більш пошкоджуючою дією. Тобто, проаналізувавши взаємозв'язок усіх параметрів, що характеризують репродуктивну функцію самиць, виявилось, що тривалість прекоітального інтервалу у піддослідних самиць становила від нуля до одного дня (самиці спарилися в перший же день періоду спарювання). Незважаючи на те, що цей показник має позитивний характер, але в даному випадку це свідчить про значнішу ендокрин-деструктивну дію ЛЦТЗ та ЛЦТ5. Тому що, за умов дії ксеноестрогена, підвищений рівень естрогену у самиць, з одного боку, сприяв більш успішному процесу спарювання, а з іншого, став на заваді процесу овуляції та зачаття, порушивши баланс статевих гормонів і загальмувавши своєчасну гормональну відповідь. Механізм дії ксеноестрогенів у даному випадку виявився, як гормональний контрацептив, пригнічуючи секрецію гіпофізом гонадотропних гормонів, стримуючи фолікулогенез і запобігаючи овуляції. Навіть при можливій овуляції, через присутність ксеноестрогену, а отже високим вмістом естрогену та низьким рівнем прогестерону, унеможливить імплантацію яйцеклітини.

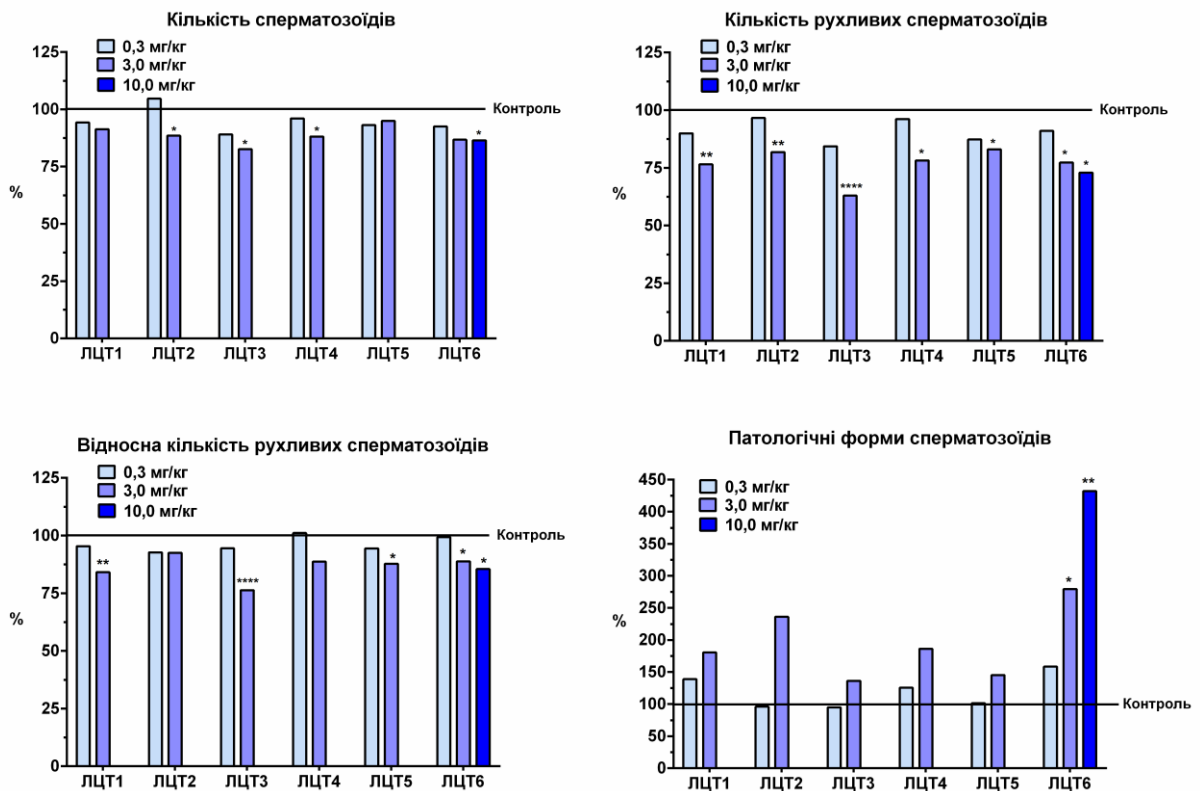
Фертильність самців залежить від безперервної щоденної продукції

мільйонів сперматозоїдів. Процес сперматогенезу є надзвичайно складним, і включає скоординовану серію мітотичних та мейотичних поділів, удосконалені цитодиференційовані етапи та постійно змінні міжклітинні взаємодії, що контролюються взаємодією автокринної, паракринної та ендокринної систем [164]. У проведених дослідженнях на самцях щурів, тестові субстанції ЛЦТ1, ЛЦТ2, ЛЦТ3, ЛЦТ4 та ЛЦТ5 в дозі 3,0 мг/кг, проявили антиандрогенний ефект, який характеризувався порушенням процесів сперматогенезу та виражався у вірогідних зниженнях морфофункціональних показників стану статевих залоз: загальної кількості сперматозоїдів (ЛЦТ2 – 12 %, ЛЦТ3 – 17 % та 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 % ($p \leq 0,05$) та ЛЦТ5 – 17 % ($p \leq 0,05$)), відсотка рухливих сперматозоїдів (ЛЦТ1 – 16 % ($p \leq 0,01$), ЛЦТ3 – 24 % ($p \leq 0,0001$) та ЛЦТ5 – 12 % ($p \leq 0,05$)), абсолютної маси сім'яників за дії ЛЦТ1 на 4,9 % ($p \leq 0,05$), фертильності на 25 % і запліднюючої здатності на 21 % після впливу ЛЦТ2.

Досліджувана сполука лямбда-цигалотрину № 6 демонструє також антиандрогенну активність, яка характеризується порушенням процесів сперматогенезу, а також зміною рівнів вмісту тестостерону (рис. 1, 2).

Виявлені нами ефекти можна пояснити естрогеноподібними властивостями ЛЦТ, механізм дії якого подібний до ендогенного гормону 17-бета-естрадіолу [196]. Відомо, що естрогени і, головним чином, естрадіол, який утворюється в процесі конверсії (ароматизації) тестостерону, відіграють важливу роль у забезпеченні нормального функціонування чоловічої статевої системи [197-201]. Однак, регуляція естрадіолом численних аспектів сперматогенезу, функціонування клітин Лейдіга і Сертолі, а також вплив цього гормону на концентрацію сперми, морфологію і рухливість сперматозоїдів і багато інших функцій чоловічого статевого тракту можливі виключно в умовах дотримання суворого фізіологічного балансу вмісту естрогенів в організмі [202-208]. Вплив різних ендокринних деструкторів-

ксеноестрогенів (КЕ), до яких відноситься лямбда-цигалотрин, запускає механізм антиандрогенної дії, піддаючи деструкції всі перераховані вище регуляційні процеси.



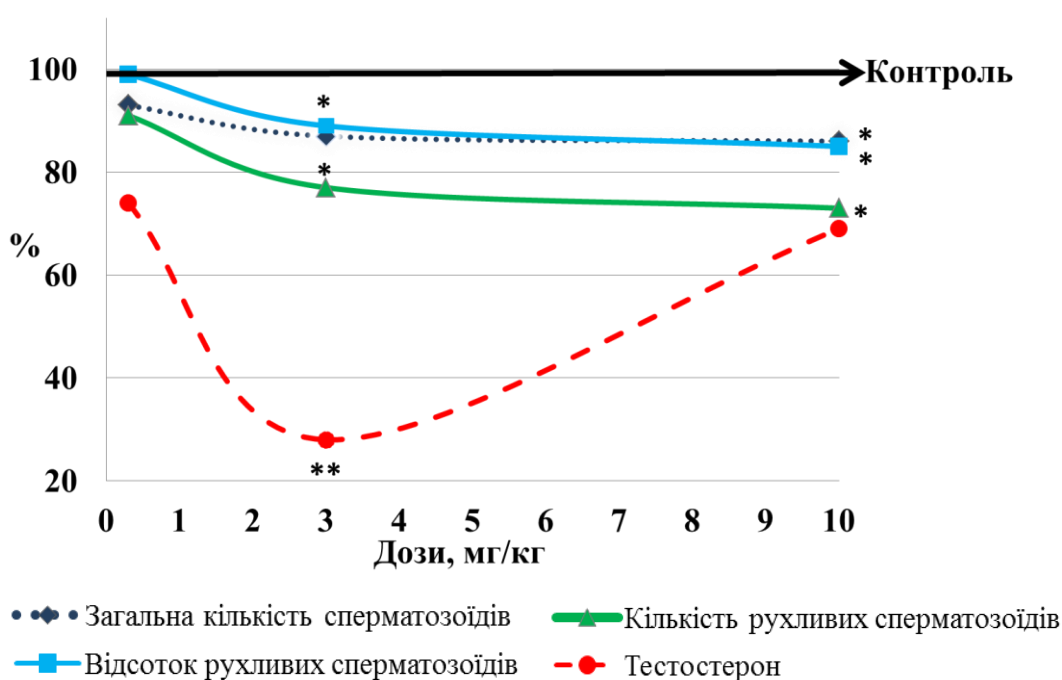
Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$; **** – $p \leq 0,0001$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 1. Функціональні показники сперми в самців відносно контролю, %.

При дії КЕ виникають складні взаємодії з естрогенними рецепторами (ER) і ендогенним естрадіолом, що перешкоджають фізіологічній дії природних естрогенів [209]. КЕ можуть зв'язуватися з ER в ядрі клітини (геномний шлях впливу), де комплекс розпізнає елементи відповіді на ДНК і змінює експресію генів [210]. При негеномному шляху КЕ можуть зв'язуватися з мембранними ER (α , β) і швидко ініціювати сигнальні каскади, що завершуються активацією кінази і фосфатази, в кінцевому рахунку впливаючи на клітинну функцію посттрансляційної модифікації різних білків [211-216].

Вважають, що в силу особливостей молекулярної будови мембранних ER, здатних приймати безліч різноманітних лігандів, вони стають більш вразливими для зв'язування з ендокрин-деструкторами (ЕД) в порівнянні з ядерними рецепторами [217].

Досить цікавими, на наш погляд, виявилися результати аналізу залежності «доза-відповідь» у характеристиці відповідних реакцій організму на досліджувану сполуку. У процесі аналізу та узагальнення отриманих результатів встановлено, що патологічні зміни сперматогенезу описуються монотонними нелінійними дозовими відповідями (рис. 2).

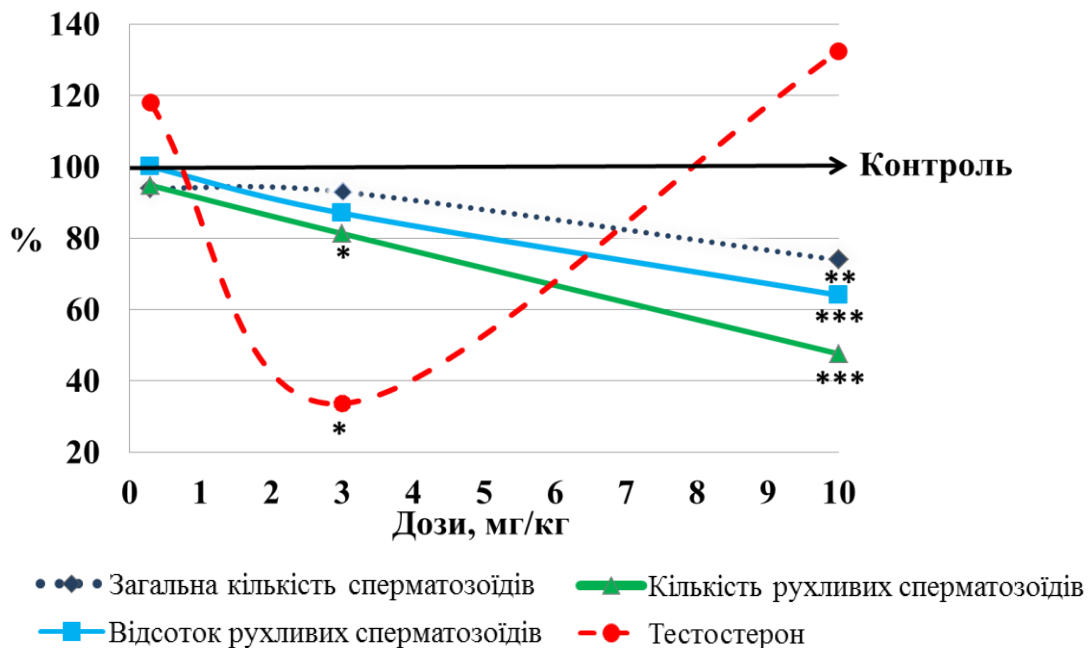


Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 2. Рівень вмісту тестостерону в сироватці крові та параметри сперми самців щурів після періоду експозиції лямбда-цигалотрином № 6.

Водночас, аналізуючи результати дослідження рівнів тестостерону, виявлено, що характер відповіді цього параметра на вплив не вкладається в класичну модель токсикологічної дозової залежності. Як видно з графіків (рис. 2 та 3), ця залежність носить немонотонний характер, що описує 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 десятиліть, ця проблематика залишається предметом широких наукових дискусій і ще далека від свого рішення.



Примітка. * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$ у порівнянні з контрольною групою.

Рис. 3. Рівень вмісту тестостерону в сироватці крові та параметри сперми самців щурів після періоду відновлення.

Проте встановлено, що в більшості випадків вплив ксеноестрогенів проявляється як при низьких, так і при високих дозах, демонструючи при цьому немонотонні відповіді, що, звісно, в значній мірі ускладнює прогнозування ефектів впливу низьких доз на підставі результатів, отриманих при вивченні високих рівнів впливу [212,218-221]. Цілком очевидно, що традиційні токсикологічні підходи є недостатніми для розуміння і пояснення механізмів немонотонної дозозалежності. Низка досліджень показує, що гормонально активні агенти можуть спричиняти значні біологічні ефекти навіть у надзвичайно низьких концентраціях, і що 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 NOAEL, отриманої в результаті тестування відносно високих доз, надмірно спрощена і суперечить результатам вивчення ЕД [46,222-226].

У зв'язку з цим, у даний час дослідження механізмів впливів низьких доз зосереджено переважно на кінцевих точках генно-молекулярного рівня. [209] В результаті було встановлено, що ініційовані ксеноестрогенами численні сигнальні каскади проксимальних рецепторів реагують з різними швидкостями і нелінійними дозовими залежностями, що може детермінувати немонотонну дозову реакцію органів мішеней [227, 228].

Поряд з цим, існують і інші гіпотези обґрунтування немонотонної дозової залежності, наприклад, зниження регуляторної функції або сенсibilізація рецепторів, тобто, зміна вибіркості рецепторів при переході від низьких доз (вибіркове зв'язування ER) до високих (невибіркове зв'язування) [46,209,212,229-231]. R. Vinas і співавт. [209] наводять основні типи немонотонних дозових відповідей поведінки фізіологічного естрадіолу на вплив KE, з аналізу опису яких випливає, що середньо активний KE підсилює реакцію фізіологічного естрогену при низьких рівнях доз і пригнічує його при більш високих. Саме таку залежність ми спостерігаємо в нашому експерименті при вивченні рівня вмісту тестостерону.

Однак, у нашому експерименті порушення процесів сперматогенезу не має прямої кореляції з рівнем вмісту тестостерону. Можна припустити, що подібне явище пов'язане з тим, що функція естрадіолу варіюється в залежності від клітин, в яких він продукується. В нормі ендогенний естрадіол удосталь продукується різними клітинами сім'яників і їх придатків (незрілими зародковими клітинами, сперматозоїдами, епітелієм еферентних каналів і проксимального епідідимального каналу, клітинами Лейдіга і клітинами Сертолі), забезпечуючи різні механізми життєдіяльності статевих клітин, починаючи від проліферації та закінчуючи апоптозом зародкових клітин. І, оскільки, регулювання тестикулярних клітин естрадіолом проявляє

як інгібуючий, так і стимулюючий вплив, це вказує на залежну від дози та часу дуже тонку модуляцію [197,232]. М. Leavy та співавт. [232] показали, що під впливом підвищених доз естрадіолу виявлена ослаблена експресія альфа-рецептора естрогену (ER α) в клітинах Сертолі, відповідальних за регуляцію виробництва зародкових клітин. Крім того, існують ЕД, котрі діють як антагоністи гормональних систем, вони зв'язуються зі специфічним рецептором, але не активують типову відповідь рецептора та запобігають зв'язуванню або активності ендogenousного ліганда. Нарешті, багато ЕД зв'язуються з рецептором і активують відповідь, котра не обов'язково збігається з тою, що викликана ендogenousними естрогенами; вони називаються селективними модуляторами ER [46].

Дані епідеміологічних досліджень показують, що у чоловіків, котрі страждають олігоспермією, при якому рівень тестостерону залишався на рівні норми. Механізм олігоспермії з нормальним рівнем тестостерону є аномальним зворотним зв'язком між гонадами і гіпофізом, тому було висловлено припущення, що порушення гормонального профілю та сперматогенезу пов'язане не з дефектом гіпоталамо-гіпофізарно-тестикулярної осі у чоловіків, а з порушеннями в гонадах [233-235]. 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 десятиліть, спрямовані на вивчення механізмів молекулярних і геномних рівнів взаємодії організму з ендокринними деструкторами, змінюють традиційні уявлення та концепції класичної токсикології, викликаючи необхідність перегляду та оптимізації стандартних методологічних підходів до оцінки ризику ендокринних деструкторів [209].

Водночас при плануванні експерименту поряд з ідентифікацією ступеня, характеру і особливостей токсичного впливу ЛЦТ6, метою нашого дослідження було також вивчення стійкості порушень, що виникають під впливом досліджуваної сполуки: тривалість, оборотність і/або незворотність

потенційно можливих ефектів. Для цього частина тварин була залишена на відновний період, після закінчення якого вивчалися ті ж параметри, що і після закінчення експозиції ЛЦТ6. З результатів, наведених у таблиці 1 і на рисунку 3, випливає, що зміни параметрів сперми і вмісту тестостерону мають незворотній характер.

Після періоду відновлення, у тварин, які отримували дозу 3,0 мг/кг, знижується відсоток патологічних форм сперматозоїдів, збільшується абсолютне число рухливих сперматозоїдів, відносна їх кількість, як і раніше залишається достовірно зниженою на 13,0 % ($p \leq 0,05$). Практично на тому ж рівні по відношенню до контролю залишається вміст загального тестостерону в сироватці крові на 66,4 % ($p \leq 0,05$). У самців, які піддавалися впливу максимальної дози 10,0 мг/кг маси тіла параметри сперми погіршуються, знижується і абсолютна на 52,4 % ($p \leq 0,001$), і відносна кількість рухливих сперматозоїдів на 35,9 % ($p \leq 0,001$), падає їх загальна кількість на 26,3 % ($p \leq 0,01$). Рівень вмісту тестостерону зростає в порівнянні з контролем, але не вірогідно. При цьому впродовж відновного періоду у самців відновлюється маса тіла, яка знизилася після 10 тижнів впливу.

Для того, щоб зрозуміти патогенез незворотності змін репродуктивної системи в нашому експерименті, дуже важливо було визначити кінцеву точку та глибину токсичного ураження в органах мішенях (статевих залозах). Аналізуючи отримані дані, цілком логічним було припустити, що системний токсичний ефект при дії максимальної дози (10,0 мг/кг маси тіла) має також цитотоксичну дію на клітини органів мішеней (статевих залоз) і що після закінчення відновного періоду, також проявлявся цитотоксичний ефект. Більш того, вираженість змін досліджуваних параметрів зростає. Що стосується олігоспермії, то існують принаймні два варіанти розвитку патології. Перше пояснення подібного феномена можливо, якщо взяти до уваги, що першоджерелом перманентно протікаючого циклу сперматогенезу є постійно поновлювана сперматогоніальна популяція стовбурових клітин. Однак, якщо велика частина сперматогоній була пошкоджена, відновний

період стає більш тривалим ніж зазвичай рекомендований термін, еквівалентний тривалості сперматогенезу. Іноді для відновлення популяції сперматогоніальних клітин необхідна дворазова або навіть триразова тривалість циклу сперматогенезу, так як популяція стовбурових клітин повільно ділиться, тому, потрібно більше часу для поповнення диференційної сперматогоніальної популяції [236]. Тобто, при такому розвитку подій абсолютизувати виявлену незворотність спостережуваної олігоспермії та інших порушень сперматогенезу буде передчасно.

Якщо ж у токсичний процес залучаються клітини Сертолі, то існує мала ймовірність регенерації всієї популяції зародкових клітин і відновлення функціонального сперматогенезу. При значному ураженні частини клітин Сертолі їх регенерація неможлива, оскільки ці клітини не можуть поповнюватися в репродуктивному періоді онтогенезу. У разі токсичного ураження клітин Сертолі навіть при наявності сперматогоній, котрі діляться, сперматогенез не відновлюється. Дослідження показали, що це пов'язано з відсутністю фактору росту клітин Sertoli, так званого SCF, який зв'язує рецептор c-kit на сперматогоніях [236].

Аналізуючи і оцінюючи отримані результати, схильні припустити, що встановлені патологічні зміни пов'язані як з ураженням клітин Сертолі, так і сперматогоній, про що свідчить також і аномальна зміна рівня вмісту тестостерону. Можливо, за дії середньої дози страждає частина естрогенних рецепторів клітин Сертолі, причому ЛЦТ6 виступає в ролі незворотного конкуруючого ксеноагоніста, необоротно блокує їх фізіологічну дію, що підтверджується практично незмінними величинами вивчених параметрів упродовж відновного періоду. А максимальна вивчена доза поряд із більш вираженим ендокрин-деструктивним ефектом надає ще й цитотоксичний ефект на сперматогоніальну популяцію клітин.

Підсумовуючи отримані дані, можна констатувати, що всі шість сполук лямбда-цигалотрину не залежно від чистоти діючої речовини, володіють репродуктивною токсичністю та ендокрин-деструктивними властивостями як

на самців, так і на самиць щурів. У зв'язку з широким використанням даного пестициду в сільському господарстві та в побуті, існує занепокоєння щодо його токсичного впливу, а також повідомлялись випадки про отруєння людей в різних країнах світу [237-242]. У Канаді, знизили обсяг використання препаратів на основі лямбда-цигалотрину та встановили добову допустиму дозу (ДДД) на рівні 0,0003 мг/кг, базуючись на NOAEL 0,1 мг/кг по дослідженню хронічної токсичності на собаках Beagle із застосуванням стандартних коефіцієнтів та додаткового триразового коефіцієнта невизначеності (UF 300), у зв'язку з недостатності даних по дослідженню репродуктивної токсичності на самцях [238]. По даним EFSA, в Європейському Союзі ДДД лямбда-цигалотрину для людини становить 0,0025 мг/кг, виходячи із NOAEL 0,5 мг/кг встановленої в дослідженнях репродуктивної токсичності цигалотрину та додатковим дворазовим коефіцієнтом невизначеності (UF 200) для перерахунку цигалотрину на ЛЦТ. Але в висновку EFSA зазначено, що даних недостатньо та необхідні подальші дослідження репродуктивної токсичності ЛЦТ [16]. В Україні встановлена ДДД на рівні 0,003 мг/кг, виходячи з досліджень репродуктивної токсичності генериків лямбда-цигалотрину (NOAEL 0,3 мг/кг) із застосуванням стандартних коефіцієнтів запасу (UF 100), що забезпечує його безпечного застосування за призначенням. На сьогодні в Україні зареєстровано більше 30 препаративних форм на основі діючої речовини ЛЦТ, котрий 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 Hannover, 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) – на самиць. Системною токсичною дією для самиць володіють лямбда-цигалотрин № 3 та № 4, для 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 доімплантаційною 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 гормона 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 відновилася 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K. Mortality in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *Occup Environ Med.* 1999 Jan;56(1):14-21.
2. Basir A, Khan A, Mustafa R, Khan MZ, Rizvi F, Mahmood F, et al. Toxicopathological effects of lambda-cyhalothrin in female rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Hum Exp Toxicol.* 2011 Jul;30(7):591-602.
3. Bakhsh K. Environmental and technical efficiency analysis in bitter gourd production. *Pak J Agric Sci.* 2012;49(4):583-8.
4. Tahir T, Mushtaq S, Rana SA, Shiekh MA. Farmers' awareness about spider as natural predator of cotton pests and hazardous effects of pesticides on their health from three districts of Punjab cotton belt: Past findings and future priorities. *Pak J Agric Sci.* 2012;49(3):381-6.
5. Verger PJ, Boobis AR. Global food supply. Reevaluate pesticides for food security and safety. *Science.* 2013 Aug 16;341(6147):717-8.
6. Lemaire G, Mnif W, Pascussi JM, Pillon A, Rabenoelina F, Fenet H, et al. Identification of new human pregnane X receptor ligands among pesticides using a stable reporter cell system. *Toxicol Sci.* 2006 Jun;91(2):501-9.
7. Проданчук МГ, Жмілько ПГ, Недопитанська МН. Основні проблеми токсикології пестицидів і агрохіміків та їх регламентація в об'єктах навколишнього середовища (огляд літератури та власних досліджень). *Журн. АМН України.* 2005;11(4):753-74.
8. Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Verube A, Yang Q, Liu S, et al. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2008 May;11(5/6):373-517.
9. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2009 Jun;30(4):293-342.

10. Mnif W, Hassine AI, Bouaziz A, Bartegi A, Thomas O, Roig B. Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *Int J Environ Res Public Health*. 2011 Jun;8(6):2265-303.
11. Balabanic D, Rupnik M, Klemencic AK. Negative impact of endocrine-disrupting compoundson human reproductive health. *Reprod Fertil Dev*. 2011;23:403-16.
12. Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock R, Van Der Kraak G, editors. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors [Internet]. WHO; 2002 [cited 2019 Dec 20]. Available from: https://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/
13. Jin M, Li L, Xu C, Wen Y, Zhao M. Estrogenic activities of two synthetic pyrethroids and their metabolites. *J Environ Sci (China)*. 2010;22(2):290-6.
14. Kim CW, Go RE, Choi KC. Treatment of BG-1 ovarian cancer cells expressing estrogen receptors with lambda-cyhalothrin and cypermethrin caused a partial estrogenicity via an estrogen receptor-dependent pathway. *Toxicol Res*. 2015 Dec;31(4):331-7.
15. Zhang Q, Zhang Y, Du J, Zhao M. Environmentally relevant levels of λ -cyhalothrin, fenvalerate, and permethrin cause developmental toxicity and disrupt endocrine system in zebrafish (*Danio rerio*) embryo. *Chemosphere*. 2017 Oct;185:1173-80.
16. European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance lambda-cyhalothrin. *EFSA J*. 2014;12(5):3677.
17. Mattison DR, Plowchalk DR, Meadows MJ, al-Juburi AZ, Gandy J, Malek A. Reproductive toxicity: male and female reproductive systems as targets for chemical injury. *Med Clin North Am*. 1990 Mar;74(2):391-411.
18. Mathur N, Pandey G, Jain GC. Pesticides: a review of the male reproductive toxicity. *J Herb Med Toxicol*. 2010;4(1):1-8.
19. Cordier S. Evidence for a role of paternal exposures in developmental toxicity. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008 Feb;102(2):176-81.

20. Reeves M, Schafer KS. Greater risks, fewer rights: U.S. farmworkers and pesticides. *Int J Occup Environ Health*. 2003 Jan-Mar;9(1):30-9.
21. Giknis MLA, Clifford CB, prepared. Reproductive parameters and fetal data from reproductive toxicity studies in the Charles River Wistar Hannover [CrI:WI(Han)] rat [Internet]. 2009 Mar [cited 2019 Dec 20]. Available from: https://www.criver.com/sites/default/files/resources/rm_rm_r_Wistar_Han_reproductive_tox_studies_091.pdf
22. Татарчук ТФ, Сольский ЯП. Эндокринная гинекология (клинические очерки). Ч. 1. Киев: Заповіт; 2003. 303 с.
23. Айламазян ЭК. Проблема охраны репродуктивного здоровья женщин в условиях экологического кризиса. *Мед. акад. журн*. 2005;5(2):47-58.
24. Creasy DM. Pathogenesis of male reproductive toxicity. *Toxicol Pathol*. 2001 Jan-Feb;29(1):64-76.
25. Шепельская НР. Пищевые контаминанты: методологические подходы к изучению их репродуктивной токсичности. *Проблеми харчування*. 2013;(1):59-64.
26. Моклячук ЛІ, Ліщук АМ, Матусевич ГД, Мельничук ОП. Екотоксикологічні особливості застосування комплексів сучасних гербіцидів в агротехнологіях вирощування зернових культур. *Збаланс. природокористування*. 2015;(2):131-5.
27. ВОЗ. Здоровье и окружающая среда: решение проблемы воздействия загрязнения воздуха на здоровье: проект резолюции, предложенный делегациями Албании, Чили, Колумбии, Франции, Германии, Монако, Норвегии, Панамы, Швеции, Швейцарии, Украины, Соединенных Штатов Америки, Уругвая и Замбии [Интернет]. 2015 Май 26 [цитировано 2019 Дек 20]. Доступно: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_ACONF2_Rev1-ru.pdf
28. Ahman E, Shah IH. New estimates and trends regarding unsafe abortion mortality. *Int J Gynaecol Obstet*. 2011 Nov;115(2):121-6.
29. Гойда НГ, Бісярин ОЮ. Нормативно-правове регулювання діяльності

служби планування сім'ї та збереження репродуктивного здоров'я. Укр. мед. часопис. 2012;(4):20-5.

30. Искандаров ТИ. Комплексное нормирование пестицидов в объектах окружающей среды и их гигиенические нормативы. Ташкент; 2014. 173 с.

31. Методология комплексного и ускоренного нормирования пестицидов в объектах окружающей среды: методол. пособие № 8н-п/193. Ташкент; 2014. 120 с.

32. Лепешко ПН, Бондаренко ЛМ. Токсиколого-гигиеническая оценка новых химических веществ, внедряемых в производство: учеб.-метод. пособие. Минск: БГМУ; 2017. 55 с.

33. Колянчук ЯВ. Проблема оцінки репродуктивної токсичності (гонадотоксичності) пестицидів. Мед. та клін. хімія. 2018;20(2):123-30.

34. Станкевич ВВ. Сучасні аспекти порушення менструального циклу у дівчаток-підлітків. Педіатрія, акушерство та гінекологія. 2005;(6):68-71.

35. Радзинский ВЕ, редактор. Женская консультация. 2-е изд., перераб. и доп. Петрозаводск: Интел-Тек; 2007. 488 с.

36. O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, McLachlan RI. Endocrine regulation of spermatogenesis [Internet]. [cited 2019 Nov 20]. Available from: <https://research.monash.edu/en/publications/endocrine-regulation-of-spermatogenesis>

37. Salih NF, Jaafar MS. Heavy metals in blood and urine impact on the woman fertility. Chem Mater Res. 2013;3(3):81-9.

38. Meeker JD, Ryan L, Barr DB, Hauser R. Exposure to nonpersistent insecticides and male reproductive hormones. Epidemiology. 2006 Jan;17(1):61-8.

39. Guney M, Demirin H, Oral B, Ozguner M, Bayhan G, Altuntas I. Ovarian toxicity in rats caused by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. Hum Exp Toxicol. 2007 Jun;26(6):491-8.

40. Weston DP, You J, Lydy MJ. Distribution and toxicity of sediment-associated pesticides in agriculture-dominated water bodies of California's Central Valley. Environ Sci Technol. 2004 May 15;38(10):2752-9.

41. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46.
42. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res.* 2003 Jun;543(3):251-72.
43. Narahashi T, Zhao X, Ikeda T, Nagata K, Yeh JZ. Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. *Hum Exp Toxicol.* 2007 Apr;26(4):361-6.
44. WHO. Procedures for the testing of intentional food additives to establish their safety for use: second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [Internet]. Geneva; 1958 [cited 2019 Dec 20]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40403/WHO_TRS_144.pdf?sequence=1&isAllowed=y
45. Food and Drug Administration Advisory Committee on Protocols for Safety Evaluations. Panel on reproduction report on reproduction studies in the safety evaluation of food additives and pesticide residues. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1970 Jan;16(1):264-96.
46. United States Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines: OPPTS 870.3800. Reproduction and Fertility Effects [EPA 712-C-98-208] [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/epa/epa_870_3800.pdf
47. OECD, Reproduction/developmental toxicity screening test: OECD guideline for testing of chemicals. Adopted by the Council on 27th July 1995 [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948474.pdf>
48. OECD. Test No. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [Internet]. Paris: OECD Publishing; 2016 [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://doi.org/10.1787/9789264264403-en>
49. OECD. Test No. 415: One-Generation Reproduction Toxicity Study: OECD

Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [Internet]. Paris: OECD Publishing; 1983 May 26 [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://doi.org/10.1787/9789264070844-en>

50. OECD. Test No. 416: Two-Generation Reproduction Toxicity: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [Internet]. Paris: OECD Publishing; 2001 [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://doi.org/10.1787/9789264070868-en>

51. OECD. Test No. 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study: OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 [Internet]. Paris: OECD Publishing; 2018 [cited 2019 Dec 20], Available from: <https://doi.org/10.1787/9789264185371-en>

52. Saghir SA, Dorato MA. Reproductive and developmental toxicity testing: Examination of the extended one-generation reproductive toxicity study guideline. Regul Toxicol Pharmacol. 2016 Aug;79:110-7.

53. 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.

54. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. Киев; 1968. 160 с.

55. Антонович ЕА, Каган ЮС, Спыну ЕИ, Белоножко ГА, Болотный АВ, Бурый ВС, и др., составители. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. Киев; 1988. 211 с.

56. Marty MS, Carney EW, Rowlands JC. Endocrine disruption: historical perspectives and its impact on the future of toxicology testing. Toxicol Sci. 2011 Mar;120 Suppl 1:S93-108.

57. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR Jr, Lee DH, et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. Endocr Rev. 2012 Jun;33(3):378-455.

58. Ahmad L, Khan A, Khan MZ. Pyrethroid induced reproductive toxicopathology in non-target species. *Pak Vet J.* 2012;32(1):1-9.
59. Ahmad L, Khan A, Khan MZ, Hussain I, Mahmood F, Sleemi MK, et al. Toxicopathological effects of cypermethrin upon male reproductive system in rabbits. *Pestic Biochem Physiol.* 2012 Jul;103(3):194-201.
60. Балан ГМ, Бубало НН, Лепешкин ИВ, Бубало ВА. Ядерные рецепторы – ключевые регуляторы биотрансформации ксенобиотиков. Часть 2. Ядерные ксено- и гормональные рецепторы: структура, номенклатура и роль в метаболизме и гомеостазе. *Сучас. проблеми токсикології, харч. та хім. безпеки.* 2016;(1):24-42.
61. Campos E, Freire C. Exposure to non-persistent pesticides and thyroid function: A systematic review of epidemiological evidence. *Int J Hyg Environ Health.* 2016 Aug;219(6):481-97.
62. Cooper DS, Biondi B. Subclinical thyroid disease. *Lancet.* 2012 Mar 24;379(9821):1142-54.
63. Aguilar-Garduno C, Lacasana M, Blanco-Munoz J, Rodriguez-Barranco M, Hernandez AF, Bassol S, et al. Changes in male hormone profile after occupational organophosphate exposure. A longitudinal study. *Toxicology.* 2013 May 10;307:55-65.
64. Khan DA, Ahad K, Ansari WM, Khan H. Pesticide exposure and endocrine dysfunction in the cotton crop agricultural workers of southern Punjab, Pakistan. *Asia Pac J Public Health.* 2013 Mar;25(2):181-91.
65. Orton F, Rosivatz E, Scholze M, Kortenkamp A. Widely used pesticides with previously unknown endocrine activity revealed as in vitro antiandrogens. *Environ Health Perspect.* 2011 Jun;119(6):794-800.
66. Saillenfait AM, Ndiaye D, Sabate JP. Pyrethroids: exposure and health effects – an update. *Int J Hyg Environ Health.* 2015 May;218(3):281-92.
67. Boobis AR, Ossendorp BC, Banasiak U, Hamey PY, Sebestyen I, Moretto A. Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. *Toxicol Lett.* 2008 Aug 15;180(2):137-50.

68. Bolognesi C, Merlo FD. Pesticides: human health effects [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://kundoc.com/pdf-pesticides-human-health-effects-.html>
69. Пельо ІМ, Бардов ВГ, Вавріневич ОП, Омельчук СТ, Антоненко АМ. Токсиколого-гігієнічна оцінка бакових сумішей пестицидів та встановлення їх лімітуючих компонентів для оптимізації санітарного нагляду. Мед. наука України. 2015;11(3/4):99-107.
70. 8.1. Пестициди і агрохімікати. Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності: постанова Першого заступника Головного державного санітарного лікаря України № 2 від 28.08.1998 р. [Інтернет]. [цитовано 2019 Груд 19]. Доступно: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=4164>
71. Каган ЮС. Общая токсикология пестицидов. Киев: Здоров'я; 1981. 174 с.
72. Усенко ТВ. Проблема оцінки гематотоксичності пестицидів. Мед. та клін. хімія. 2017;19(4):129-37.
73. Joshi SC, Sharma P. Male reproductive toxicity of organophosphorous compounds: a review. Toxicol Environ Chem. 2011;93(7):1486-507.
74. Knudsen TB, Martin MT, Kavlock RJ, Judson RS, Dix DJ, Singh AV. Profiling the activity of environmental chemicals in prenatal developmental toxicity studies using the U.S. EPA's ToxRefDB. Reprod Toxicol. 2009 Sep;28(2):209-19.
75. Perez JJ, Williams MK, Weerasekera G, Smith K, Whyatt RM, Needham LL, et al. Measurement of pyrethroid, organophosphorus, and carbamate insecticides in human plasma using isotope dilution gas chromatography-high resolution mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2010 Oct 1;878(27):2554-62.
76. Dahamna S, Harzallah D, Guemache A, Sekfali N. Biochemical investigation of cypermethrin toxicity in rabbits. Commun Agric Appl Biol Sci. 2009;74(1):149-53.
77. Khan A, Ahmad L, Khan MZ. Hemato-biochemical changes induced by

pyrethroid insecticides in avian, fish and mammalian species. *Int J Agric Biol.* 2012;14(5):834-42.

78. Du G, Shen O, Sun H, Fei J, Lu C, Song L, et al. Assessing hormone receptor activities of pyrethroid insecticides and their metabolites in reporter gene assays. *Toxicol Sci.* 2010 Jul;116(1):58-66.

79. Zhao M, Chen F, Wang C, Zhang Q, Gan J, Liu W. Integrative assessment of enantioselectivity in endocrine disruption and immunotoxicity of synthetic pyrethroids. *Environ Pollut.* 2010 May;158(5):1968-73.

80. Das T, Ghosh R, Paramanik A, Pradhan A, Dey SK, Roy T, et al. Dose-dependent hematological, hepatic and gonadal toxicity of cypermethrin in Wistar rats. *Toxicol Forensic Med Open J.* 2017;2(2):74-83.

81. Perry MJ, Venners SA, Barr DB, Xu X. Environmental pyrethroid and organophosphorus insecticide exposures and sperm concentration. *Reprod Toxicol.* 2007 Jan;23(1):113-8.

82. Mathirajan VG, Natarajan K, Kuttalam S, Chandrasekaran S, Regupathy A. Efficacy of Lambda Cyhalothrin (Karate®) 5 EC against Brinjal Shoot and Fruit Borer (*Leucinodes orbonalis* Guen.) *Pestic Res J.* 2000;12(1):117-9.

83. Fetoui H, Garoui el M, Zeghal N. Lambda-cyhalothrin-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats: ameliorative effect of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol.* 2009 May;61(3):189-96.

84. Li H, Cheng F, Wei Y, Lydy MJ, You J. Global occurrence of pyrethroid insecticides in sediment and the associated toxicological effects on benthic invertebrates: An overview. *J Hazard Mater.* 2017 Feb 15;324(Pt B):258-71.

85. Ben Abdallah F, Fetoui H, Zribi N, Fakhfakh F, Keskes L. Quercetin attenuates lambda cyhalothrin-induced reproductive toxicity in male rats. *Environ Toxicol.* 2013 Dec;28(12):673-80.

86. Memon SA, Shaikh SA, Memon N, Shah MA, Mal B, Shah NA. Testicular toxicity of lambda cyhalothrin insecticide in male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Sindh Univ Res J (Sci Ser).* 2014;46(3):287-92.

87. Al-Sarar AS, Abobakr Y, Bayoumi AE, Hussein HI, Al-Ghothemi M.

- Reproductive toxicity and histopathological changes induced by lambda-cyhalothrin in male mice. *Environ Toxicol*. 2014 May;29(7):750-62.
88. Ghosh R, Banerjee B, Das T, Jana K, Choudhury SM. Antigonadal and endocrine-disrupting activities of lambda cyhalothrin in female rats and its attenuation by taurine. *Toxicol Ind Health*. 2018 Mar;34(3):146-57.
89. Ali A, Khan JA, Khaliq T, Javed I, Muhammad F, Aslam B, et al. Hemato-biochemical disruptions by lambda-cyhalothrin in rats. *Pak Vet J*. 2014;34(1):54-7.
90. Oularbi HK, Daoudi NZ, Mounia B, Yacine O, Djennas N. Hematological and histopathological changes in the testes and seminal vesicle of rats following repeated exposure to lambda-cyhalothrin. *Agric Food*. 2015;3:375-85.
91. Ghosh R, Das T, Paramanik A, Maiti Choudhury S. Lambda cyhalothrin elicited dose response toxicity on haematological, hepatic, gonadal and lipid metabolic biomarkers in rat and possible modulatory role of taurine. *Toxicol Forensic Med Open J*. 2016;1(2):42-51.
92. Li H, Fang Y, Ni C, Chen X, Mo J, Lv Y, et al. Lambda-cyhalothrin delays pubertal Leydig cell development in rats. *Environ Pollut*. 2018 Nov;242(Pt A):709-17.
93. Saravanan R, Revathi K, Murthy PB. Lambda cyhalothrin induced alterations in *Clarias batrachus*. *J Environ Biol*. 2009 Mar;30(2):265-70.
94. Vijverberg HP, van den Bercken J. Annotation. Action of pyrethroid insecticides on the vertebrate nervous system. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1982 Nov-Dec;8(6):421-40.
95. Sogorb MA, Vilanova E. Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol Lett*. 2002 Mar 10;128(1/3):215-28.
96. Харченко ОА, Балан ГМ, Бубало НМ. Синтетичні піретроїди: механізм дії, гострі отруєння та віддалені наслідки. *Проблеми харчування*. 2013;(1):29-39.
97. Gassner B, Wuthrich A, Scholtysik G, Solioz M. The pyrethroids permethrin and cyhalothrin are potent inhibitors of the mitochondrial complex I. *J Pharmacol*

Exp Ther. 1997 May;281(2):855-60.

98. Miyamoto J, Kaneko H, Tsuji R, Okuno Y. Pyrethroids, nerve poisons: how their risks to human health should be assessed. *Toxicol Lett.* 1995 Dec;82/83:933-40.

99. Gammon DW, Brown MA, Casida JE. Two classes of pyrethroid action in the cockroach. *Pestic Biochem Physiol.* 1981 Apr;15(2):181-91.

100. Verschoyle RD, Aldridge WN. Structure-activity relationships of some pyrethroids in rats. *Arch Toxicol.* 1980 Oct;45(4):325-9.

101. Aldridge WN. An assessment of the toxicological properties of pyrethroids and their neurotoxicity. *Crit Rev Toxicol.* 1990;21(2):89-104.

102. Gray AJ. Pyrethroid structure-toxicity relationships in mammals. *Neurotoxicology.* 1985 Summer;6(2):127-37.

103. Vijverberg HP, van den Bercken J. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Crit Rev Toxicol.* 1990;21(2):105-26.

104. Narahashi T. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. *Neurotoxicology.* 1985 Summer;6(2):3-22.

105. Vijverberg HP, de Weille JR. The interaction of pyrethroids with voltage-dependent Na channels. *Neurotoxicology.* 1985 Summer;6(2):23-34.

106. Lawrence LJ, Casida JE. Stereospecific action of pyrethroid insecticides on the gamma-aminobutyric acid receptor-ionophore complex. *Science.* 1983 Sep 30;221(4618):1399-401.

107. Soderlund DM. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. *Arch Toxicol.* 2012 Feb;86(2):165-81.

108. Chinn K, Narahashi T. Stabilization of sodium channel states by deltamethrin in mouse neuroblastoma cells. *J Physiol.* 1986 Nov;380:191-207.

109. Tu W, Xu C, Lu B, Lin C, Wu Y, Liu W. Acute exposure to synthetic pyrethroids causes bioconcentration and disruption of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in zebrafish embryos. *Sci Total Environ.* 2016 Jan 15;542(Pt A):876-85.

110. Bownik A, Kowalczyk M, Banczerowski J. Lambda-cyhalothrin affects

swimming activity and physiological responses of *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 2019 Feb;216:805-11.

111. Chang J, Xu P, Li W, Li J, Wang H. Enantioselective elimination and gonadal disruption of lambda-cyhalothrin on lizards (*Eremias argus*). *J Agric Food Chem*. 2019 Feb 27;67(8):2183-9.

112. Ceuppens B, Eraerts M, Vleugels T, Cnops G, Roldan-Ruiz I, Smagghe G. Effects of dietary lambda-cyhalothrin exposure on bumblebee survival, reproduction, and foraging behavior in laboratory and greenhouse. *J Pest Sci*. 2015;88:777-83.

113. Birolli WG, Arai MS, Nitschke M, Porto ALM. The pyrethroid (\pm)-lambda-cyhalothrin enantioselective biodegradation by a bacterial consortium. *Pestic Biochem Physiol*. 2019 May;156:129-37.

114. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*. 1995 Dec 15;104(1/3):129-40.

115. Banerjee BD, Seth V, Bhattacharya A, Pasha ST, Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett*. 1999 Jun 30;107(1/3):33-47.

116. Giray B, Gurbay A, Hincal F. Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol. *Toxicol Lett*. 2001 Jan 3;118(3):139-46.

117. Gultekin F, Delibas N, Yasar S, Kilinc I. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch Toxicol*. 2001 Apr;75(2):88-96.

118. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*. 2004 Jun;10(6):RA141-7.

119. Prasamthi K, Muralidhara, Rajini PS. Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil. *Food Chem Toxicol*. 2005 Feb;43(2):299-306.

120. Karademir Catalgol B, Ozden S, Alpertunga B. Effects of trichlorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. *Toxicol In Vitro*. 2007 Dec;21(8):1538-44.
121. Lukaszewicz-Hussain A. Subchronic intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level. *Food Chem Toxicol*. 2008 Jan;46(1):82-6.
122. Kale M, Rathore N, John S, Bhatnagar D. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett*. 1999 Apr 12;105(3):197-205.
123. Elbetieha A, Da'as SI, Khamas W, Darmani H. Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2001 Nov;41(4):522-8.
124. Alvarez JG, Storey BT. Differential incorporation of fatty acids into and peroxidative loss of fatty acids from phospholipids of human spermatozoa. *Mol Reprod Dev*. 1995 Nov;42(3):334-46.
125. de Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod*. 1995 Oct;10 Suppl 1:15-21.
126. Kovalski NN, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: protective effect of seminal plasma and scavengers. *Fertil Steril*. 1992 Oct;58(4):809-16.
127. Jeulin C, Soufir JC, Weber P, Laval-Martin D, Calvayrac R. Catalase activity in human spermatozoa and seminal plasma. *Gamete Res*. 1989 Oct;24(2):185-96.
128. Jow WW, Schlegel PN, Cichon Z, Phillips D, Goldstein M, Bardin CW. Identification and localization of copper-zinc superoxide dismutase gene expression in rat testicular development. *J Androl*. 1993 Nov-Dec;14(6):439-47.
129. Kumar S, Gautam AK, Agarwal KR, Shah BA, Saiyad HN. Demonstration of sperm head shape abnormality and clastogenic potential of cypermethrin. *J*

Environ Biol. 2004 Apr;25(2):187-90.

130. Mani U, Islam F, Prasad AK, Kumar P, Suresh Kumar V, Maji BK, et al. Steroidogenic alterations in testes and sera of rats exposed to formulated Fenvalerate by inhalation. *Hum Exp Toxicol*. 2002 Nov;21(11):593-7.

131. Ratnasooriya WD, Dharmasiri MG. Effects of Terminalia catappa seeds on sexual behaviour and fertility of male rats. *Asian J Androl*. 2000 Sep;2(3):213-9.

132. Yuan C, Wang C, Gao SQ, Kong TT, Chen L, Li XF, et al. Effects of permethrin, cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid on rat sperm motility in vitro evaluated with computer-assisted sperm analysis. *Toxicol In Vitro*. 2010 Mar;24(2):382-6.

133. Go V, Garey J, Wolff MS, Pogo BG. Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environ Health Perspect*. 1999 Mar;107(3):173-7.

134. Kojima M, Fukunaga K, Sasaki M, Nakamura M, Tsuji M, Nishiyama T. Evaluation of estrogenic activities of pesticides using an in vitro reporter gene assay. *Int J Environ Health Res*. 2005 Aug;15(4):271-80.

135. McCarthy AR, Thomson BM, Shaw IC, Abell AD. Estrogenicity of pyrethroid insecticide metabolites. *J Environ Monit*. 2006 Jan;8(1):197-202.

136. Han Y, Xia Y, Han J, Zhou J, Wang S, Zhu P, et al. The relationship of 3-PBA pyrethroids metabolite and male reproductive hormones among non-occupational exposure males. *Chemosphere*. 2008 Jun;72(5):785-90.

137. Zhang SY, Ito Y, Yamanoshita O, Yanagiba Y, Kobayashi M, Taya K, et al. Permethrin may disrupt testosterone biosynthesis via mitochondrial membrane damage of Leydig cells in adult male mouse. *Endocrinology*. 2007 Aug;148(8):3941-9.

138. Luty S, Latuszynska J, Obuchowska-Przebirowska D, Tokarska M, Haratym-Maj A. Subacute toxicity of orally applied alpha-cypermethrin in Swiss mice. *Ann Agric Environ Med*. 2000;7(1):33-41.

139. Fetoui H, Makni M, Garoui el M, Zeghal N. Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of

oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Exp Toxicol Pathol*. 2010 Nov;62(6):593-9.

140. Inayat Q, Ilahi M, Khan J. A morphometric and histological study of the kidney of mice after dermal application of cypermethrin. *J Pak Med Assoc*. 2007 Dec;57(12):587-91.

141. Garba SH, Shehu MM, Adelaiye AB. Toxicological effects of inhaled mosquito coil smoke on the rat spleen: a haematological and histological study. *J Med Sci*. 2007;7(1):94-9.

142. Michelangeli F, Robson MJ, East JM, Lee AG. The conformation of pyrethroids bound to lipid bilayers. *Biochim Biophys Acta*. 1990 Sep 21;1028(1):49-57.

143. Seenivasan S, Muraleedharan NN. Residues of lambda-cyhalothrin in tea. *Food Chem Toxicol*. 2009 Feb;47(2):502-5.

144. WHO. Cyhalothrin: Environmental Health Criteria 99 [Internet]. Geneva; 1990 [cited 2019 Dec 20]. Available from: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc99.htm>

145. Meister RT, editor-in-chief. *Farm chemicals handbook'97*. Willoughby, Ohio: Meister; 1997. [various pagings].

146. Davies CR, Llanos-Cuentas EA, Campos P, Monge J, Leon E, Canales J. Spraying houses in the Peruvian Andes with lambda-cyhalothrin protects residents against cutaneous leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2000 Nov-Dec;94(6):631-6.

147. Kroeger A, Villegas E, Ordonez-Gonzalez J, Pabon E, Scorza JV. Prevention of the transmission of Chagas' disease with pyrethroid-impregnated materials. *Am J Trop Med Hyg*. 2003 Mar;68(3):307-11.

148. SERA. Lambda-cyhalothrin human health and ecological risk assessment: final report [Internet]. [cited 2019 Nov 15]. Available from: https://www.fs.fed.us/foresthealth/pesticide/pdfs/052-21-03a_Lambda-Cyhalothrin.pdf

149. FAO. Lambda-cyhalothrin: FAO specifications and evaluations for

agricultural pesticides [Internet]. [cited 2019 Nov 15]. Available from: http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/lambda13.pdf

150. WHO. Lambda-cyhalothrin: WHO specifications and evaluations for public health pesticides [Internet]. [cited 2019 Nov 15]. Available from: <https://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/LAMBDA-CYHALOTHRIN.pdf?ua=1>

151. El-Demerdash FM. Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants. *Toxicol In Vitro*. 2007 Apr;21(3):392-7.

152. Fetoui H, Garoui el M, Makni-Ayadi F, Zeghal N. Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2008 Sep;26(2):225-31.

153. Abdallah FB, Fetoui H, Fakhfakh F, Keskes L. Caffeic acid and quercetin protect erythrocytes against the oxidative stress and the genotoxic effects of lambda-cyhalothrin in vitro. *Hum Exp Toxicol*. 2012 Jan;31(1):92-100.

154. Campana MA, Panzeri AM, Moreno VJ, Dulout FN. Genotoxic evaluation of the pyrethroid lambda-cyhalothrin using the micronucleus test in erythrocytes of the fish *Cheirodon interruptus interruptus*. *Mutat Res*. 1999 Jan 13;438(2):155-61.

155. Fahmy MA, Abdalla EF. Cytogenetic effects induced by the natural pyrethrins and the synthetic lambda cyhalothrin in mice in vivo. *Cytologia*. 2001;66(2):139-49.

156. Ratnasooriya WD, Ratnayake SS, Jayatunga YN. Effects of pyrethroid insecticide ICON (lambda cyhalothrin) on reproductive competence of male rats. *Asian J Androl*. 2002 Mar;4(1):35-41.

157. Celik A, Mazmanci B, Camlica Y, Askin A, Comelekoglu U. Cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on Wistar rat bone marrow. *Mutat Res*. 2003 Aug 5;539(1/2):91-7.

158. Celik A, Mazmanci B, Camlica Y, Comelekoglu U, Askin A. Evaluation of cytogenetic effects of lambda-cyhalothrin on Wistar rat bone marrow by gavage

administration. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2005 May;61(1):128-33.

159. European Food Safety Authority (EFSA). Focussed review of the existing maximum residue levels for lambda-cyhalothrin in light of the unspecific residue definition and the existing good agricultural practices for the substance gamma-cyhalothrin. *EFSA J.* 2017 Jul;15(7):e04930.

160. Проданчук ГМ, Костик ЮМ, Колянчук ЯВ, Ковтун Ю. Організація проведення експериментальних токсикологічних досліджень згідно вимог GLP. *Сучас. проблеми токсикології.* 2011;(5):112.

161. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Internet]. [cited 2019 Nov 20]. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>

162. National Research Council (US) Institute for Laboratory Animal Research. Guide for the care and use of laboratory animals [Internet]. Washington (DC): National Academies Press (US); 1996 [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK232589/>

163. OECD principles of good laboratory practice (as revised in 1997) [Internet]. Paris; 1998 [cited 2019 Dec 20]. Available from: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/mc/chem\(98\)17&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/mc/chem(98)17&doclanguage=en)

164. Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, Baltogiannis D, Giannakis D, Pardalidis N. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008 Apr;109(3/5):323-30.

165. Roberts KP, Zirkin BR. Androgen regulation of spermatogenesis in the rat. *Ann NY Acad Sci.* 1991;637:90-106.

166. McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de Kretser DM, Pratis K, et al. Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man. *Recent Prog Horm Res.* 2002;57:149-79.

167. Vornberger W, Prins G, Musto NA, Suarez-Quian CA. Androgen receptor distribution in rat testis: new implications for androgen regulation of

- spermatogenesis. *Endocrinology*. 1994 May;134(5):2307-16.
168. Holdcraft RW, Braun RE. Hormonal regulation of spermatogenesis. *Int J Androl*. 2004 Dec;27(6):335-42.
169. Hayes FJ, DeCruz S, Seminara SB, Boepple PA, Crowley WF Jr. Differential regulation of gonadotropin secretion by testosterone in the human male: absence of a negative feedback effect of testosterone on follicle-stimulating hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Jan;86(1):53-8.
170. Seed J, Chapin RE, Clegg ED, Dostal LA, Foote RH, Hurtt ME, et al. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. *Reprod Toxicol*. 1996 May-Jun;10(3):237-44.
171. Gotz F, Thieme S, Dorner G. Female infertility – effect of perinatal xenoestrogen exposure on reproductive functions in animals and humans. *Folia Histochem Cytobiol*. 2001;39 Suppl 2:40-3.
172. Yoshida M, Katsuda S, Ando J, Kuroda H, Takahashi M, Maekawa A. Subcutaneous treatment of p-tert-octylphenol exerts estrogenic activity on the female reproductive tract in normal cycling rats of two different strains. *Toxicol Lett*. 2000 Jul 27;116(1/2):89-101.
173. de Greef WJ, Zeilmaker GH. Serum prolactin concentrations during hormonally induced pseudopregnancy in the rat. *Endocrinology*. 1979 Jul;105(1):195-9.
174. Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ, Cooper RL. Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. *Toxicol Sci*. 2000 Mar;54(1):154-67.
175. Goldman JM, Murr AS, Cooper RL. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2007 Apr;80(2):84-97.
176. Bretveld RW, Thomas CM, Scheepers PT, Zielhuis GA, Roeleveld N. Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Reprod Biol Endocrinol*. 2006 May 31;4:30.

177. Rashkivska I, Kolyanchuk Y. P-5. Wistar Hannover rat reproductive parameters. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2016;67(Suppl 1):36.
178. Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel: эксперим. исслед. Клин. испытания. Анализ фармац. рынка. 2-е изд., перераб. и доп. Киев: Морион; 2001. 407 с.
179. 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.
180. 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.
181. 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.
182. 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.
183. 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.
184. 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.

185. 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.

186. 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.

187. Brander SM, Gabler MK, Fowler NL, Connon RE, Schlenk D. Pyrethroid pesticides as endocrine disruptors: molecular mechanisms in vertebrates with a focus on fishes. Environ Sci Technol. 2016 Sep 6;50(17):8977-92.

188. Henault-Ethier L. Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it: executive summary and scientific literature review. Montreal, Canada; 2015. 68 p.

189. LeBlanc GA, Bain LJ, Wilson VS. Pesticides: multiple mechanisms of demasculinization. Mol Cell Endocrinol. 1997 Jan 3;126(1):1-5.

190. Cocco P. On the rumors about the silent spring. Review of the scientific evidence linking occupational and environmental pesticide exposure to endocrine disruption health effects. Cad Saude Publica. 2002 Mar-Apr;18(2):379-402.

191. Carbone P, Giordano F, Nori F, Mantovani A, Taruscio D, Lauria L, et al. Cryptorchidism and hypospadias in the Sicilian district of Ragusa and the use of pesticides. Reprod Toxicol. 2006 Jul;22(1):8-12.

192. Garry VF. Pesticides and children. Toxicol Appl Pharmacol. 2004 Jul 15;198(2):152-63.

193. Whorton D, Krauss RM, Marshall S, Milby TH. Infertility in male pesticide workers. *Lancet*. 1977 Dec 17;2(8051):1259-61.
194. European Medicines Agency. ICH S5 (R3) guideline on reproductive toxicology: Detection of Toxicity to Reproduction for Human Pharmaceuticals [Internet]. [cited 2020 Feb 20]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s5-r3-guideline-reproductive-toxicology-detection-toxicity-reproduction-human-pharmaceuticals_en.pdf
195. United States Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines [EPA 560/6-82-001] [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/91012AAI...Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1>
196. Zhao M, Zhang Y, Liu W, Xu C, Wang L, Gan J. Estrogenic activity of lambda-cyhalothrin in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environ Toxicol Chem*. 2008 May;27(5):1194-200.
197. Fietz D, Ratzenbock C, Hartmann K, Raabe O, Kliesch S, Weidner W, et al. Expression pattern of estrogen receptors α and β and G-protein-coupled estrogen receptor 1 in the human testis. *Histochem Cell Biol*. 2014 Oct;142(4):421-32.
198. Bernardino RL, Alves MG, Silva J, Barros A, Ferraz L, Sousa M, et al. Expression of Estrogen Receptors Alpha (ER- α), Beta (ER- β), and G Protein-Coupled Receptor 30 (GPR30) in Testicular Tissue of Men with Klinefelter Syndrome. *Horm Metab Res*. 2016 Jun;48(6):413-5.
199. Lambard S, Galeraud-Denis I, Saunders PT, Carreau S. Human immature germ cells and ejaculated spermatozoa contain aromatase and oestrogen receptors. *J Mol Endocrinol*. 2004 Feb;32(1):279-89.
200. Bujan L, Mieusset R, Audran F, Lumbroso S, Sultan C. Increased oestradiol level in seminal plasma in infertile men. *Hum Reprod*. 1993 Jan;8(1):74-7.
201. Foucault P, Drosowsky MA, Carreau S. Andrology: Germ cell and Sertoli cell interactions in human testis: evidence for stimulatory and inhibitory effects.

Hum Reprod. 1994 Nov;9(11):2062-8.

202. Chimento A, Sirianni R, Casaburi I, Pezzi V. Role of estrogen receptors and g protein-coupled estrogen receptor in regulation of hypothalamus-pituitary-testis axis and spermatogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014 Jan 16;5:1.

203. Chimento A, Sirianni R, Delalande C, Silandre D, Bois C, Ando S, et al. 17 beta-estradiol activates rapid signaling pathways involved in rat pachytene spermatocytes apoptosis through GPR30 and ER alpha. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 May 14;320(1/2):136-44.

204. Royer C, Lucas TF, Lazari MF, Porto CS. 17Beta-estradiol signaling and regulation of proliferation and apoptosis of rat Sertoli cells. *Biol Reprod*. 2012 Apr 12;86(4):108.

205. Zhai J, Lanclos KD, Abney TO. Estrogen receptor messenger ribonucleic acid changes during Leydig cell development. *Biol Reprod*. 1996 Oct;55(4):782-8.

206. Bernardino RL, Costa AR, Martins AD, Silva J, Barros A, Sousa M, et al. Estradiol modulates Na⁺-dependent HCO₃⁻ transporters altering intracellular pH and ion transport in human Sertoli cells: A role on male fertility? *Biol Cell*. 2016 Jul;108(7):179-88.

207. Yang WR, Zhu FW, Zhang JJ, Wang Y, Zhang JH, Lu C, et al. PI3K/Akt activated by GPR30 and Src regulates 17β-estradiol-induced cultured immature boar Sertoli cells proliferation. *Reprod Sci*. 2017 Jan;24(1):57-66.

208. Schulster M, Bernie AM, Ramasamy R. The role of estradiol in male reproductive function. *Asian J Androl*. 2016 May-Jun;18(3):435-40.

209. Vinas R, Jeng YJ, Watson CS. Non-genomic effects of xenoestrogen mixtures. *Int J Environ Res Public Health*. 2012 Aug;9(8):2694-714.

210. Watson CS, Gametchu B. Membrane-initiated steroid actions and the proteins that mediate them. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1999 Jan;220(1):9-19.

211. Neubig RR, Spedding M, Kenakin T, Christopoulos A. International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification. XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative

- pharmacology. *Pharmacol Rev.* 2003 Dec;55(4):597-606.
212. Watson CS, Jeng YJ, Guptarak J. Endocrine disruption via estrogen receptors that participate in nongenomic signaling pathways. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011 Oct;127(1/2):44-50.
213. Li L, Haynes MP, Bender JR. Plasma membrane localization and function of the estrogen receptor alpha variant (ER46) in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003 Apr 15;100(8):4807-12.
214. Pappas TC, Gametchu B, Yannariello-Brown J, Collins TJ, Watson CS. Membrane estrogen receptors in GH3/B6 cells are associated with rapid estrogen-induced release of prolactin. *Endocrine.* 1994;2:813-22.
215. Pietras RJ, Levin ER, Szego CM. Estrogen receptors and cell signaling. *Science.* 2005 Oct 7;310(5745):51-3.
216. Pietras RJ, Szego CM. Cell membrane estrogen receptors resurface. *Nat Med.* 1999 Dec;5(12):1330.
217. Watson CS, Campbell CH, Gametchu B. Membrane oestrogen receptors on rat pituitary tumour cells: immuno-identification and responses to oestradiol and xenoestrogens. *Exp Physiol.* 1999 Nov;84(6):1013-22.
218. Alyea RA, Watson CS. Nongenomic mechanisms of physiological estrogen-mediated dopamine efflux. *BMC Neurosci.* 2009 Jun 16;10:59.
219. Myers JP, Zoeller RT, vom Saal FS. A clash of old and new scientific concepts in toxicity, with important implications for public health. *Environ Health Perspect.* 2009 Nov;117(11):1652-5.
220. Teuschler L, Klaunig J, Carney E, Chambers J, Conolly R, Gennings C, et al. Support of science-based decisions concerning the evaluation of the toxicology of mixtures: a new beginning. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2002 Aug;36(1):34-9.
221. Soto AM, Rubin BS, Sonnenschein C. Interpreting endocrine disruption from an integrative biology perspective. *Mol Cell Endocrinol.* 2009 May 25;304(1/2):3-7.
222. Sheehan DM, Willingham E, Gaylor D, Bergeron JM, Crews D. No

threshold dose for estradiol-induced sex reversal of turtle embryos: how little is too much? *Environ Health Perspect.* 1999 Feb;107(2):155-9.

223. Sheehan DM, vom Saal FS. Low dose effects of hormones: a challenge for risk assessment. *Risk Policy Rep.* 1997;4:31-9.

224. Crews D, Bergeron JM, McLachlan JA. The role of estrogen in turtle sex determination and the effect of PCBs. *Environ Health Perspect.* 1995 Oct;103 Suppl 7(Suppl 7):73-7.

225. Vom Saal FS, Sheehan DM. Challenging risk assessment: traditional toxicological testing cannot detect the adverse effects of very low doses of environmental chemicals. *Forum Appl Res Public Policy.* 1998;13(3):11-8.

226. Bergeron JM, Crews D, McLachlan JA. PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environ Health Perspect.* 1994 Sep;102(9):780-1.

227. Bermudez O, Marchetti S, Pages G, Gimond C. Post-translational regulation of the ERK phosphatase DUSP6/MKP3 by the mTOR pathway. *Oncogene.* 2008 Jun 12;27(26):3685-91.

228. Zivadinovic D, Watson CS. Membrane estrogen receptor-alpha levels predict estrogen-induced ERK1/2 activation in MCF-7 cells. *Breast Cancer Res.* 2005;7(1):R130-44.

229. Watson CS, Jeng YJ, Kochukov MY. Nongenomic signaling pathways of estrogen toxicity. *Toxicol Sci.* 2010 May;115(1):1-11.

230. Calabrese EJ. Hormesis: why it is important to toxicology and toxicologists. *Environ Toxicol Chem.* 2008 Jul;27(7):1451-74.

231. Ismail A, Nawaz Z. Nuclear hormone receptor degradation and gene transcription: an update. *IUBMB Life.* 2005 Jul;57(7):483-90.

232. Leavy M, Trottmann M, Liedl B, Reese S, Stief C, Freitag B, et al. Effects of elevated β -estradiol levels on the functional morphology of the testis – new insights. *Sci Rep.* 2017 Jan 3;7:39931.

233. Subhan F, Tahir F, Ahmad R, Khan ZD. Oligospermia and its relation with hormonal profile. *J Pak Med Assoc.* 1995 Sep;45(9):246-7.

234. Vasquez JM, Ben-Nun I, Greenblatt RB, Mahesh VB, Keel BA. Correlation between follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin, and testosterone with sperm cell concentration and motility. *Obstet Gynecol.* 1986 Jan;67(1):86-90.
235. Babu SR, Sadhnani MD, Swarna M, Padmavathi P, Reddy PP. Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males. *Indian J Clin Biochem.* 2004 Jan;19(1):45-9.
236. Haschek WM, Bolon B, Rousseaux WM, Wallig MA, editors. *Fundamentals of toxicologic pathology.* 3rd ed. [London]: Academic Press; 2017. 902 p.
237. Environmental Protection Agency (EPA). Lambda-Cyhalothrin [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://www.regulations.gov/docket?D=EPA-HQ-OPP-2010-0480>
238. Pest Management Regulatory Agency. Proposed re-evaluation decision PRVD2017-03, Lambda-cyhalothrin [Internet]. [cited 2019 Dec 20]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/pesticides-pest-management/public/consultations/proposed-re-evaluation-decision/2017/lambda-cyhalothrin/document.html>
239. Wenjie W, Houqing L, Xuchun L, Gengyun S. Acute pancreatitis during lambda cyhalothrin poisoning. *Toxin Rev.* 2014;33(3):136-7.
240. Lekei EE, Ngowi AV, London L. Farmers' knowledge, practices and injuries associated with pesticide exposure in rural farming villages in Tanzania. *BMC Public Health.* 2014 Apr 23;14:389.
241. Moretto A. Indoor spraying with the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin: effects on spraymen and inhabitants of sprayed houses. *Bull World Health Organ.* 1991;69(5):591-4.
242. Daglioglu N, Akcan R, Gulmen MK, Yener F, Efeoglu P. Pesticide intoxications in Cukurova, Turkey: three years analysis. *Hum Exp Toxicol.* 2011 Dec;30(12):1892-5.

Додаток А

Таблиця А.1

**Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самиць,
спарених із самцями, які отримували лямбда-цигалотрин № 1**

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ1, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість жовтих тіл	M±m	13,35±0,42	14,35±0,44	14,17±0,47
Кількість живих плодів в приплоді	M±m	10,55±0,56	11,40±0,56	11,11±0,70
Кількість зародків, які загинули до імплантації	M±m	1,80±0,48	1,85±0,26	1,94±0,42
% доімплантаційної загибелі	M±m	13,72±3,94	12,50±1,58	15,26±4,59
Кількість загиблих після імплантації зародків, плодів	M±m	1,05±0,26	1,10±0,55	1,11±0,16
% постімплантаційної загибелі	M±m	7,38±1,79	7,75±3,5	7,74±1,16
Загальна маса послідів, г	M±m	39,95±1,93	42,87±2,21	42,10±2,57
Середня маса плодів, г	M±m	3,83±0,06	3,76±0,05	3,83±0,05
n	-	20	20	18

Примітка. $p > 0,05$.

Таблиця А.2

**Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самиць,
спарених із самцями, які отримували лямбда-цигалотрин № 2**

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 2, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість жовтих тіл	M±m	14,80±0,53	15,00±0,50	15,47±0,38

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 2, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість живих плодів в приплоді	M±m	11,65±0,45	12,45±0,63	12,00±0,86
Кількість зародків, які загинули до імплантації	M±m	1,70±0,29	1,70±0,29	2,73±0,94
% доімплантаційної загибелі	M±m	11,30±1,89	10,87±1,74	17,23±5,87
Кількість загиблих після імплантації зародків, плодів	M±m	1,45±0,34	0,85±0,27	0,73±0,23
% постімплантаційної загибелі	M±m	9,45±2,18	6,97±2,56	4,76±1,47
Загальна маса послідів, г	M±m	43,78±1,72	46,65±2,45	44,50±3,38
Середня маса плодів, г	M±m	3,76±0,05	3,74±0,05	3,67±0,08
n	-	20	20	15

Примітка. $p > 0,05$.

Таблиця А.3

Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, спарених із самцями, які отримували лямбда-цигалотрин № 3

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 3, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість жовтих тіл	M±m	13,47±0,50	13,16±0,55	13,61±0,53
Кількість живих плодів в приплоді	M±m	11,00±0,64	11,63±0,74	11,89±0,85
Кількість зародків, які загинули до імплантації	M±m	1,95±0,54	1,00±0,33	1,00±0,37

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 3, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
% доімплантаційної загибелі	M±m	14,17±4,01	9,94±4,57	9,49±4,32
Кількість загиблих після імплантації зародків, плодів	M±m	0,58±0,19	0,53±0,14	0,67±0,21
% постімплантаційної загибелі	M±m	4,34±1,37	3,89±1,02	4,98±1,55
Загальна маса послідів, г	M±m	40,16±2,30	43,93±2,79	43,77±3,01
Середня маса плодів, г	M±m	3,66±0,05	3,79±0,04	3,70±0,04
n	-	19	19	18

Примітка. $p > 0,05$.

Таблиця А.4

Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, спарених із самцями, які отримували лямбда-цигалотрин № 4

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 4, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість жовтих тіл	M±m	13,20±0,46	13,47±0,47	13,39±0,43
Кількість живих плодів в приплоді	M±m	11,55±0,55	11,79±0,59	12,44±0,38
Кількість зародків, які загинули до імплантації	M±m	1,05±0,29	0,95±0,30	0,61±0,19
% доімплантаційної загибелі	M±m	8,40±2,44	7,51±2,62	4,23±1,32

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 4, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість загиблих після імплантації зародків, плодів	M±m	0,60±0,13	0,74±0,19	0,33±0,11
% постімплантаційної загибелі	M±m	4,31±0,95	5,40±1,42	2,33±0,76
Загальна маса послідів, г	M±m	40,42±1,90	40,48±1,90	42,69±1,16
Середня маса плодів, г	M±m	3,50±0,04	3,45±0,04	3,44±0,05
n	-	20	19	18

Примітка. $p > 0,05$.

Таблиця А.5

Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, спарених із самцями, які отримували лямбда-цигалотрин № 5

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 5, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість жовтих тіл	M±m	14,00±0,69	13,35±0,49	13,50±0,43
Кількість живих плодів в приплоді	M±m	11,28±0,54	9,65±0,72	10,94±0,51
Кількість зародків, які загинули до імплантації	M±m	1,61±0,43	2,53±0,45	1,56±0,44
% доімплантаційної загибелі	M±m	10,67±2,81	18,77±3,23	10,8±2,95
Кількість загиблих після імплантації зародків, плодів	M±m	1,11±0,25	1,18±0,35	1,00±0,26

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 5, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
% постімплантаційної загибелі	M±m	7,49±1,64	9,08±2,79	7,85±2,21
Загальна маса послідів, г	M±m	38,94±2,43	34,34±2,41	38,87±2,07
Середня маса плодів, г	M±m	3,45±0,13	3,60±0,10	3,56±0,11
n	-	18	17	16

Примітка. $p > 0,05$.

Таблиця А.6

Сумарні показники стану репродуктивної функції інтактних самиць, спарених із самцями, які отримували лямбда-цигалотрин № 5

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦТ 5, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Кількість жовтих тіл	M±m	13,63±0,42	14,25±0,43	13,58±0,36
Кількість живих плодів в приплоді	M±m	11,74±0,61	12,15±0,69	11,68±0,54
Кількість зародків, які загинули до імплантації	M±m	1,58±0,58	1,35±0,43	1,47±0,56
% доімплантаційної загибелі	M±m	11,32±4,16	10,00±3,73	10,21±3,92
Кількість загиблих після імплантації зародків, плодів	M±m	0,32±0,13	0,75±0,33	0,42±0,12
% постімплантаційної загибелі	M±m	2,24±0,94	4,82±2,11	3,04±0,84
Загальна маса послідів, г	M±m	41,67±2,14	42,89±2,47	40,30±2,26

Показники	Стат. показники	Доза ЛЦГ 5, мг/кг		
		0,0	0,3	3,0
Середня маса плодів, г	M±m	3,57±0,05	3,41±0,14	3,46±0,11
n	-	19	20	19

Примітка. $p > 0,05$.

Таблиця А.7

Тривалість прекоїтального інтервалу в контрольних, піддослідних та інтактних самиць

Тривалість прекоїтального інтервалу, дні	Доза, мг/кг	Статистичні показники	ЛЦТ1	ЛЦТ2	ЛЦТ3	ЛЦТ4	ЛЦТ5	ЛЦТ6
Контрольні самиці	0,0	M±m	3,10±0,63	3,45±0,83	4,05±0,97	3,10±0,74	3,05±0,76	3,00±0,35
Піддослідні самиці	0,3	M±m	4,50±1,24	2,45±0,64	2,15±0,24	3,00±0,67	2,85±0,72	2,50±0,26
	3,0	M±m	3,20±0,75	3,30±0,76	3,35±0,72	3,10±0,73	1,85±0,38	2,70±0,22
Інтактні самиці	0,3	M±m	3,60±0,82	4,50±1,06	4,10±0,80	5,00±1,18	2,75±1,10	2,45±0,27
	3,0	M±m	4,25±0,85	4,21±1,00	2,80±0,19	3,00±0,74	2,40±0,53	2,35±0,25

Примітка. p>0,05.

Таблиця А.8

Динаміка маси тіла інтактних самиць під час вагітності

Досліджувані субстанції	Дні вагітності	Статистичні показники	Дози мг/кг		
			0,0	0,3	3,0
ЛЦТ1	0	M±m	207,65±2,85	215,70±3,04	214,50±3,68
	20	M±m	303,35±3,88	310,20±4,37	301,80±5,48

Продовження табл. А.8

Досліджувані субстанції	Дні вагітності	Статистичні показники	Дози мг/кг		
			0,0	0,3	3,0
ЛЦТ2	0	M±m	223,90±4,03	231,35±2,92	231,05±3,08
	20	M±m	317,05±6,36	329,65±2,97	312,95±10,34
ЛЦТ3	0	M±m	228,50±3,06	234,30±4,18	233,75±3,99
	20	M±m	327,30±4,87	332,70±6,97	326,55±8,87
ЛЦТ4	0	M±m	238,00±3,29	233,75±4,23	231,35±4,40
	20	M±m	341,55±5,20	335,40±7,39	333,90±8,34
ЛЦТ5	0	M±m	237,53±4,28	230,71±5,88	233,06±3,95
	20	M±m	329,47±7,65	325,35±9,07	319,44±6,52
ЛЦТ6	0	M±m	217,70±3,23	233,75±4,23	223,45±3,09
	20	M±m	315,20±6,49	340,40±6,07	319,90±7,99

Примітка. p>0,05.

Додаток Б
Список публікацій здобувача

1. Колянчук ЯВ. Порівняльна оцінка впливу чотирьох генеричних пестицидів лямбда-цигалотрину на 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.
3. Шепельская НР, Колянчук ЯВ. Сравнительный анализ различных методологических подходов к идентификации репродуктивной токсичности пестицидов. Вісн. проблем біології і медицини. 2018;(3):238-46.
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.
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.
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, Koliianchuk 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.

Додаток В

Апробація результатів 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.).

Додаток Д

Акти впровадження результатів дослідження



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Комісія з питань державної санітарно-епідеміологічної експертизи пестицидів та агрохімікатів

при Головному державному санітарному лікареві України

№ 387/1 від 03.06.2019

ВИСНОВОК

Комісії з питань державної санітарно-епідеміологічної експертизи пестицидів та агрохімікатів

Голова Комісії – академік НАН та НАМН України, проф.Ю.І.Кундієв
Інститут медицини праці НАМН України
Тел.(044)2843427

Заступник голови Комісії – член-кор. НАМН України, проф.В.Г.Бардов
Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
Тел.(044)4838345

Заступник голови Комісії – член-кор. НАМН України, проф.М.Г.Проданчук
Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя
Міністерства охорони здоров'я України
Тел.(044)5269700

Вчений секретар Комісії – к.б.н. Недопитанська Н.М.
Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя
Міністерства охорони здоров'я України
Тел.(044)2597628
E-mail: utox.medved@gmail.com

Матеріали досліджень на тему: «Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для щурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу» Колянчук Я.В., проведені як фрагмент досліджень на виконання умов експериментальної реєстрації препаратів Стайліс ЕС, КЕ (лямбда-цигалотрин, 50 г/л), Контадор Дуо, КС (імідаклаприд, 300г/л + лямбда-цигалотрин, 100 г/л) та Еспада, КС (ацетаміприд, 200 г/л + лямбда-цигалотрин, 150 г/л), ураховані під час державної санітарно-епідеміологічної експертизи реєстраційних матеріалів інсектицидів, за результатами якої погоджено їх включення до «Переліку пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні» зі статусом «постійна реєстрація» та видано відповідні висновки від 29.12.2017 р. №602-123-20-6/41160, 15.02.2018 р. №602-123-20-6/5788 та 09.09.2019 р. №12.2-18-6/20094.

Заступник голови Комісії

Бардов В.Г.

Вчений секретар Комісії

Недопитанська Н.М.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
КОМІТЕТ З ПИТАНЬ ГІГІЄНИЧНОГО РЕГЛАМЕНТУВАННЯ

01033, м. Київ, вул. Сакаганського, 75, телефон (044) 289-36-43, Е-mail: info@uhrc.gov.ua;
 web:<http://w.w.w.uhrc.gov.ua>

03.12.19 № 472

На № _____ від _____

Заступнику директора
 ДП «Науковий центр
 превентивної токсикології,
 харчової та хімічної
 безпеки імені академіка
 Л.І. Медведя Міністерства
 охорони здоров'я України»
 Бережнову С.П.

Висновок

Дослідження Колянчук Я.В. на тему: «Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для щурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу», проведені на виконання умов експериментальної реєстрації інсектицидів Стайліс ЕС, КЕ (лямбда-цигалотрин, 50 г/л), Контадор Дуо, КС (імідаклапрід, 300г/л + лямбда-цигалотрин, 100 г/л) та Еспада, КС (ацетаміпрід, 200 г/л + лямбда-цигалотрин, 150 г/л), ураховані під час токсиколого-гігієнічної оцінки та регламентації умов безпечного застосування інсектицидів.

Директор

Р.В. Коваль

Головний лікар Київської міської
клінічної лікарні швидкої медичної
допомоги

О.А. Ткаченко
« 15 » _____ 20 19 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до лікувально-діагностичного процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для щурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу».
2. **Установа, автори:** ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», відділ «Інститут експериментальної токсикології і медико-біологічних досліджень», молодший науковий співробітник Колянчук Яна Віталіївна.
3. **Джерела інформації:** Рашківська І.О. Колянчук Я.В., Шепельская Н.Р., Проданчук Н.Г., Бубало Н.Н., Петрашенко Г.И. Модулирующее действие пестицида лямбда-цигалотрина в исследовании репродуктивной токсичности на самцах и самках крыс Wistar Han // «Вісник проблем біології і медицини», 2019. - № 3(152). – С. 127-131.
4. **Де та коли впроваджено:** у лікувально-діагностичний процес підрозділів токсикологічного профілю лікарні (токсикологічної лабораторії, відділення токсикології, відділення інтенсивної терапії та екстракорпоральної детоксикації) у період 2019-2020 рр.
7. **Результати впровадження:** Використання результатів дослідження у навчальному процесі на науковій роботі дозволяє поглибити знання практичних лікарів про механізми репродуктивної токсичності пестицидів, зокрема синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину.
5. **Термін впровадження:** 2019-2020 рр.
6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги.

Заступник головного лікаря з
організаційно-методичної роботи

Н.Ф. Гайворонська

Завідувач токсикологічної лабораторії

Л.Т. Лукашевич



Начальник Української
військово-медичної академії
д.мед.н., професор

В.Л. Савицький

« 12 » 10 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для шурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу».
2. **Установа, автори:** ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», відділ «Інститут експериментальної токсикології і медико-біологічних досліджень», молодший науковий співробітник Коляничук Яна Віталіївна.
 1. **Джерела інформації:** Рашківська І.О. Коляничук Я.В., Шепельская Н.Р., Проданчук Н.Г., Бубало Н.Н., Петрашенко Г.И. Модулирующее действие пестицида лямбда-цигалотрина в исследовании репродуктивной токсичности на самцах и самках крыс Wistar Han // «Вісник проблем біології і медицини», 2019. - № 3(152). – С. 127-131.
3. **Де та коли впроваджено:** у навчальний матеріал програми спеціалізації за спеціальністю «Токсикологія» кафедри військової токсикології, радіології та медичного захисту Української військово-медичної академії впродовж 2019-2020 навчального року.
4. **Результати впровадження:** Використання результатів дослідження у навчальному процесі та науковій роботі дозволяє поглибити знання про механізми репродуктивної токсичності пестицидів, зокрема синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину.
5. **Термін впровадження:** 2019-2020 рр.
6. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедри військової токсикології, радіології та медичного захисту Української військово-медичної академії.

Начальник кафедри, д.мед.н.,
професор, полковник м/с

Старший викладач кафедри

Л.А. Устінова

О.А. Євтодсьєв

В.О. Декана медичного факультету
Харківського національного
університету імені В.Н. Каразіна
д.мед.н., доцент

О.О. Власенко
«04» _____ 2019р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
матеріалів дисертаційної роботи до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** «Репродуктивна токсичність генеричних зразків синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину для щурів Wistar Hannover при дії в період гаметогенезу».
2. **Установа, автори:** ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», відділ «Інститут експериментальної токсикології і медико-біологічних досліджень», молодший науковий співробітник Колянчук Яна Віталіївна.
3. **Джерела інформації:**
Колянчук Я.В., Шепельська Н.Р. Порівняльний аналіз різних методологічних підходів до ідентифікації репродуктивної токсичності пестицидів // «Вісник проблем біології і медицини», 2018. - № 3(145). – С. 238-246
Колянчук Я.В., Проданчук М.Г., Шепельська Н.Р., Евтушенко Т.В. Необоротність антиандрогенного ефекту лямбда-цигалотрину після відновлювального періоду в дослідженні на самцях щурів Wistar Han // «Вісник проблем біології і медицини», 2018. - № 4(147). – С. 173-181.
4. **Де та коли впроваджено:** у навчальний матеріал курсів «Професійні хвороби» впродовж 2019-2020 навчального року.
5. **Результати впровадження:** Використання результатів дослідження у навчальному процесі та науковій роботі дозволяє поглибити знання про механізми репродуктивної токсичності пестицидів, зокрема синтетичного піретроїду лямбда-цигалотрину.
6. **Термін впровадження:** 2019-2020 рр.
7. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра загальної практики – сімейної медицини факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна.

Завідувач кафедри, д.мед.н.,
Професор

Є.Я. Ніколенко

Секретар кафедри

Н.О. Пилипенко