

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
МИНИСТЕРСТВА ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ  
И ИННОВАЦИЙ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
"ALFRAGANUS UNIVERSITY"  
НЕГОСУДАРСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**ЗОКИРОВА НАРГИЗА БАХОДИРОВНА**

**ПОСТНАТАЛЬНОЕ СТАНОВЛЕНИЕ ГИПОФИЗАРНО-ТИРОИДНО-  
НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА В УСЛОВИЯХ  
ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА ОРГАНИЗМ  
МАТЕРИ**

**МОНОГРАФИЯ**

**ТАШКЕНТ – 2026**

**ЗОКИРОВА Н.Б.**

**Постнатальное становление гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери**

Зокирова Н.Б. /Монография/ -Ташкент. 2025г. стр-151

В монографии обобщены факты развития развитие гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства, которые могут служить основанием для разработки эффективных путей профилактики и лечения детей, подростков с различными дисфункциями гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства. В работе использована адекватная экспериментальная модель внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов хронического введения их крысам самкам в периоды беременности и лактации. Результаты исследования также могут быть использованы в учебном процессе в медицинских институтах на курсах по гистологии, патологической физиологии и эндокринологии при раскрытии иммунно-эндокринных взаимоотношений.

**РЕЦЕНЗЕНТЫ:**

1. Адилбекова Д.Б. - профессор кафедры анатомии и клинической анатомии Ташкенткой медицинской академии
2. Расулов Х.А. - профессор, заведующей кафедры анатомии и патологической анатомии, Ташкентского педиатрического медицинского института

Монография утверждена и рекомендована в научно-техническом Совете Alfraganus university.

---

Протокол заседания №5 от 15 января 2025года.

**ISBN 978-9910-712-99-9**

© Зокирова Н.Б.

© "ALFRAGANUS UNIVERSIYU NASHRIYOT MATBAA IJODIY UYI", 2025

## АННОТАЦИЯ

*Тадқиқот жараёнида олинган кичик дозали пестицидларнинг ҳомиладорлик ва постнатал даврларда таъсир этиши оқибатидаги «эндокрин-бузувчи» таъсиридан далолат берувчи натижалар бўйича чақалоқлар ва болаларда эндокрин бузилишларнинг олдини олиш, эрта таъхислаш ва прогнозлаш усуллари ишлаб чиқилган. Тажрибада интоксикациянинг клиник симптомлари мавжуд бўлмаганда кичик дозадаги пестицидлар таъсир этишининг яширин токсик самарасини аниқлаш бўйича мониторинг тадқиқотлар ўтказиш зарурияти асосланган. Одам ва ҳайвон организмга ташқи муҳитни ифлослантирувчи моддалар таъсирининг салбий асоратларини баъшоратлаш борасидаги янги далиллар фундаментал-амалий аҳамиятга эгалиги исботланган. Монография умумий амалиёт шифокорлари ва барча тиббиёт ходимлари учун мўлжалланган ва берилган назарий материални ўзлаштиришни анча енгиллаштирувчи расмлар, жадвал ва диаграммалар билан жиҳозланган.*

*На основе полученных результатов, свидетельствующих об «эндокрин-разрушающем» эффекте внутриутробного и раннего постнатального воздействия малых доз пестицидов, разработаны некоторые методы ранней диагностики и прогноза эндокринных нарушений у новорожденных и детей. Полученные данные являются обоснованием для проведения мониторинговых исследований по выявлению скрытых токсических эффектов воздействия малых доз пестицидов при отсутствии клинических симптомов интоксикации. Доказана фундаментально-прикладная значимость результатов работы в виде новых данных для прогнозирования последствий действия загрязнителей окружающей среды на организм человека и животных. Монография предназначена для врачей общей практики и всех работников здравоохранения и снабжена рисунками, таблицами и диаграммами, которые значительно облегчают усвоение изложенного теоретического материала.*

*Based on the obtained results, indicating the “endocrine-destroying” effect of intrauterine and early postnatal exposure to small doses of pesticides, some methods for early diagnosis and prognosis of endocrine disorders in newborns and children have been developed. The obtained data provide a rationale for conducting monitoring studies to identify hidden toxic effects of exposure to small doses of pesticides in the absence of clinical symptoms of intoxication. The fundamental and applied significance of the results of the work in the form of new data for predicting the effects of environmental pollutants on the human and animal organisms has been proven. The monograph is intended for general practitioners and all health workers and is provided with figures, tables and diagrams that significantly facilitate the assimilation of the presented theoretical material.*

## ВВЕДЕНИЕ

*Эндокринная система, так же, как и нервная и иммунные системы, является чрезвычайно чувствительной к действию загрязнителей окружающей среды. Восприимчивость этих систем к токсическому воздействию особенно велика в эмбриональном и раннем постнатальном периодах жизни, когда идет закладка, рост и становление всех органов и систем организма. Пестициды являются одним из самых распространенных загрязнителей окружающей среды, и в реальной жизни организм, в том числе, беременных женщин и детей, непременно подвергается длительному воздействию небольших доз пестицидов и их метаболитов. Это обуславливает чрезвычайную актуальность проблемы выявления и предотвращения отрицательных последствий воздействия пестицидов на организм человека и животных.*

*Работа посвящена именно этой проблеме – выяснению структурно-функциональных механизмов негативного влияния современных пестицидов, через организм матери, на постнатальное развитие гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства. В работе использована адекватная экспериментальная модель внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов путем хронического введения их крысам самкам в периоды беременности и лактации. Для достижения цели автором применены самые современные морфологические методы, включая иммуногистохимию и иммуноферментный анализ. Анализ результатов комплексных исследований позволил получить новые данные, раскрывающие некоторые структурно-функциональные механизмы внутриутробного и раннего постнатального воздействия малых доз пестицидов на становление эндокринной системы потомства. Эти данные являются обоснованием для назначения тех или иных патогенетических способов предупреждения и лечения возможных негативных последствий токсического эффекта. Новые данные, имеющие несомненную научно-прикладную ценность, внедрены в практику. Внедрение их в практику способствовало оптимизации учебного процесса, разработке методов ранней диагностики и прогнозирования токсического эффекта воздействия пестицидов в раннем периоде жизни.*

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	
Глава I. ЭНДОКРИН-РАЗРУШАЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ.....	8
§1.1. Концепция об «эндокрин-разрушающих» веществах окружающей среды	
§1.2. Эффект «эндокрин-разрушающих» веществ на гипофизарно-тироидную систему .....	
§1.3. Влияние «эндокрин-разрушающих» веществ на гипофизарно-адреналовую систему.....	
§1.4. Пестициды как потенциальные «эндокрин-разрушающие» вещества	
Глава II. ТОКСИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ПЕСТИЦИДОВ .....	32
§2.1. Ламбда-цигалотрин (титан) .....	
§2.2. Фипронил (вигор).....	
Глава III. МЕТОДОЛОГИЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭНДОКРИН-РАЗРУША-ЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ПЕСТИЦИДОВ .....	40
§3.1. Экспериментальные животные и постановка опытов .....	
§3.2. Методы исследования .....	
3.2.1. Световая микроскопия и полутонкие срезы.....	
3.2.2. Электронная микроскопия .....	
3.2.3. Морфометрия .....	
3.2.4. Иммуногистохимия .....	
3.2.5. Определение гормонов .....	
3.2.6. Статистическая обработка .....	
Глава IV. ЭФФЕКТ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ГИПОФИЗАРНО-ТИРОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА	46
§4.1. Данные общей морфологии .....	
§4.2. Ультраструктура клеток щитовидной железы.....	
§4.3. Результаты морфометрических исследований .....	
§4.4. Апоптоз и пролиферация клеток щитовидной железы .....	
§4.5. Концентрация гормонов гипофизарно-тироидной системы .....	
Глава V. ЭФФЕКТ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА	86
§5.1. Данные общей морфологии .....	
§5.2. Ультраструктура клеток коры надпочечников .....	
§5.3. Результаты морфометрических исследований .....	
§5.4. Апоптоз и пролиферация клеток коры надпочечников .....	
§5.5. Уровень гормонов гипофизарно-адреналовой системы .....	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	112
ВЫВОДЫ .....	124
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	127

## TABLE OF CONTENTS

<b>INTRODUCTION .....</b>	
<b>CHAPTER I. ENDOCRINE-DISRUPTING CHEMICALS IN THE ENVIRONMENT AND THEIR EFFECTS ON HUMANS AND ANIMALS .....</b>	<b>8</b>
§1.1. Concept of environmental endocrine-disrupting chemicals	
§1.2. Effects of endocrine disruptors on the hypothalamic-thyroid system	
§1.3. Effects of endocrine disruptors on the hypothalamic-adrenal system	
§1.4. Pesticides as potential endocrine-disrupting chemicals	
<b>CHAPTER II. TOXICOLOGICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF APPLIED PESTICIDES .....</b>	<b>32</b>
§2.1. Lambda-cyhalothrin (Titan)	
§2.2. Fipronil (Vigor)	
<b>CHAPTER III. METHODOLOGY FOR STUDYING THE ENDOCRINE-DISRUPTING EFFECTS OF PESTICIDES .....</b>	<b>40</b>
§3.1. Experimental animals and study design	
§3.2. Research methods	
3.2.1. Light microscopy and semi-thin sections	
3.2.2. Electron microscopy	
3.2.3. Morphometry	
3.2.4. Immunohistochemistry	
3.2.5. Hormonal analysis	
3.2.6. Statistical analysis	
<b>CHAPTER IV. EFFECTS OF CHRONIC PESTICIDE EXPOSURE ON THE DEVELOPMENT OF THE HYPOTHALAMIC-THYROID SYSTEM IN OFFSPRING .....</b>	<b>46</b>
§4.1. General morphological data	
§4.2. Ultrastructure of thyroid cells	
§4.3. Results of morphometric studies	
§4.4. Apoptosis and proliferation of thyroid cells	
§4.5. Concentrations of hypothalamic-thyroid system hormones	
<b>CHAPTER V. EFFECTS OF CHRONIC PESTICIDE EXPOSURE ON THE DEVELOPMENT OF THE HYPOTHALAMIC-ADRENAL SYSTEM IN OFFSPRING .....</b>	<b>86</b>
§5.1. General morphological data	
§5.2. Ultrastructure of adrenal cortex cells	
§5.3. Results of morphometric studies	
§5.4. Apoptosis and proliferation of adrenal cortex cells	
§5.5. Levels of hypothalamic-adrenal system hormones	
<b>CONCLUSION .....</b>	
<b>RESULTS .....</b>	
<b>LIST OF REFERENCES .....</b>	
	112
	124
	127

## СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКТГ – адренокортикотропный гормон

Ап – апоптоз

АР – андрогенный рецептор

ДДТ – дихлордифенилтрихлорэтан

ГХБ – гексахлорбензол

ГР – гормон роста

ГГН – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось

ГКС – глюкокортикоид

ЗЭС – зернистая эндоплазматическая сеть

Кор – кортизол

КГ – комплекс Гольджи

Кол – коллоид

Л – лизосома

ЛСТ – ламбда-цигалотрин

М – митохондрия

Мв – микроворсинки

НФ – нонилфенол

СГ – соматотропный гормон

СВ – секреторная вакуоль

ТГ – тиреоидные гормоны

ТТГ – тиротропный гормон

ТСГ – тиросвязывающий глобулин

ТТР – транстиретин

ФПН – фипронил

ЭРХ – эндокрин-разрушающий химикат

ЭРП – эндокрин-разрушающий пестицид

Я – ядро

# **Глава I. ЭНДОКРИН-РАЗРУШАЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

## **§1.1. Концепция об «эндокрин-разрушающих» веществах окружающей среды**

Уже более два десятилетия в мировой литературе используется термин «эндокрин-разрушающие химикаты, ЭРХ» или «эндокрин-разрушители, ЭР» (endocrine-disrupting chemicals, or endocrine disruptors), принятый агентством по охране окружающей среды США в 1991 году [52; с. 599-611, 71; с.293-342.]. Этот термин объединяет все химические вещества, которые в организме человека и животных изменяют процессы синтеза, секреции, транспорта, метаболизма естественных гормонов и, тем самым, приводят к нарушению гормонального гомеостаза [104; с.235-259]. Эндокрин-разрушающим действием обладают и многие пестициды, в том числе и последних поколений, а также бытовые химикаты и некоторые лекарственные препараты. Известно более ста пестицидов, из которых около 80% составляют широко используемые инсектициды и фунгициды, оказывающие то или иное эндокрин-разрушающее действие [134; с.2265-2303]. Эндокрин-разрушающее действие большинства химикатов обусловлено с их способностью связаться с рецепторами гормона. В частности, ЭРХ могут связывать и активировать рецепторы различных гормонов (андроген-рецептор, эстроген-рецептор и другие), а затем имитировать действие естественного гормона (агонистное действие). В других случаях ЭРХ также могут связаться с этими рецепторами, но только без активации. Напротив, при этом ЭРХ блокируют места связи рецептора с гормоном и тем самым препятствуют действию естественных гормонов (антагонистное действие). И наконец, ЭРХ может также нарушать процессы, связанные с синтезом, транспортом, метаболизмом и утилизацией гормонов, снижая, тем самым, концентрацию естественных гормонов [133; с.369-385].

Изучение биологических эффектов ЭРХ у животных показало, что даже низкие уровни их воздействия оказывают сходные эффекты и у человека. Все



это, естественно, стимулирует интерес исследователей к изучению механизмов действия ЭРХ и тех последствий, которые они вызывают у животных и человека [71; с. 293-342]. К числу ЭРХ относят различные классы химических веществ антропогенного происхождения: пестициды (ДДТ и его метаболиты), полихлорированные бифенилы, бисфенол, полибромидные дифениловые эфиры, фталаты и другие вещества (гормоны и наполнители растительного происхождения, содержащиеся в пищевых продуктах; различные соединения, используемые для производства пластмассовых изделий, потребительских товаров; другие промышленные загрязнители окружающей среды). Известно, что некоторые ЭРХ способны длительное время сохраняться в окружающей среде, накапливаться в клетках и тканях животных и человека, постоянно воздействуя на них и нарушая механизмы их гормональной регуляции. Считают, что они способствуют возникновению злокачественных опухолей, нейропсихических нарушений и других заболеваний [40; с. 78-89].

Результаты экспериментов на животных, клинических наблюдений и эпидемиологических исследований свидетельствуют о том, что воздействие ЭРХ представляет серьезную угрозу для общественного здравоохранения. Согласно современным представлениям, механизмы действия гормонов опосредуются через рецепторы гормонов [2; с. 496]. Стероидные и тиреоидные гормоны, а также ретиноиды свободно проникают через двойной липофильный слой плазмолеммы клетки и взаимодействуют с рецепторами, расположенными в ядре. Активированные ядерные рецепторы изменяют транскрипцию специфических генов. Это ведет к изменению уровня экспрессии белков в клетках. Растворимые же в воде гормоны, такие, как пептидные и полипептидные, катехоламины и другие нейротрансмиттеры, а также относительно гидрофобные простагландины, взаимодействуют с рецепторами, расположенными на плазмолемме клеток. После связывания с гормоном активированные мембранные рецепторы инициируют каскады передачи сигнала внутри клетки, что ведет к изменению активности ее ферментных комплексов и, в конечном итоге, к изменению экспрессии генов [4; с. 496].

Кроме того, известно, что рецепторы гормонов могут связываться не только с гормонами, но и с различными молекулами негормональной природы, и реагировать на них. В основе механизма действия ЭРХ лежит их общее свойство специфически соединяться в качестве лигандов с гормональными рецепторами клеток, которые, в итоге, отвечают на эти сигналы гормоноподобными эффектами [71; с. 293-342]. Учитывая возможность постоянного поступления ЭРХ с водой, воздухом, продуктами питания, и кумуляции жирорастворимых ЭРХ в клетках и тканях живых организмов, создаются условия для их длительного действия, подменяющего целенаправленное выделение собственных гормонов. Это приводит к нарушению деятельности тех или иных эндокринных желез, следовательно, к изменению функционирования гормонально зависимых клеток-мишеней. Действие ЭРХ не ограничивается только нарушениями гормональной регуляции функций организма. Известно, что многие нейроны центральной и периферической нервной системы, наряду с медиаторами, выделяют и пептидные гормоны [11; с. 17-18. 12; с. 24-26. 13; с. 9-12. 14; с. 31-53.50; с.52-66.205; с. 1817-1818]. Эндокринные клетки имеются и в тимусе. Кроме того, известна взаимная связь между нейроэндокринной и иммунной системами организма. Так, гормоны влияют на иммунную систему, а цитокины – биологически активные вещества, выделяемые клетками иммунной системы, – действуют на нейроэндокринные функции. Более того, иммунocyты сами выделяют некоторые гормоны – адренокортикотропный, 5-эндорфин, пролактин, рилизинг-фактор для лютеинизирующего гормона, которые ранее считались продуктами секреции только пептидэргических нейронов и клеток гипофиза [4; с. 496]. Все это свидетельствует о том, что ЭРХ могут выступать как системные нейроэндокринные и иммунные «загрязнители», существенно нарушая течение регуляторных процессов в организме животных и человека. Таким образом, возникают стойкие нарушения не только всего комплекса гомеостатических механизмов регуляции, осуществляемой эндокринной, нервной и иммунной системами, но и систем органов, ответственных за детоксикацию ЭРХ и их выведение из организма. Этим объясняется

системная множественность и разнообразность поражений ЭРХ жизненно важных процессов, начиная с генома клеток и кончая комплексом гормонально зависимых клеток-мишеней [29; с.56-60. 30; с.14-29].

Следовательно, говоря о механизмах действия ЭРХ, можно предполагать их прямое влияние на гормональные рецепторы эндокринных клеток и не прямое – эффект, обусловленный нарушением функциональной деятельности гормонально зависимых клеток-мишеней, а также органов, ответственных за детоксикацию и выведение ЭРХ. Однако нельзя исключить и цитотоксические эффекты химических ЭРХ, то есть, расстройство гомеостатических механизмов регуляции фундаментальных процессов жизнедеятельности в организмах животных и человека. Вместе с тем, степень нарушений функций организма может зависеть от химических и биологических свойств ЭРХ, а именно: растворимости в биологических средах, способности накапливаться в клетках и тканях, а также от характера взаимодействий ЭРХ с гормональными рецепторами, расположенными в ядре клеток или на их плазматических мембранах.

Таким образом, ЭРХ являются веществами, относящимися к полным или частичным агонистам гормонов, а также антагонистам, которые, взаимодействуя с гормональными рецепторами клеток, способны нарушать механизмы регуляции жизнедеятельности организмов.

ЭРХ способны в той или иной мере нарушать механизмы регуляции живых организмов, то есть, их защитных биологических реакций. Биологические защитные реакции, несмотря на их многообразие, имеют общий план структурно-функциональной организации. Так, любая биологическая защитная реакция, как система регуляции, включает в себя три звена: первое – рецепторное (восприятие раздражения или информации о состоянии внешней или внутренней среды организма); второе – промежуточное (анализ полученной информации и подготовка к ответной реакции), третье – завершающее эффекторное действие[29; с.56-60]. Действие ЭРХ начинается с первого звена биологической защитной реакции –

гормональных рецепторов клеток. Рецепторы стероидных и тироидных гормонов локализуются в ядре клеток, и гормональный сигнал передается с рецептора на определенные гены, вызывая целенаправленную экспрессию мРНК. Гормональные рецепторы к пептидным гормонам, гормонам-нейротрансмиттерам и относительно гидрофобным простагландинам располагаются на плазматической мембране клеток, и гормональный сигнал через цитоплазматические ферментные комплексы в конечном итоге меняет экспрессию генов [4; с.496]. Из этого следует, что эффекты ЭРХ могут зависеть от специфики гормональных рецепторов, специфики сигнальных путей клеток и особенностей ответа эффекторных структур организма. Таким образом, ЭРХ затрагивают функционирование всех звеньев биологических защитных реакций живых организмов. Это и определяет биологическую стратегию исследования ЭРХ. Ее реализация даст возможность получать сопоставимые результаты относительно биологического действия различных классов ЭРХ, оценивать последствия их действия, и позволит разрабатывать мероприятия, в полном объеме направленные на сохранение здоровья животных и человека.

К числу наиболее распространенных ЭРХ, содержащихся в окружающей среде, живых организмах и продуктах питания, относится пестицид дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ). Хотя во многих странах использование ДДТ запрещено или ограничено, тем не менее, низкая себестоимость и высокая эффективность против различных насекомых вновь заставляет прибегнуть к данному препарату. Предполагается, что ДДТ и его метаболиты, обладая свойством растворяться в жирах, способны изменять секрецию стероидных гормонов, включающих в себя кортикостероиды и половые гормоны [29; с.56-60]. Кроме ДДТ, эндокрин-разрушающими свойствами обладают многие химические соединения, которые загрязняют окружающую среду. К их числу относят диоксины, полихлорированные бифенилы [52; с.599-611], бисфенол, полибромидные дифениловые эфиры, фталаты, акриламиды [108; с.151-157] и др. Эти соединения активно изучаются, их

эндокрин-разрушающим свойствам посвящены многочисленные обзоры. За последние годы появились работы, рассматривающие экологическое воздействие токсикантов с позиций эпигенетических изменений, которые, в свою очередь, связаны с повышенной восприимчивостью к болезням [102; с.111-120].

## **§1.2. Эффект «эндокрин-разрушающих» веществ на гипофизарно-тиреоидную систему**

Гормоны щитовидной железы участвуют во многих физиологических процессах как регуляторы обмена веществ и деятельности практически всех систем организма. Тиреоидные гормоны играют особую роль в развитии плода, так как развитие мозга зависит от нормального уровня гормонов щитовидной железы. Дефицит гормонов щитовидной железы снижает рост и дифференцировку нейронов в коре головного мозга, гиппокампе и мозжечке плода [39; с.4037-4047.118; с.1073-1082.139; с.13-23]. Следовательно, поддержание гормонального гомеостаза щитовидной железы имеет важнейшее значение для нормального внутриутробного развития нервной системы, психологического и физиологического благополучия будущего ребенка.

В первой половине беременности тиреоидные гормоны плод практически полностью получает из крови матери, через плаценту. Состояние функции щитовидной железы матери продолжает играть существенную роль в развитие плода и во второй половине беременности [51; с.385-391]. Эпидемиологические исследования показали, что даже незначительное снижение уровня тироксина у беременной женщины может привести к сокращению когнитивных функций потомства [43; с.511-519.149; с.282-288]. Таким образом, даже незначительные структурно-функциональные изменения в щитовидной железе матери могут отрицательно повлиять на развитие нервной системы плода. Воздействуя на щитовидную железу беременных женщин, ЭРХ могут привести к различным тиреоидным дисфункциям, которые, в свою очередь, могут иметь серьезные последствия для здоровья значительных групп населения.

Функция щитовидной железы регулируется тонко настроенным механизмом циркуляции тироидных гормонов на уровнях гипоталамуса и гипофиза, обеспечивая поддержание относительно стабильных сывороточных уровней гормонов щитовидной железы, каждый из которых имеет свои конкретные задачи в этом механизме [81; с.50-61]. Любые изменения в самой щитовидной железе, в связывающих белках, в периферическом метаболизме и клиренсе, также оказывают своё влияние на функцию щитовидной железы. Таким образом, механизмы, участвующие в гомеостазе щитовидной железы, многочисленны и сложны, и экологические вредные химические вещества могут влиять на всех уровнях [81; с. 50-61]. На уровне самой щитовидной железы ЭРХ могут нарушить общую активность железы путём воздействия на рецепторы тиротропного гормона (ТТГ), тем самым стимулируя, или наоборот, ингибируя этапы производства тироидных гормонов [82; с.50-61].

ЭРХ могут также связываться с другими рецепторами тироцитов, в результате чего может последовать цепь изменений внутриклеточных механизмов синтеза тироидных гормонов (например, воздействие цитокинов). Гормоны щитовидной железы в организме транспортируются в связанном виде с белками-носителями (главным образом глобулином, и, в меньшей степени – с транстиретином). Ряд ЭРХ, в частности полихлорированные бифенилы и их метаболиты, связывается с этими транспортными белками и вытесняет тироксин, тем самым нарушая гомеостаз тироидных гормонов [82; с.50-61].

В клетках-мишенях тироидные гормоны активно транспортируются через клеточную поверхность с помощью мембранно-связанных перевозчиков. Воздействие ЭРХ на эти белки может привести к нарушению доступности гормонов щитовидной железы для клеток-мишеней путем блокирования их рецепторов [51; с.385-391]. Среди ЭРХ, оказывающих преимущественное отрицательное воздействие на щитовидную железу, самыми многочисленными являются пестициды. Так, доказано, что как стойкие хлорорганические пестициды, так и неустойчивые, такие как фосфорорганические, карбаматы и пиретроиды, могут

оказывать негативное влияние на функцию щитовидной железы. Многочисленные эксперименты на животных и токсикологические исследования показали, что некоторые пестициды обладают разрушающими свойствами в отношении щитовидной железы. Среди стойких химических веществ дихлордифенил-трихлорэтан (ДДТ) и его метаболиты, гексахлорбензол (ГХБ), и нонилфенол (НФ) являются одними из наиболее изученных в отношении их разрушающих последствий для щитовидной железы. Хотя использование этих химикатов уже давно запрещено во многих странах, они все еще присутствуют в окружающей среде из-за их долгого периода полураспада и непрерывного использования в некоторых странах для борьбы с вредителями, такими, как малярийные комары. Некоторые авторы при исследовании воздействия пестицидов обнаружили обратную связь между концентрацией гексахлорбензола и уровнем тиреоидных гормонов [50; с.52-66]. Многочисленные исследования на животных показали отрицательную связь между уровнем гормонов щитовидной железы и воздействием пестицидов. У крыс гормоны щитовидной железы были снижены при воздействии ДДТ [65], ГХБ [35; с.349-362. 61; с.1337-1348. 84; с.79-83.187; с.227-234], и их смеси [68; с.181-194. 153; с.21-36]. Кроме того, было выявлено, что нонилфенол снижают уровень тироксина в крови при воздействии на лосося [130; с.280-288] и ягнят [41; с.303-314]. Исследования *in vitro* показали, что фенольные соединения ингибируют активность тиреоидной пероксидазы в щитовидной железе, а также подавляют связывание тироксина с транспортными белками [114; с.29-37.167; с.95-102.202; с.110-117].

Таким образом, убедительно доказано, что пестициды, в частности, соединения хлора и фенолов, оказывают отрицательное воздействие на функциональное состояние щитовидной железы. Однако в последующем выяснилось, что ряд пестицидов новых поколений также являются эндокрин-разрушающими веществами с преимущественным влиянием на щитовидную железу. Показано, что многие пестициды класса пиретроидов (циперметрин, перметрин, фенвалерат,

тетраметрин и др.), являются потенциальными эндокрин-разрушающими веществами и оказывают отрицательное влияние на репродуктивную и иммунную систему животных и человека [44; с.999-1005. 148; с.1243-1247]. Одним из распространенных представителей пиретроидов является ламбда-цигалотрин (ЛСТ), который, как высокоэффективный инсектицид даже при малых дозах, широко используется в быту, сельском хозяйстве и здравоохранении во всем мире. Однако, эндокрин-разрушающее действие ламбда-цигалотрина стало выявляться сравнительно недавно и сообщения об этом относительно немногочисленны. Было показано, что ЛСТ в определенных дозах нарушает процесс сперматогенеза у крыс самцов, что может быть связано с нарушением гормональной регуляции репродуктивной функции у мужчин [119; с.883-889]. М. I. Yousef (2010), выявил, что ЛСТ нарушает гормональную регуляцию мужской репродуктивной системы у кроликов самцов и продемонстрировал высокую эффективность токоферола при устранении этих изменений [204; с.1152-1159]. Исследования *in vitro* обнаружили, что ламбда-цигалотрин может обладать эстрогено-подобной активностью [207; с.1194-1200]. Далее было показано, что среди пиретроидных инсектицидов ЛСТ имеет мощный антиандрогенный потенциал, который выражается в блокировании андрогенных рецепторов в условиях *in vitro* [73; с.1581-1587. 144; с.2119-2139]. Если эндокрин-разрушающее действие ламбда-цигалотрина на репродуктивную систему можно считать доказанным, то действие ЛСТ на гипоталамо-гипофизарно-тироидную ось остается еще до конца не ясным. В опытах на взрослых крысах было показано, что достаточно высокие дозы ЛСТ приводят к выраженному снижению концентрации тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ), что сопровождалось повышением уровня тиротропного гормона (ТТГ) [31; с.397-400]. Характерно, что ЛСТ способствовал также снижению соотношения  $T_4/T_3$ , чего не наблюдалось при использовании других пестицидов. При воздействии сублетальных концентраций ЛСТ в течение 45 дней у рыб также обнаружено снижение уровня тироидных гормонов и тестостерона, что сопровождалось повышением уровня кортизола [165; с.265-270].



Другим, не менее распространенным пестицидом из класса бензопиразолов является фипронил (ФПН), который обладает высокой эффективностью даже при малых дозах и широко используется в быту, сельском хозяйстве и здравоохранении во всем мире. Однако эндокрин-разрушающе-едействие ФПН было обнаружено сравнительно недавно и сообщения об этом относительно немногочисленны. Первые сообщения об ингибирующем влиянии ФПН на щитовидную железу появились в конце 90-х годов [105; с.437-445]. Автор предположил, что антитироидное действие фипронила обусловлено повышением печеночного метаболизма и усиленной экскрецией гормонов щитовидной железы [142; с.121-127]. Изучали эффект разового воздействия высоких концентраций (70, 140 и 280 мг/кг) фипронила на репродуктивную функцию самок крыс. Результаты показали, что фипронил может изменить нормальное функционирование эндокринной системы и вызывать неблагоприятные эффекты в репродуктивной системе самок крыс. Последующие исследования показали, что фипронил может действовать как ЭРХ с преимущественным отрицательным воздействием на щитовидную железу у крыс [121; с.38-44]. Было обнаружено, что фипронил увеличивает клиренс тироксина и этот эффект связан с высокой концентрацией в плазме фипронил сульфона – основного метаболита фипронила [121; с. 38-44]. В отличие от крыс, у баранов эффект фипронил-индуцированного нарушения щитовидной железы был ограничен умеренным увеличением клиренса свободного тироксина [122; с.12. 123; с.51-57]. Авторы считают, что эти различия между животными связаны с различной видовой чувствительностью животных к фипронилу и его метаболиту – фипронил сульфону. Эндокрин-разрушающий, точнее, тироид-разрушающий потенциал фипронил сульфона значительно выше, поскольку он сохраняется гораздо дольше в организме, чем сам фипронил [160; с.29-41].

Тироид-разрушающий эффект фипронила и его метаболитов, вероятно, не ограничивается лишь увеличением клиренса тироксина и трийодтиронина [83;

с.265-270]. Ferreira M. et al. (2012) показали, что у мышей при воздействии фипронила развиваются значительные изменения в ткани щитовидной железы с явной дезорганизацией структуры фолликулов, а также изменения химического состава коллоида в виде уменьшения белка. По мнению авторов, фипронил и его метаболиты могут оказать прямое токсическое действие на щитовидную железу [83; с.265-270]. Таким образом, все это вместе указывает на то, что фипронил, и особенно фипронил сульфон, обладают выраженным тироид-разрушающим эффектом.

Даже незначительные изменения в гомеостазе щитовидной железы могут оказать существенное негативное влияние на общее состояние организма. Особенно чувствительными к воздействию ЭРХ с преимущественным поражением щитовидной железы являются развивающаяся центральная нервная и эндокринная системы плода и новорождённого [39; с.4037-4047. 118; с.1073-1082. 139; с.13-23]. Отрицательные эффекты воздействия ЭРХ могут стать постоянными, если воздействие происходит в критической фазе беременности [43; с.511-519. 149; с.282-288. 163; с.172-177]. К сожалению, многие вопросы внутриутробного и раннего постнатального воздействия ЭРХ на последующее развитие плода и новорожденного остаются нерешенными.

### **§1.3. Влияние «эндокрин-разрушающих» веществ на гипоталамико-гипофизарно-адреналовую систему**

За последние десятилетия проводились многочисленные исследования относительно взаимосвязей между пренатальной жизнью в неблагоприятных условиях, массой плода при рождении и хроническими заболеваниями уже во взрослом организме, такими как метаболический синдром и нервно-психические расстройства. На основании этих доказательств возникла новая концепция происхождения заболеваний человека, основанная на истоках развития здоровья и болезни [87; с.1848-1850]. Согласно этой концепции, в основе многих заболеваний человека лежит изменение программирования регулирующих систем организма

под влиянием различных вредных факторов окружающей среды. Эндокрин-разрушающие вещества различной химической природы, несомненно, оказывают определенное влияние на структурно-функциональное состояние надпочечников [98; с.103-115.99; с.199-206]. Как это ни парадоксально, но кора надпочечных желез остается наименее изученным эндокринным органом при воздействии различных ЭРХ [102; с.111-120]. Немногочисленные исследования, проведенные с использованием различных ЭРХ (фталаты, этомидат, бисфенол-А и другие) выявили те или иные нарушения процесса стероидогенеза в клетках коры надпочечников [209; с.1165-1168.127; с.197-200]. За последние годы все больший интерес вызывают исследования, посвященные механизмам, опосредующих эндокрин-разрушающий эффект различных ЭРХ, прежде всего, фталатов [129; с.29-30]. Предполагается, что воздействие ЭРХ в эмбриональном периоде (на модели фталатов) вызывает эпигенетические изменения, которые впоследствии повышают риск возникновения различных заболеваний уже во взрослом организме [120; с.304-318]. Именно этим аспектам изучения надпочечников, то есть, их роли в развитии болезней во взрослом периоде жизни посвящено значительное число работ.

Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая (ГГН) ось является одним из наиболее важных компонентов нейроэндокринной системы и играет важную роль в защитных реакциях на стресс, который является критическим для развития и здоровья людей, до и после рождения. У большинства видов млекопитающих, созревание ГГН оси происходит в конце беременности, с резким повышением глюкокортикоидов в крови плода. Это повышение необходимо для созревания легких плода, так как оно способствует производству легочного сурфактанта. Кроме того, ГГН ось также играет важную роль в развитии многих других органов, таких как щитовидная железа, почки, головной мозг и гипофиз [135; с.391-402]. Тем не менее, возможности ГГН тесно связаны с должным уровнем глюкокортикоидов на каждой конкретной стадии созревания. В противном слу-

чае система развития органов может пойти по измененной и, возможно, неправильной траектории развития. В последние годы все большее число исследований показывает, что ГГН ось играет ключевую роль при ряде патологий. Измененные функции ГГН оси наблюдались при многих заболеваниях, таких, как депрессия [58; с.1654.115; с.203-209.166; с.220-222], сердечно-сосудистые заболевания [128; с.2078-2083], сахарный диабет и метаболический синдром [92; с.43-53].

Кроме того, было подтверждено, что дисфункция ГГН оси и некоторые болезни зрелого возраста возникают из-за неблагоприятных условий во время беременности [89; с.140-158.101; с.633-645]. Например, изменения ГГН оси, связанные с регулированием реакции на стресс, являются основными последствиями пренатального лечения синтетическими глюкокортикоидами [189; с.446-454]. Показано, что курение матери (сигаретный дым), является фактором риска при рождении, недоношенности и когнитивных функциональных дефектов у потомства [103; с.226-233.136; с.149-153. 208; с.219-241.]. Ретроспективное исследование также показывает ассоциацию пренатального воздействия дыма с ожирением, гипертонией и диабетом у потомства [64; с.355-360]. Эксперименты на животных показали, что многие «взрослые болезни», такие, как нервно-психические расстройства, метаболический синдром и болезни обмена веществ, тесно связаны с дисфункцией ГГН оси, обусловленной воздействием ксенобиотиков на плод и новорожденных [73; с.1581-1587. 101; с.633-645.111; с.115-122. 126; с.307-313.170; с.263-273. 186; с.627-631].

Наблюдения за организмом человека и данные экспериментальных исследований на животных показывают, что ось ГГН особенно уязвима при неблагоприятных пренатальных условиях; нарушение регуляции функции оси ГГН в младенчестве может поставить потомство под угрозу возникновения нескольких хронических заболеваний на протяжении всей жизни. Пренатальное воздействие ксенобиотиков ассоциируется с неблагоприятными условиями беременности: их токсичность определяется как вредное воздействие на потомство, приводящее к

ряду патологий, в том числе – к структурным деформациям, дисфункции, задержке роста плода и его гибели. Задержка внутриутробного развития является наиболее распространенным видом проявления токсичности, который проявляется плохим ростом плода в утробе матери во время беременности. Задержка развития определяется как развитие плода весом на 10% или на два стандартных отклонения меньше средней массы тела других плодов того же гестационного возраста [185; с.138-147]. Он ассоциируется не только с дистрессом плода, асфиксией новорожденных и перинатальной смертностью, но и с послеродовой дисфункцией физического развития, умственной отсталостью и повышенной восприимчивостью к взрослым хроническим заболеваниям. Патологические состояния матери играют важную роль в развитии плода. Многочисленные исследования показали, что изменение уровня глюкокортикоидов в материнской крови – это один из важных механизмов развития эндокринной пренатальной стресс-индуцированной токсичности [38; с.174-182].

Физиологическая структура, функции, дифференциация и регулирование ГГН оси в эмбриональных стадиях развития еще не полностью выяснены. Как терминальный эффектор ГГН оси, надпочечники являются одним из самых ранних и наиболее динамично развивающихся органов. Было выяснено, что вес надпочечников у плода в середине беременности составляет 10-15% от массы печени плода, и у новорожденных соотношение веса надпочечников и печени в 20 раз выше, чем у взрослых, в то время как у взрослых идёт 100-кратное различие в весе органов между печенью и надпочечниками [192; с.311-318]. Воздействие ксенобиотиков на ГГН ось приводит к повышению восприимчивости взрослого к ряду заболеваний, в том числе психических, а также болезней обмена веществ [97; с.279-289.157; с.245-250]. Такие эффекты, как когнитивные нарушения и иммунодефициты, вызванные воздействием ксенобиотиков в пренатальном или раннем послеродовом периодах, могут наблюдаться после рождения и сохраняются в зрелом возрасте [186; с.627-631.170; с.263-273]. Многие из этих

эффектов прямо или косвенно связаны с изменениями во внутриутробном программировании оси ГГН. Изменения в нейроэндокринной функции, происходящие во время внутриутробного периода, в результате неправильного программирования оси ГГН, являются важными механизмами, ведущими к аномальному эмоциональному поведению и серии других заболеваний, тесно связанных с функцией оси ГГН. Воздействие ксенобиотиков изменяет эпигенетические модификации во многих эмбриональных процессах развития, в том числе в процессах метилирования ДНК и модификации гистонов, влияя, таким образом, на нормальное развитие плода. Следовательно, воздействие ксенобиотиков во время беременности оказывает глубокое влияние на потомство. Это воздействие на функции и развитие ГГН плода, может происходить не только через организм матери или плаценту, но и путем прямого воздействия токсичного вещества на ось ГГН плода. Результаты этих изменений охватывают ось ГГН плода, связанную с программированием нейроэндокринных изменений и вызывают повышенную восприимчивость к различным хроническим заболеваниям во взрослом возрасте. Воздействие на плод через материнскую плаценту может быть основным фактором инициации, по которому у плода меняется программирование оси ГГН. Между тем, ксенобиотики могут напрямую вызвать аномальные эпигенетические модификации и изменения в развитии важных генов и разрушать окислительный метаболизм ассоциированных с ними органов (таких, как надпочечники плода), что также связано с изменениями программирования оси ГГН плода. Тем не менее, характеристики и конкретные механизмы, относящиеся к воздействию на ГГН в разные периоды и долгосрочные вредные последствия, остаются не полностью выясненными. Поэтому необходимы дальнейшие исследования механизма аномального функционирования ГГН плода и связанных с ним заболеваний в зрелом возрасте, вызванных пренатальным воздействием ЭРХ, в частности, пестицидов. Эти исследования позволят предоставить обосно-

ванные рекомендации по профилактике и диагностике заболеваний, возникающих в ходе внутриутробного периода [180; с.145-149. 181; с.86-92. 182; с.145-150. 183; с.93-98].

#### **§1.4. Пестициды как потенциальные «эндокрин-разрушающие» вещества**

С момента открытия ДДТ в 1939 году [132; с.1], многие пестициды (хлорорганические, фосфорорганические, карбаматы) были разработаны и широко используются по всему миру, сопровождаясь лишь несколькими рекомендациями и ограничениями. В промышленно развитых странах, после зеленой революции 1960-х годов, производительность сельского хозяйства существенно увеличилась за счет усиления борьбы с вредителями [54; с.634-638]. Эта борьба требует массированного применения пестицидов, которые являются опасными химическими веществами и предназначены для уничтожения грызунов, грибов, насекомых, и "сорняков", которые подрывают производительность земледелия. Основные эффекты пестицидов представляют собой большую пользу для человека, увеличивая возможность получения большого количества сельхозпродуктов. Более того, они помогают контролировать вредителей сельскохозяйственных культур (в число которых входят разносчики болезней и сорняки) и болезней растений, человека и домашнего скота. Они способствуют увеличению производства продуктов питания, их безопасность и надежность, дают ряд других дополнительных преимуществ [94; с.297-307]. Тем не менее, многие поколения пестицидов оказались вредными как для окружающей среды, так и для организма человека. Некоторые из них могут сохраняться в почве и в водной среде, накапливаться в тканях беспозвоночных и позвоночных животных, двигаться по трофическим цепям и влиять на животных и человека.

Книга Рейчел Карсон "Безмолвная весна", опубликованная в 1962 году [57; с.215], впервые обратила внимание на опасность широкого распространения и использования пестицидов для окружающей среды, а также для здоровья чело-

века. В книге рассказывается о том, что, в результате больших изменений в национальной политике США в отношении пестицидов, был принят национальный запрет на использование ДДТ и некоторых других токсичных пестицидов.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) сообщила, что ежегодно происходит примерно 2 миллиона отравлений пестицидами, что приводит к возникновению 40 000 смертей во всём мире[194; с.5]. В некоторых исследованиях было высказано предположение, что такие заболевания, как рак, аллергия, неврологические расстройства и нарушения репродуктивной функции могут быть связаны с воздействием пестицидов. Около 105 пестицидов могут быть отнесены к потенциально опасным препаратам. Из них 46% являются инсектицидами, 21% – гербицидами и 31% – фунгицидами. Некоторые из них были выведены из использования много лет назад, но их остатки до сих пор обнаруживаются в окружающей среде (например, ДДТ, атразин) во многих странах.

Многие химические вещества, которые были определены как эндокрин-разрушающие химикаты (ЭРХ), являются пестицидами [10; с.21-25. 21; с.121. 22; с.181. 23; с.126.36; с.1-12. 124; с.1160-1169.125; с.501-509. 87; с.1848-1850]. Эффекты различных групп эндокрин-разрушающих пестицидов (ЭРП) зависят от их химической структуры. ЭРП действуют, главным образом, путём воздействия на естественные гормоны, потому что они обладают мощным потенциалом для связывания эстрогена или андрогенных рецепторов [178; с.475-482]. В частности, ЭРП могут связывать и активировать различные рецепторы гормонов, а затем имитировать действие естественного гормона (агонист действия). ЭРП могут также связываться с рецепторами гормонов и препятствовать их действию. Наконец, они могут также вмешиваться в синтез, транспортировку, метаболизм и утилизацию гормонов, снижая, тем самым, концентрацию естественных гормонов. Например, выработка гормонов щитовидной железы может быть сокращена в десятки раз некоторыми эндокрин-разрушающими пестицидами (амитролом, ци-



галотрином, фипронилом, ноксинилом, манкозобом, пентахлоронитро-бензол, продамином, пириметанилом, чазопиром, зираном, зинебом) [31; с.397-400.32; с.800-814. 59; с.379-402. 121; с.38-44. 176; с.367-374].

На экологическом уровне дикая природа особенно уязвима к эндокрин-разрушающему воздействию пестицидов. Связанные с эндокринными нарушениями эффекты, были отмечены у беспозвоночных [55; с.611-640.76; с.248-253.90; с.426-430. 100; с.763-769], рептилий [46; с.389-394. 47; с.521-547.93; с.447-455. 94; с.297-307. 95; с.32-42], рыб [137; с.1371-1380.152; с.275-285], птиц [63; с.11-56.85; с.26-43. 86; с.922-924.184; с.319-361. 188; с.71-133] и млекопитающих [133; с.369-386. 141; с.107-128. 144; с.2119-2139. 155; с.456-457. 179; с.876-885]. Большинство из них связано с воздействием хлорорганических и фосфорорганических пестицидов и их влиянием на репродуктивную функцию. Например, исследование по *Daphnia Magna* показало, что сульфат эндосульфана нарушает эндокстероидные системы (регулирование процессов, таких, как линька и эмбриональное развитие) и активность ювенильного гормона (регулирующего соотношение полов) у ракообразных [11; с.17-18. 124; с.24-26.115; с.203-209. 145; с.676-681. 146; с.335-340]. Другим примером является влияние линурона на производство репродуктивного гормона [7; с.65-67. 195; с.73-77] тестостерона у крыс, которое существенно сокращается после внутриутробного воздействия линурона, в то время как производство прогестерона не снижается [8; с.121-122. 13; с.9-12. 117; с. 12. 195; с.73-77]. На человеческом уровне также было выявлено, что эндокрин-разрушающие пестициды нарушают репродуктивное и сексуальное развитие; эти эффекты зависят от ряда факторов, включающих пол, возраст, рацион питания и род занятий. Возраст также является особенно чувствительным фактором. У плодов человека, новорожденных и детей порог чувствительности намного выше, чем у взрослых [46; с.389-394. 88; с.143-146. 169; с.91-110]. Большая часть нарушений, вызванных ЭРП, происходит во время гаметогенеза и раннего развития плода [96; с.228-234.169; с.91-110.174; с.57.177; с.99-105]. Тем не менее, последствия их могут долго не проявляться, вплоть до зрелого возраста. Кроме

того, плоды и новорожденные получают большие дозы пестицидов в связи с мобилизацией материнских жировых запасов во время беременности [92; с.43-53.96; с.228-234. 174; с.57. 190; с.384-390] и грудного вскармливания [37; с.755-760. 197; с.356-363. 198; с.282-290. 199; с.395-404. 200; с.1526-1534]. Дети особенно уязвимы на пре- и постнатальное воздействие эндокрин-разрушающими пестицидами, что приводит к широкому спектру неблагоприятных последствий для здоровья, включая возможные долгосрочные последствия для интеллектуальной функции [78; с.233-241.106; с.783-789. 201; с. 4497], а также задержку развития и нарушение функционирования центральной нервной системы [40; с.78-89. 158; с.580-585].

Близость жилья к сельскохозяйственным угодьям является одним из факторов, достаточно часто объясняющих при проведении эпидемиологических исследований аномалии развития, таких, как низкий вес при рождении [15; с.29-31.196; с.160-167], гибель плода [42; с.148-156], а также развитие онкологических заболеваний [16; с.21-23. 17; с.179-180. 18; с.84-86.157; с.245-250]. Высокая распространенность крипторхизма и гипоспадии [19; с.123. 20; с.120-121. 56; с.8-12.113; с.537-544] была обнаружена в районах экстенсивного земледелия и использования пестицидов у сыновей женщин, работающих в качестве садовниц [193; с.793-796]. В последнее время была выявлена связь между развитием крипторхизма и стойкими концентрациями пестицидов в материнском молоке [23; с.126. 24; с.137-138. 62; с.528-533.66; с.1133-1138.159; с.229-233.174; с.57]. Кроме того, имеются сведения о влиянии эндокрин-разрушающих пестицидов на фертильность [159; с.229-233].

На основании эпидемиологических исследований, проводившихся с 2000 года, было выявлено, что воздействие пестицидов может повлиять на сперматогенез, ухудшая качество спермы и снижая мужскую фертильность. Все большее число эпидемиологических исследований выявляют связь между экологическим воздействием пестицидов и риском возникновения раковых опухолей. Высокие

уровни ДДТ были обнаружены в образцах жира у женщин с раком молочной железы [80; с.143-146]. Риск рака молочной железы, как выяснилось, в четыре раза выше у женщин с повышенным уровнем ДДТ и его метаболитов в крови [67; с.372-377. 80; с.143-146]. Одно из эпидемиологических исследований, проведенных в Испании в период между 1999 и 2009 годами, показывает, что, среди изученных 2661 случаев рака молочной железы, в 2173 (81%) случаях заболевшие женщины наблюдались в районах с высоким уровнем загрязнения окружающей среды пестицидами [140; с.12-17.147; с.180]. Также отмечено, что у женщин с гормональными изменениями, приведшими к развитию рака молочной железы, были более высокие нагрузки ДДТ и его метаболитов на организм, чем у женщин с доброкачественными заболеваниями грудных желез [70; с.641-646]. Исследования показали также корреляцию между повреждением иммунной системы и увеличением количества хлорорганических остатков в тканях опухоли [24; с.137-138.112; с.589-599]. Многие исследования подтверждают гипотезу о том, что воздействие пестицидов повышает риск развития рака молочной железы [25; с.67-70. 26; с.6-68. 27; с.1-120. 28; с.66-71. 60; с.302-311. 150; с.649-656. 151; с.307-325], но лишь немногие из них достаточно убедительны из-за разноречивости получаемых данных. Необходимы дальнейшие исследования для изучения долгосрочных последствий воздействия пестицидов в раннем возрасте, с целью выявления наиболее критических периодов в плане уязвимости организма. Кроме того, необходимо усовершенствование процедуры взятия образцов тканей и стандартизация методов оценки воздействия ксенобиотиков. Наконец, исследователям также необходимо учитывать одновременное совместное воздействие пестицидов и других химических веществ; необходимо выяснить, могут ли они выступать в качестве усилителей воздействия синергетическим или антагонистическим способом [32; с.800-814. 131; с.236-241. 156; с.319-324].

Допускается возможность наличия прямой связи между воздействием пестицидов и развитием рака простаты. Различные исследования показали, что население, проживающее в районах интенсивного развития сельского хозяйства,

подвержено более высокому риску поражения простаты, чем вся остальная популяция [32; с.800-814.33; с.39-45.45; с.10-20. 71; с.293-342.180; с. 14549]. Например, пестициды (в частности, ДДТ) были связаны со статистически значимым высоким уровнем рака простаты среди фермеров (контакт хлорорганическими пестицидами), что выявлено при проведении контрольного исследования по случайным выборкам в пяти сельских районах Италии между 1990 и 1992 годами [48; с.421-426. 161; с.71-78.168; с. 458-461]. Несколько исследований, проведённых в США и Швеции, также показали, что у фермеров, применяющих пестициды, заболеваемость раком простаты значительно выше, чем у населения в целом [33; с.39-45.72; с.100-112.138; с.171-180].

За последние годы были проведены несколько мета-анализов, когортных исследований и исследований случайных выборок, на риск развития рака простаты у населения, подвергающегося воздействию пестицидов в силу своей профессии [138; с.171-180]. Все они показали значительно более высокий – от 10 до 40% – риск развития рака предстательной железы при профессиональном воздействии пестицидов. Совсем недавно, была проанализирована связь между воздействием хлордекона (хлорорганический пестицид, широко используется на протяжении более 30 лет во французской Вест-Индии для уничтожения бананового долгоносика) и риском развития рака простаты [138; с.171-180]. Это исследование показало значительное увеличение риска развития рака предстательной железы с увеличением концентрации хлордекона в плазме, что подтвердило гипотезу о том, что увеличение в окружающей среде эстрогенов может повышать риск развития рака простаты.

Несмотря на документированные результаты, гипотеза о том, что повышенные риски развития рака предстательной железы связаны с использованием пестицидов, до сих пор официально не принята. Для объяснения роста числа случаев заболевания раком предстательной железы в сельскохозяйственных районах, были предложены различные другие факторы, такие, как пищевые про-

блемы, инфекции, передающиеся людям от скота, пыль, табачная и другая химическая продукция [138; с.171-180]. Для определения потенциальной взаимосвязи между пестицидами и развитием рака простаты, необходимы фундаментальные научные исследования, которые позволили бы точно и объективно оценить воздействие пестицидов, рассмотреть генотипы и необходимые среды взаимодействия.

Эндокрин-разрушающие пестициды широко используются в сельскохозяйственных, бытовых и медицинских целях по всему миру. Люди подвергаются воздействию этих соединений, и возможно, как последствия этого воздействия на человека возникают гормонозависимые патологии. Большинство исследований, оценивающих такой риск, рассматривают экспозицию и токсикологию, как правило, одного соединения. Не вызывает сомнений, что в некоторых случаях побочные продукты пестицидов могут проявлять больше вредных эффектов, чем сами пестициды. Например, на уровне организма был выявлен такой сублетальный эффект, как увеличение частоты сердечных сокращений при низкой концентрации альдикарб-сульфоксида и снижение этой частоты при более высокой его концентрации, чего не происходило с чистым альдикарбом [73; с.1581-1587.116; с.751-760. 171; с.291-297]. Другое исследование показало, что сочетанное воздействие метилпаратиона, хлорпирифоса и диазинона было от 15 до 10 раз более токсичным (для ДНК спермы), чем воздействие соответствующего исходного соединения [164; с.455-460]. В качестве другого примера можно привести исследование *in vitro*, которое подтвердило, что 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, обычно используемая в составе фосфорорганических гербицидов, способствует распространению андроген-чувствительных клеток [109; с.52-59] и является известным лигандом рецептора эстрогена [49; с.138-153]. Винклозолин в почве, в растениях и в организмах животных распадается до нескольких метаболитов [107; с.276-285]. Два гидролитических продукта распада: 2-[[[(3,5-дихлорфенил)-карбамоил]окси]-2-метил-3-бутеновую кислоту и 3,5"-дихлор-2-гидрокси-ме-

тил-3-эналид, которые были определены в качестве анти-андрогенных соединений, опосредующих негативные последствия винклозолина [107; с.276-285]. Поэтому, как считают авторы, токсикологические исследования должны включать также и другие показатели: наличие в окружающей среде пестицидов, побочных продуктов их распада, кумулятивное мульти-остаточное воздействие пестицидов. Кроме того, необходимо рассмотреть в рамках процесса оценки риска, сочетанные воздействия пестицидов, потому что смесь этих веществ может привести к большему числу токсических эффектов, чем одно соединение [117; с.12]. Например, эквимольная смесь трех пестицидов (дельтаметрин, метиокарб и прохлораз) подавляет активацию андрогенных рецепторов *in vitro* [45; с.10-20. 48; с.421-426]. Кроме того, при дополнительном присутствии симазина и трибенуронметила, в естественных условиях были обнаружены изменения веса надпочечников и изменения в экспрессии рецептор-связанных генов и гормона тестостерона у кастрированных крыс. Таким образом, совместное действие смесей загрязняющих окружающую среду веществ, особо привлекает внимание научного сообщества. Интеллектуальный подход, как правило, основан на математическом понятии концентрации. Для прогнозирования токсичности смеси производится сложение независимых токсических воздействий (IA) каждого её компонента [34; с.62-68]. В последнее время анализ показал, что некоторые другие модели могут быть полезны в качестве инструмента для оценки комбинированных доз в живых тканях и для прогнозирования потенциальных взаимодействий, включая пороговые значения для таких эффектов [154; с.174-192. 191; с.231-238]. Влияние на человека, в частности, синтетических пестицидов, из-за чрезмерного их использования (в том числе загрязнение окружающей среды и последствия их воздействия на организм человека) привело к изменениям в сельскохозяйственной практике и созданию различных национальных и международных правил, ограничивающих их использование. Дальнейшие ограничения или запреты следует принимать, одновременно с поиском альтернативных соединений, безопасных и не токсичных для окружающей среды и людей. Альтернативой являются

«естественные пестициды», такие, как растительные пестициды (пиретрум, лимонен, и многие другие), микробные или биологические агенты (микробы, паразиты) и неорганические минералы (борная кислота, известняк, диатомит). Их применение, как правило, считается менее токсичным для человека, чем применение синтетических пестицидов. Однако их полезность пока вызывает сомнения, потому что часто такие пестициды недостаточно мощные для борьбы с вредителями, но в то же время они не вызывают негативных последствий для здоровья человека (например, «натуральные пиретроиды»). Необходимы дальнейшие исследования, ориентированные на поиск и изучение влияния новых пестицидов на экологические системы и здоровье населения[154; с.174-192].

## **Глава II. ТОКСИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ПЕСТИЦИДОВ**

### **§2.1. Ламбда-цигалотрин (титан)**

Использование пестицидов в Республике Узбекистан, в соответствии с законом «Об обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения» (2015), разрешается только после токсикологической оценки и научного обоснования гигиенических нормативов, и регламентов их в объектах окружающей среды, что гарантирует права граждан нашего Государства на благоприятную производственную среду и здоровый образ жизни.

Мы проводили токсикологическое исследование таких широко используемых инсектицидов, как вигор (действующее вещество – фипронил, производное бензопиразола) и титан (действующее вещество – ламбда-цигалотрин из класса пиретроидов) [5; с.24-26.6; с.69-71]. Препаратом, предложенным для широкого внедрения в сельское хозяйство Узбекистана, был инсектицид титан, предназначенный для применения на хлопчатнике, пшенице, шелковице и на пастбищах. Препарат рекомендован к регистрации в Республике Узбекистан Узбекско-Германским ООО «Еуро-Тем». Норма расхода 10% концентрации эмульсии (к.э.) на хлопчатнике 0,15-0,4 л/га, на пшенице 0,05-0,15 л/га, на пастбищах 0,2-0,3 л/га, на шелковице 0,2-0,3 л/га. Способ применения – опрыскивание. Действующее вещество – ламбда-цигалотрин, является представителем класса пиретроидов. Молекулярная масса – 449,9, агрегатное состояние – твердое вещество, порошок белого цвета. Растворимость в воде 0,005 мг/л. Коэффициент распределения н-октанол/вода: logP - 7. Растворимость в органических растворителях: в метаноле, ацетоне, толуоле, гексане, этиленацетате, дихлорметане – > 500 мг/л. Температура плавления 49,2°C. Температура кипения 275°C. Температура возгорания 105°C. Температура самовозгорания 393°C. Плотность 1,33 г/см<sup>3</sup>. Агрегатное состояние препаративной формы – жидкость, от серого до бежевого и светло-коричневого цвета, с типичным запахом ароматических углеводородов, pH – 6,7. Плотность



0,89-0,93 г/см<sup>3</sup>. Температура кристаллизации: – 5°C. После размораживания препарат полностью восстанавливает свои свойства. Не взрывоопасен. Не летуч. Не обладает коррозионными свойствами. Ламбда-цигалотрин и цигалотрин легко разлагаются в полевых условиях в широком диапазоне различных почвенных и климатических зон. Период полураспада составляет от 22-х до 82-х дней. Основными путями распада препарата являются гидролиз и гидроксилирование. Первичные продукты распада подвергаются дальнейшей биотрансформации в аэробных условиях с интенсивной минерализацией до CO<sub>2</sub>. Скорость разложения действующего вещества в чистой воде, в темноте, в растворе с буфером при pH 8 – быстрая. Период полураспада – 7 дней, происходит расщепление эфирной связи и изомеризация в альфа-CN звене. При pH 7 гидролиз не происходит, идет медленная изомеризация, при pH 5 – ни гидролиз, ни изомеризация не идут. В речной воде ламбда-цигалотрин быстро деградирует за счет расщепления эфирной связи. Период полураспада – 20 дней на солнечном свете. В водном растворе с буфером период полураспада составляет около 30 суток. В зернах сои, убранных на 39 день после 2-х обработок, обнаружены остатки ламбда-цигалотрина (менее 1 мг/кг) и его метаболиты в виде соединений спирта и кислоты. В пшенице и моркови значительного накопления радиоактивно меченого ламбда-цигалотрина не было обнаружено. На хлопчатнике после обработок увеличенной нормой расхода на 51 день после последней обработки обнаружены остатки препарата в семенах хлопка в количестве 0,01 г/кг.

Для определения параметров острой токсичности при внутрижелудочном воздействии инсектицида титан нами проведены исследования на 3-х видах лабораторных животных: белых крысах, белых мышах и кроликах. Получены нижеследующие результаты: средне-смертельные дозы для белых мышей составили 760 (829- 690) мг/кг, для белых крыс – 820 (866-773) мг/кг и для кроликов – 1400 мг/кг масса тела. Коэффициент видовой чувствительности равен 1,8, т.е. видовой чувствительность не выражена. Клиническая картина отравления у различных видов

экспериментальных животных была однотипной. Животные становились угнетенными, сонливыми, аппетит отсутствовал, наблюдалась саливация, животные становились неопрятными. Гибель животных от токсических доз отмечалась на 3-4 сутки. Порог острого внутрижелудочного действия установлен на уровне 200 мг/кг по целому ряду клинических и биохимических показателей. Наиболее значимые и выраженные изменения установлены в содержании и активности ферментов щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ в сыворотке крови.

Изучение местного действия инсектицида титан на кожные покровы и слизистую оболочку глаз, а также способность проникать через неповрежденную кожу проводилось на белых крысах и кроликах. Препарат наносили на кожу экспериментальных животных из расчета 20 мг/см<sup>2</sup>. Реакция кожи регистрировалась по окончании 4-х часовой экспозиции через 1 и 16 часов после однократной аппликации. Установлено, что препарат вызывает слабо выраженное раздражение кожных покровов, выражающееся в гиперемии опытных участков кожи, которое продолжалось от 1-х до 1,5 суток.

Изучена кожно-резорбтивная токсичность на белых крысах, получивших 20 накожных аппликаций инсектицида титан. Установлено, что, в течение всего периода эксперимента гибели животных и клинических признаков интоксикации не наблюдалось, отмечена слабая гиперемия после экспозиции препаратом. Таким образом, можно сделать вывод, что препарат и при многократном использовании обладает слабым раздражающим действием на кожу.

Для выявления кожно-резорбтивного действия препарата белых мышей и белых крыс фиксировали в специальных станках. Хвосты подопытных животных погружали в пробирки с водным раствором инсектицида титан, на 4 часа при температуре 36-37°C. После окончания эксперимента кожу хвостов обмывали водой с мылом. В течение 3-х недель наблюдения за экспериментальными животными признаков интоксикации и гибели не отмечено.

Для изучения действия инсектицида титан на слизистую оболочку глаз в конъюнктивальный мешок левого глаза кроликов однократно вносили 2 капли суспензии препарата, правый глаз служил контролем. Под влиянием препарата через 10 минут отмечалась выраженная гиперемия, прищуривание глаза, слезотечение. После 2-х часов явления раздражения усиливались. Слизистая оболочка была сильно гиперемирована. Явления раздражения полностью исчезали на 4-5 сутки исследования.

Оценивая токсичность химических соединений, нельзя полностью полагаться на данные острых опытов, так как установлено, что малотоксичные при разовом введении вещества могут оказаться высокотоксичными при неоднократном повторном воздействии на организм. Хроническое отравление возможно в случае материальной или функциональной кумуляции ядов в организме.

Способность к кумуляции титана препарата изучена методом субхронической токсичности по Лиму в условиях ежедневного многократного внутрижелудочного введения его белым крысам в возрастающих дозах. В опыте было использовано 60 белых крыс с массой тела 145-155 грамм. Внутрижелудочное введение препарата не вызывало гибели животных на протяжении всего эксперимента, но позволило выявить функциональные сдвиги по ряду физиологических и биохимических показателей. У животных опытной группы наблюдалось статистически достоверное снижение прироста массы тела, торможение норкового рефлекса. При изучении состояния «норкового рефлекса» белых крыс при внутрижелудочном введении инсектицида титан, было выявлено значительное его угнетение, начиная со 2-ой недели эксперимента и до его окончания, когда отмечено снижение этого показателя у подопытных животных по сравнению с контрольными данными в 2 раза.

Динамика содержания гемоглобина в периферической крови показала снижение его концентраций к концу эксперимента. Так, содержание гемоглобина у подопытных животных было на уровне  $107,0 \pm \text{г/л}$ , при контроле  $126,0 \pm \text{г/л}$  ( $P < 0,01$ ). Установлен значительный лейкоцитоз в периферической крови подопытной

группы животных. Содержание лейкоцитов в подопытной группе составляло  $12,8 \pm 0,9$  ( $P < 0,01$ ). Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови увеличивалась, с высокой степенью статистической достоверности: у животных подопытной группы показатель был почти в 2 раза выше по сравнению с контрольными животными. Установлены статистически достоверные различия активности ферментов АСТ и АЛТ в сыворотке крови подопытных крыс (в 2 раза, по сравнению с контрольной группой).

## **§2.2. Фипронил (вигор)**

К внедрению в сельскохозяйственное производство Узбекистана также предложен новый пестицид Вигор, 4% к.э., инсектицид для борьбы с колорадским жуком на картофеле, саранчовыми насекомыми на пастбищах и тутовой огневкой на шелковице. Препарат рекомендован к регистрации в Республике Узбекско-Германским ООО "Euro-Team". Норма расхода: 0,25 л/га на картофеле и шелковице, 0,1-0,12 л/га на пастбищах. Способ применения: опрыскивание. Действующее вещество препарата – фипронил, производное бензопиразола. Молекулярная масса 437,2. Агрегатное состояние – вещество твердое, белого цвета, без запаха. Растворимость в воде: 1 мг/л (рН 5); 2,4 мг/л (рН 9); 1,9 мг/л (дистиллированная) при 20°C. Коэффициент распределения п-октан/вода:  $K_{ow} \log P = 4,0$ . Растворимость в органических растворителях: в ацетоне – 545,9; дихлорметане – 22,3; гексане – 0,028; толуоле – 3,0 г/л. Температура плавления 200-201°C. Стабилен при рН 5-7, слабо гидролизуеться при рН 9 (период полураспада 28 дней). Плотность: 1,477-1,626 г/см<sup>3</sup> при 22,5°C. Агрегатное состояние препаративной формы: прозрачная жидкость, от светло-коричневого до темно-коричневого цвета, со слабым специфическим запахом.

Для определения параметров острой токсичности Вигора при внутрижелудочном воздействии, нами проведены исследования на 3-х видах экспериментальных животных: белых мышах, белых крысах, и кроликах. Установлены средне-смертельные дозы: для белых крыс – 360 (429-290) мг/кг, для белых мышей – 310 (372-247) мг/кг и для кроликов – 320 мг/кг. Коэффициент

видовой чувствительности, равный 1,2, свидетельствует о том, что препарат видовой чувствительностью не обладает. Клиническая картина интоксикации у различных видов экспериментальных животных была однотипной и характеризовалась угнетением двигательной активности, отсутствием аппетита, отмечались судорожная походка, отдышка, повышенное мочеиспускание, нарушение дыхания. Гибель животных от токсических доз отмечалась на 3-5 сутки. С целью установления порога острого действия Вигора для белых крыс, были изучены следующие дозы: 100,0; 10,0 и 1,0 мг/кг. Порог острого действия установлен на уровне 10,0 мг/кг по изменению активности щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ в сыворотке крови.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что Вигор, по параметрам острой внутрижелудочной токсичности, относится к 3-му классу опасности, согласно СанПиН 0059-96 "Гигиеническая классификация пестицидов по токсичности и опасности".

Кумулятивные свойства препарата изучены методом субхронической токсичности по Лиму в условиях многократного введения белым крысам. О кумулятивных свойствах судили по критерию гибели и ряду биохимических показателей: активности щелочной фосфатазы, АСТ, АЛТ и содержанию сульфгидрильных групп в сыворотке крови. Анализ полученных материалов показал, что, в связи с отсутствием случаев гибели животных, препарат относится к веществам, не обладающим материальной кумуляцией. Установлены биохимические сдвиги ряда показателей: снижение содержания сульфгидрильных групп в сыворотке крови, нарушение активности изученных ферментов. Отмеченные изменения позволили заключить, что Вигор обладает кумулятивными свойствами функционального характера.

Влияние препарата на кожу изучали на 10-ти белых крысах. На выбритые участки кожи в области брюшка (2×2 см) наносили препаративную форму препарата. После 4-х часовой экспозиции препарат смывали и проводили

наблюдение за подопытными животными. В результате проведённых исследований было установлено, что препарат вызывал слабое раздражение кожных покровов, выражавшееся в покраснении исследованных участков кожи, при этом гиперемия сохранялась от 1-х до 2-х суток. Таким образом, можно сделать вывод, что Вигор обладает слабораздражающим действием на кожу.

При исследовании раздражающего действия на слизистые оболочки глаз использовали водный раствор, который вносили однократно в конъюнктивальный мешок глаза кроликов, в количестве 1-2 капли. Второй глаз служил контролем. Через 10 минут отмечались явления раздражения слизистой оболочки глаза, которые проявлялись частым морганием, беспокойством, слезотечением, покраснением конъюнктивы. Через 2 часа после внесения препарата в глаз явления раздражения усиливались, появлялся отёк обоих век и конъюнктивы. Слизистая оболочка была гиперемирована. Явления раздражения полностью исчезали на 4-е сутки исследования.

### **Заключение по главе II**

Обобщая приведенные данные, можно заключить, что титан (ламбда-цигалотрин), 10% к.э., является эффективным инсектицидом для борьбы с вредителями, предназначенным для применения на хлопчатнике, пшенице, шелковице и на пастбищах. Норма расхода от 0,05 л/га до 0,4 л/га. По параметрам токсичности при внутрижелудочном введении препарат относится к веществам 4-го класса опасности (СанПиН № 0213-06). Изучение раздражающего действия препарата позволило установить, что препарат обладает слабым раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки. Порог острого действия составляет 200 мг/кг массы тела. Инсектицид титан обладает кумулятивными свойствами, носящими функциональный характер. Для дальнейших исследований нами выбрана доза из расчета 8 мг/кг/ежедневно, что соответствовала 1/100 части от ЛД<sub>50</sub> препарата и была ниже порога острого воздействия.

Вигор (фипронил), по параметрам острой внутрижелудочной токсичности, относится к препаратам 3-го класса опасности. Коэффициент видовой

чувствительности составляет 1,2. Порог острого внутрижелудочного действия препарата для белых крыс установлен на уровне 10,0 мг/кг. Кумулятивные свойства препарата выражены слабо и носят функциональный характер. Вигор обладает слабым раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки глаз. По выраженности местно-раздражающего действия препарат относится к 3 классу опасности, согласно СанПиН 0059-96. Для дальнейших исследований нами выбрана доза из расчета 3,6 мг/кг/ежедневно, что соответствовала 1/100 части от ЛД<sub>50</sub> препарата и была ниже порога острого воздействия.

## **Глава III. МЕТОДОЛОГИЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭНДОКРИН-РАЗРУШАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ ПЕСТИЦИДОВ**

### **§3.1. Экспериментальные животные и постановка опытов**

Ламбда-цигалотрин (ЛСТ) в виде 10% концентрата эмульсии (коммерческое название «титан»), фипронил (ФПН) в виде 4% концентрата эмульсии (коммерческое название «вигор») получили от совместной Узбекско-Германской компании «ЕвроТeam». Опыты проводились на белых половозрелых нерожавших крысах самках Вистар массой тела 150-180 г, половозрелые крысы самцы использовались только для оплодотворения. Все крысы содержались в условиях регулируемой температуры ( $22 \pm 3^0$  С) и влажности с 12 часовым день-ночь циклом. Крысы были акклиматизированы в течение одной недели перед опытами. Затем крысы самки были разделены на три группы по 45 крыс в каждой. Первой (I опытной) группе крыс вводили через рот с использованием зонда разбавленный в физиологическом растворе ламбда-цигалотрин (ЛСТ) из расчета 8 мг/кг/ежедневно. Это соответствовало 1/100 части от ЛД<sub>50</sub> препарата. Второй (II опытной) группе крыс таким же способом вводили фипронил (ФПН) из расчета 3,6 мг/кг/ежедневно, что составляло 1/100 часть от ЛД<sub>50</sub> препарата. Третья группа (контрольная) получала равный объем стерильного физиологического раствора. Введение препаратов не прекращалось вплоть до окончания опытов. На 31 день опытов самки всех групп соединялись с самцами для оплодотворения. Наступление беременности контролировали по наличию сперматозоидов во влагалищных мазках. После наступления беременности самки отделены от самцов и помещены в отдельные клетки для дальнейших исследований.

Следует отметить, что длительное введение малых доз как ЛСТ, так и ФПН не приводило к появлению явных симптомов отравления у опытных самок крыс. Масса тела животных контрольных и опытных групп не имела достоверных различий на всем протяжении опытов. Лишь у единичных животных была обнару-



жена легкая заторможенность и незначительное снижение двигательной активности. Для определения концентрации гормонов и оценки уровня окислительного стресса определенная часть самок была умерщвлена на 14, 21 дни беременности (гестационные дни, ГД 14 и ГД 21), и на 7, 14 и 21 дни после родов (лактационные дни, ЛД 7, ЛД 14 и ЛД 21), под легким эфирным наркозом.

Потомство от подвергнутых воздействию ЛСТ и ФПН самок по числу помета, показателей массы тела и размеров существенно не отличалось от контроля. Отмечено лишь некоторое запоздалое открывание глаз и отлипания ушей по сравнению с контролем. Потомство от всех групп животных было умерщвлено на 3, 7, 14, 21 и 30 дни после рождения, также под легкой анестезией эфиром.

Общее число использованных самок составило 180 крыс, из них лишь 5 были исключены из эксперимента по причинам, не связанным с хроническим воздействием пестицидов. Общее число потомства, полученного от опытных и контрольных групп, составило 148 крыс. Все они были использованы для морфологических, морфометрических, иммуногистохимических и биохимических исследований.

Все опыты, содержание и забой животных проведены согласно разрешению и строго по требованиям этического комитета Республики Узбекистан.

## **§3.2. Методы исследования**

### **3.2.1. Световая микроскопия и полутонкие срезы**

Забой животных проводили в соответствующие сроки, в утренние часы, натощак, под легким эфирным наркозом. Щитовидная железа, надпочечники и гипофиз, после взвешивания, фиксировались в 10% нейтральном формалине или в жидкостях Карнуа и Буэна; после соответствующей проводки их заливали в парафин. Депарафинизированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для изготовления полутонких срезов кусочки органов фиксировали в 1,25% растворе глютарового альдегида с дофиксацией в 1% растворе осмиевой кислоты

на фосфатном буфере (pH-7,3). После обезвоживания материал заливали в смесь аралдит-эпона. Полутонкие срезы, полученные на ультрамикротоме LKB-V (Швеция), окрашивали метиленовым синим и основным фуксином.

### **3.2.2. Электронная микроскопия**

Для электронно-микроскопических исследований кусочки органов фиксировали в 1,25 % растворе глутарового альдегида с дофиксацией в 1% растворе осмиевой кислоты на фосфатном буфере (pH-7,3). После обезвоживания, материал заливали в смесь аралдит-эпона. Ультратонкие срезы последовательно контрастировали уранил-ацетатом, цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100SX (Япония).

### **3.2.3. Морфометрия**

Морфометрические исследования проводили на парафиновых и полутонких срезах с помощью сетки Г.Г. Автандилова (1; С.384). Кроме сетки, были использованы микрометрическая линейка и окуляр-микрометр ОМ-16. В отдельных случаях использована компьютерная программа «Морфология-4» фирмы «CarlZeissJena» (Germany). В щитовидной железе были определены наружный и внутренний диаметр фолликулов, площади коллоида, эпителия, высота и площадь тироцитов, число тироцитов в 1 фолликуле, площади межфолликулярного эпителия и соединительнотканной стромы. В надпочечной железе определены площади соединительнотканной стромы, коркового и мозгового вещества, а также клубочковой, пучковой, сетчатой зон коры надпочечников.

### **3.2.4. Иммуногистохимия**

Иммуногистохимический метод был использован для оценки степени пролиферации и уровня апоптозных клеток в эндокринных железах. Суть метода заключается в том, что искомые химические вещества (строго специфичные маркеры) в тканях и клетках вначале реагируют со специфическими первичными антителами. Затем ткань обрабатывается вторичными антителами, специфичными для первичных антител. Вторичные антитела являются мечеными, то есть, каж-

дая молекула этих антител несет с собой молекулу маркерного фермента. В качестве маркерного фермента наиболее широкоприменяется пероксидаза хрена, реже – щелочная фосфатаза. Проводя специфическую реакцию на данный фермент, можно четко определить локализацию того или иного субстрата в клетках, наличие которого свидетельствует о функциональном состоянии клетки. Чувствительность данного метода, представляющего собой непрямую иммуноферментную реакцию, на несколько порядков выше по сравнению с прямым методом, когда маркерный фермент непосредственно присоединен к первичным антителам. В качестве маркерного фермента мы использовали пероксидазу хрена, который с помощью авидин-биотинового комплекса присоединялся к вторичным антителам. Для выявления маркерных субстратов пролиферирующих клеток, мы использовали моноклональные кроличьи антитела ki-67, а апоптозные клетки выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител cas-3 и p-53 (ThermoScientific, USA). Выявление пролиферирующих и апоптозных клеток проводили на парафиновых срезах щитовидной железы и надпочечников с помощью комплекса UltraVision (Thermo Scientific, USA). Срезы докрашивали метиленовым синим или нейтральным красным. При этом продукт реакции в клетках выявлялся в виде коричневых отложений (рис. 3.1, 3.2). Следует отметить, что по локализации и интенсивности продукта иммуногистохимической реакции в клетках изученных органов существенных различий между контролем и опытными группами не удалось обнаружить. Эти различия, указывающие на состояние процессов пролиферации и апоптоза в эндокринных органах, были получены при подсчете числе меченых клеток.

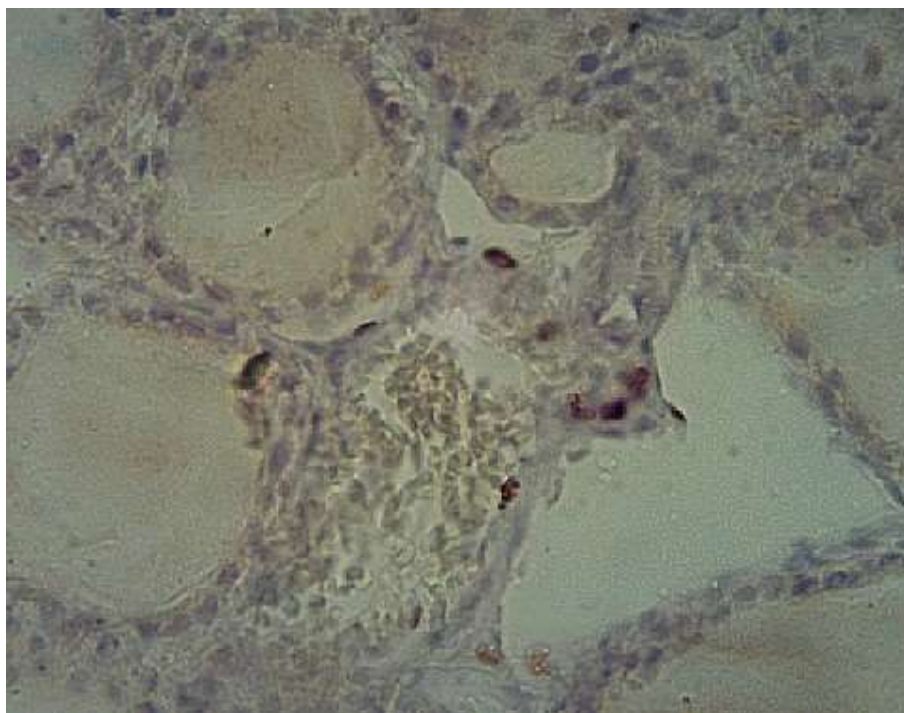


Рис. 3.1. Щитовидная железа потомства при воздействии фипронила на 21 сутки после рождения. Иммуногистохимическая реакция на апоптозные клетки с антителами к p53. Положительная реакция в виде темно-коричневых отложений на фоне слабо окрашенных тироцитов. Об. 10, ок.10.

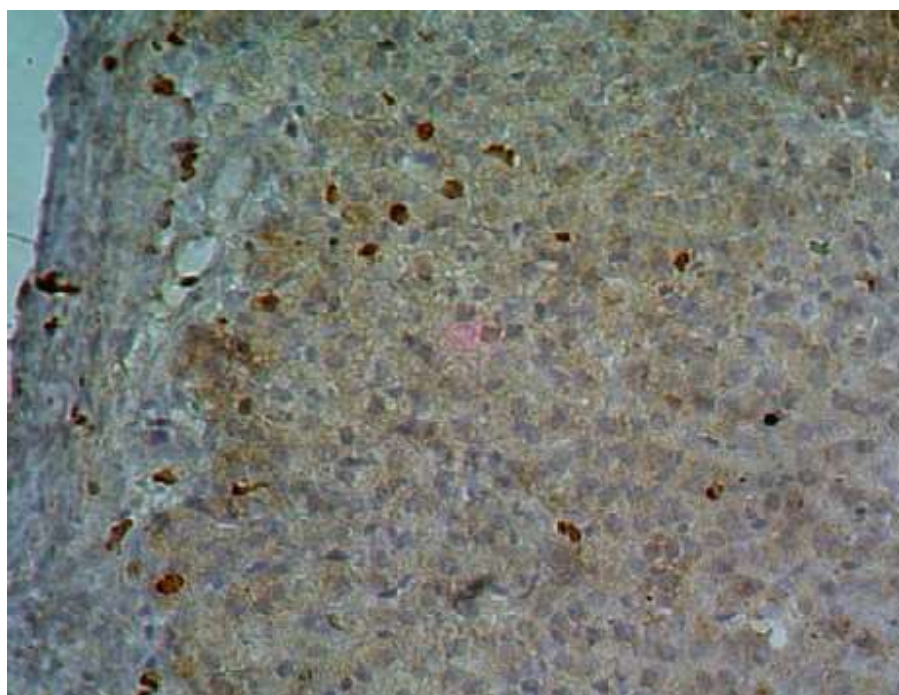


Рис. 3.2. Кора надпочечников потомства при воздействии фипронила на 21 сутки после рождения. Иммуногистохимическая реакция на апоптозные клетки с антителами к p53. Многочисленные апоптоз-положительные клетки на фоне слабо окрашенных клеток коры надпочечников. Об. 4, ок.10.

Индексы пролиферации и апоптоза подсчитывали на 1000 клеток щитовидной железы (тироцитов) и на 1000 клеток коры надпочечников (кортикостероцитов) и выражали в промиллях.

### **3.2.5. Определение гормонов**

Определение маркерных гормонов гипофиза, щитовидной железы и коры надпочечников проводили в сыворотке крови животных. После умерщвления кровь собирали в сухие стерильные пробирки без антикоагулянтов и полученную сыворотку крови использовали для определения концентрации гормонов. Тироксин ( $T_4$ ), трийодтиронин ( $T_3$ ) и тиротропный гормон (ТТГ) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с использованием специальных наборов компании “Human” (Germany) и спектрофотометра “Single” (Germany). Тироксин ( $T_4$ ), трийодтиронин ( $T_3$ ) и кортизол выражали в нг/мл, а тиротропный гормон (ТТГ) и адренкортикотропный гормон (АКТГ) выражали в МЕ/л.

### **3.2.6. Статистическая обработка**

Все цифровые данные были обработаны методом вариационной статистики. Расчет и статистический анализ проводился с использованием статистического пакета для Window`s. Все данные были представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение (SD). Статистическая значимость различий между контролем и опытными группами сравнивалась с использованием теста Стьюдента, и значения  $P < 0,05$  считались достоверными.

## **Глава IV. ЭФФЕКТ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ГИПОФИЗАРНО-ТИРОИДНОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА**

### **§4.1. Данные общей морфологии**

Понятие гипофизарно-тироидная система включает в себя центральное звено, представленное аденогипофизом, и периферическое звено, состоящее из щитовидной железы. Объединение их в одну систему обусловлено тем, что тиротропный гормон аденогипофиза является непосредственным регулятором выработки тироидных гормонов  $T_4$  и  $T_3$ . Тиротропный гормон, в свою очередь, зависит от так называемых «рилизинг-гормонов» гипоталамуса, конкретнее, тиролиберина и тиростатина, соответственно стимулирующих или ингибирующих выработку тиротропного гормона (ТТГ) аденогипофизом. Поэтому эту систему часто называют «гипоталамо-гипофизарно-тироидной системой», что более полно отражает все звенья одной цепи. К сожалению, морфологические и цитофизиологические аспекты гормон-продуцирующих клеток гипоталамуса еще только изучаются, и многие методические проблемы остаются не решенными.

Гипофиз у новорожденных крыс морфологически достаточно развит и на срезах четко можно идентифицировать переднюю, среднюю и заднюю доли органа. На 3-и сутки в гипофизе, как у контрольных, так и у подопытных крыс довольно четко определяются передние, средние и задние доли (рис. 4.1). Преобладающими клетками в передней доле являются плохо окрашенные (хромофобные) клетки, в то время как оксифильные и базофильные клетки встречаются гораздо реже. В динамике постнатального периода происходило увеличение размеров гипофиза в целом. Постепенно увеличивалось число базофильных и оксифильных клеток. Тем не менее, на уровне обычной световой микроскопии, каких-либо существенных различий между контрольной и опытной группами животных, нам обнаружить не удалось. Более информативные данные мы получили при изучении некоторых гормонов передней доли гипофиза, которые участвуют

в регуляции гипофизо-тироидной и гипофизо-адреналовой системы. Они приведены ниже, в соответствующих разделах.

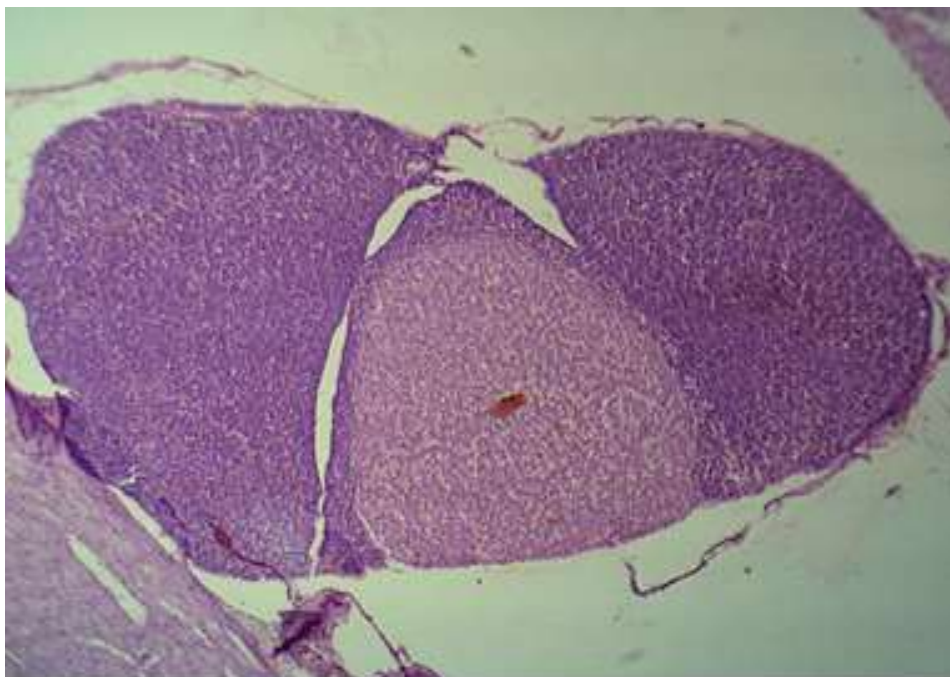


Рис. 4.1. Гипофиз контрольной крысы на 21-е сутки после рождения. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 4, ок. 10.

Щитовидная железа является важнейшим органом эндокринной системы. Основные этапы морфогенеза данного органа протекают в эмбриональном периоде, и, во второй половине беременности щитовидная железа плода является вполне функционально активной. В щитовидной железе плода происходит процесс выработки тироидных гормонов, которые, вместе с гормонами матери, участвуют в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток практически всех органов и тканей.

Щитовидная железа новорожденных крыс морфологически имеет слабо выраженное дольчатое строение (рис. 4.2). Соединительнотканная капсула, окружающая щитовидную железу, образует перегородки, которые разделяют орган на неполные дольки. Число их насчитывается на срезах от 3 до 8. Окружающая капсула и перегородки состоят из пучков коллагеновых волокон, среди которых присутствуют фибробласты, фиброциты и единичные тканевые базофилы. Следует отметить, что на уровне обычной световой микроскопии щитовидной

железы новорожденных крыс существенных морфологических различий между контрольной и опытными группами не удалось выявить.

Щитовидная железа крыс на 3-и сутки после рождения окружена тонкой соединительнотканной капсулой и обычно состоит из одной дольки. На некоторых срезах можно увидеть парашитовидную железу, окруженную общей капсулой щитовидной железы. Паренхима щитовидной железы состоит из сформированных фолликулов различных размеров. По периферии железы фолликулы достаточно крупные, содержат то или иное количество коллоида (рис. 4.3). В центре железы преимущественно выявляются мелкие формирующиеся фолликулы и межфолликулярные эпителиальные островки. Исследование щитовидной железы у потомства с введением ламбда-цигало-трина или фипронила в этот срок не выявило существенных морфологических различий по сравнению с контрольной группой. Паренхима щитовидной железы также состояла из сформированных фолликулов различных размеров, межфолликулярных эпителиальных островков, а также формирующихся фолликулов. По периферии железы фолликулы имели достаточно крупные размеры и содержали то или иное количество коллоида (рис. 4.4 и 4.5).

Дальнейшая динамика роста и становления щитовидной железы имела однотипный характер, как в контрольных, так и опытных группах исследованных животных. Эта динамика проявлялась в увеличении размеров железы в целом, возрастании числа средних и крупных фолликулов, уменьшении числа и размеров межфолликулярных эпителиальных островков. На 7-е сутки после рождения щитовидная железа имела более крупные размеры (рис. 4.6 и 4.7). Число фолликулов увеличивалось. Среди них преобладали средние и большие фолликулы (рис. 4.8 и 4.9).



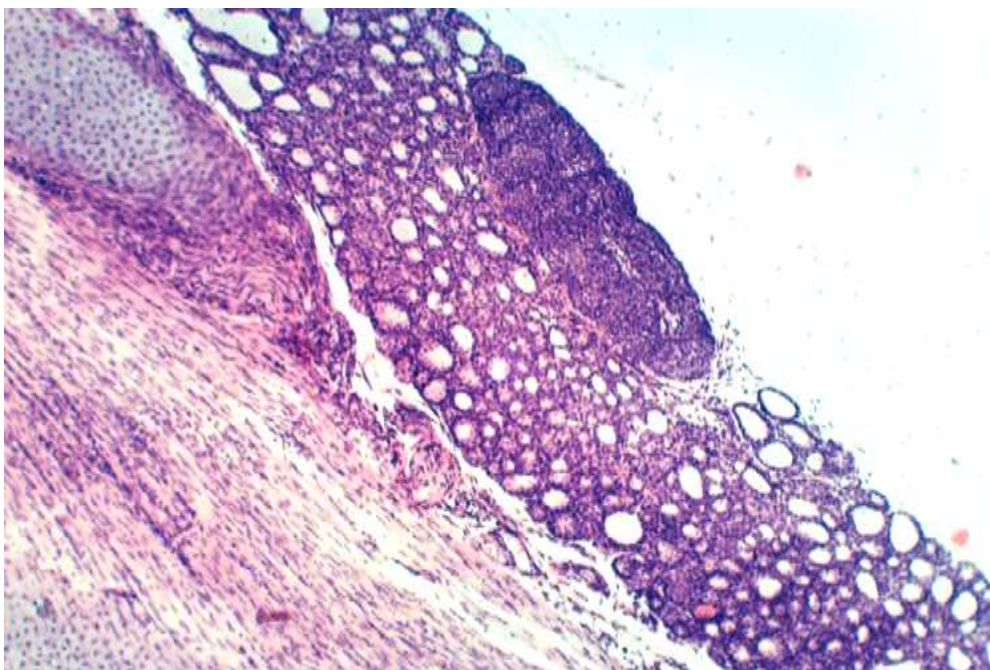


Рис. 4.2. Щитовидная железа новорожденной контрольной крысы.  
Окраска гематоксилином и эозином. Об.4, ок. 10.

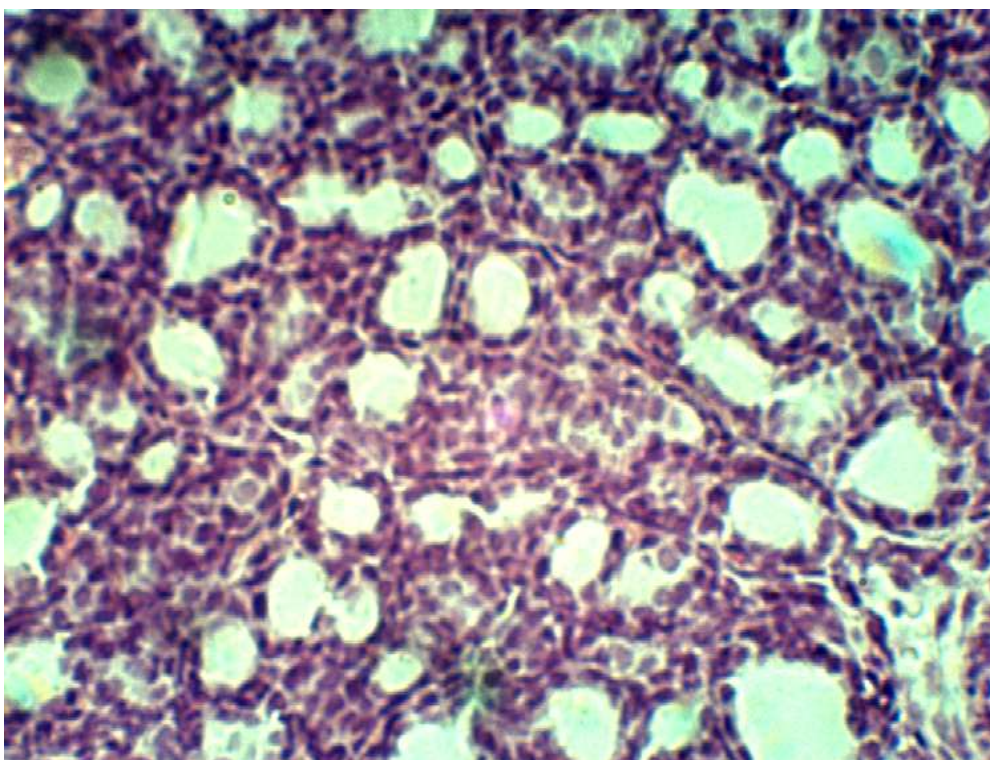


Рис. 4.3. Щитовидная железа контрольной крысы на 3-и сутки после  
рождения. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином.  
Об.40, ок. 10.



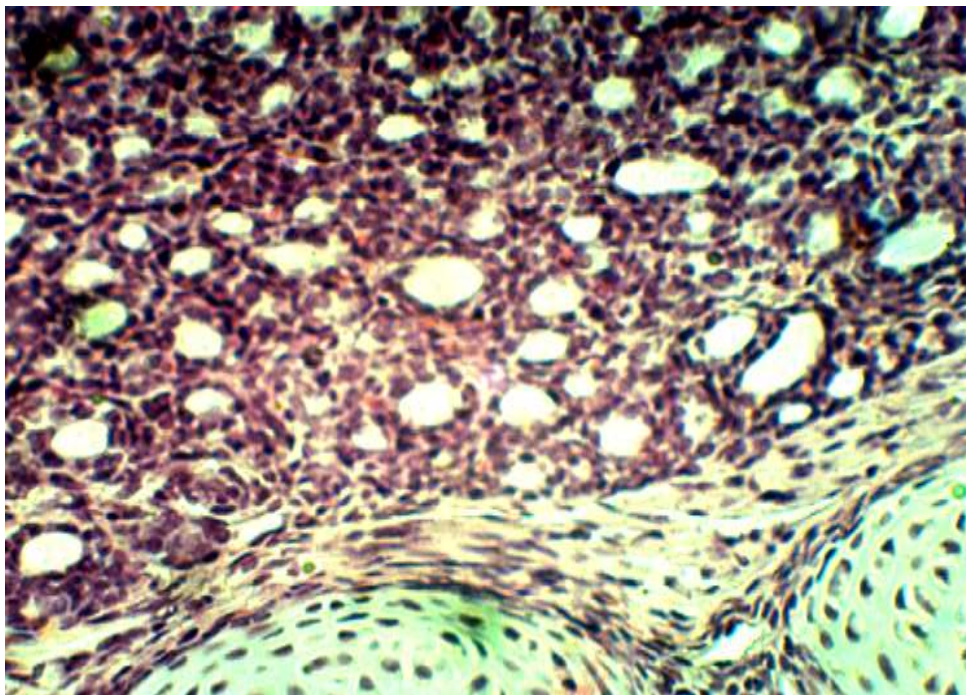


Рис. 4.4. Щитовидная железа крысы на 3-и сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.

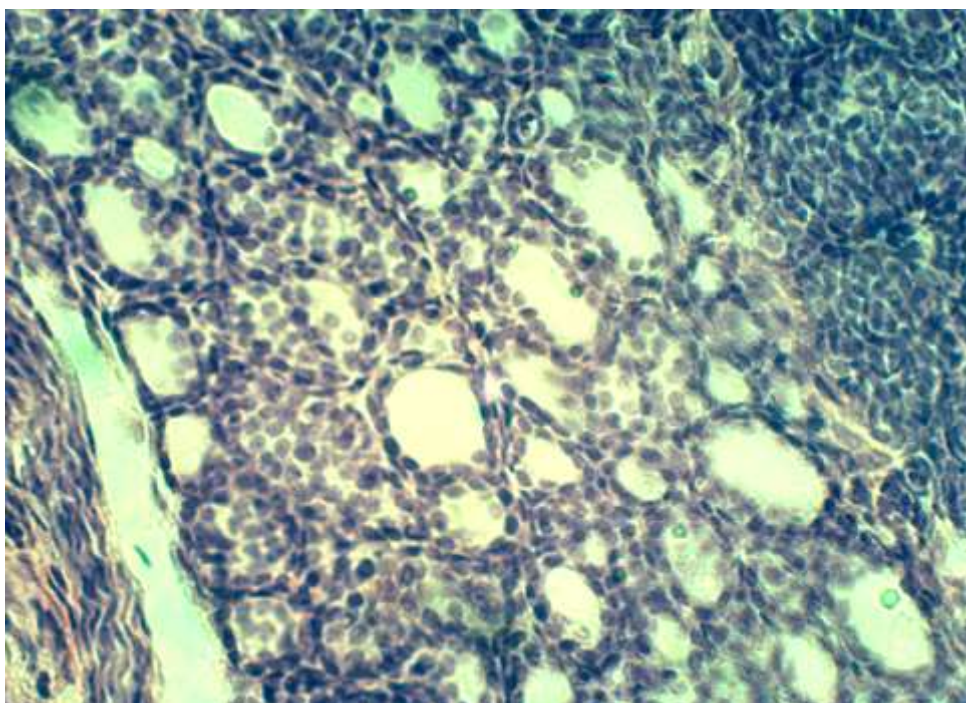


Рис. 4.5. Щитовидная железа крысы на 3-и сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.



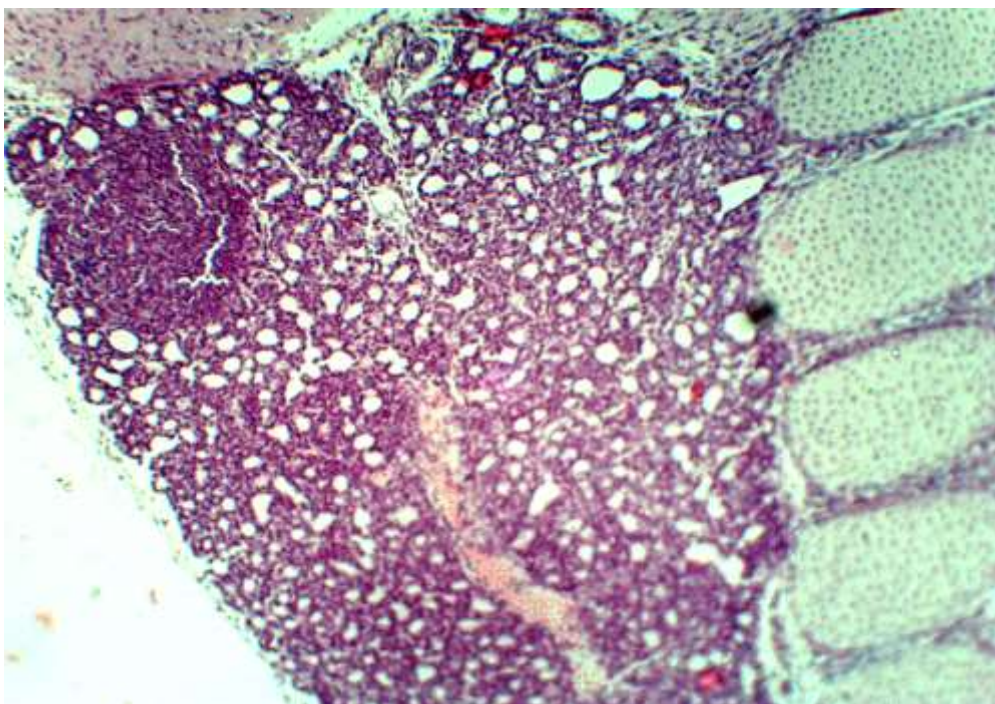


Рис. 4.6. Щитовидная железа (с паращитовидной железой) контрольной крысы на 7-е сутки после рождения. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 4. ок. 10

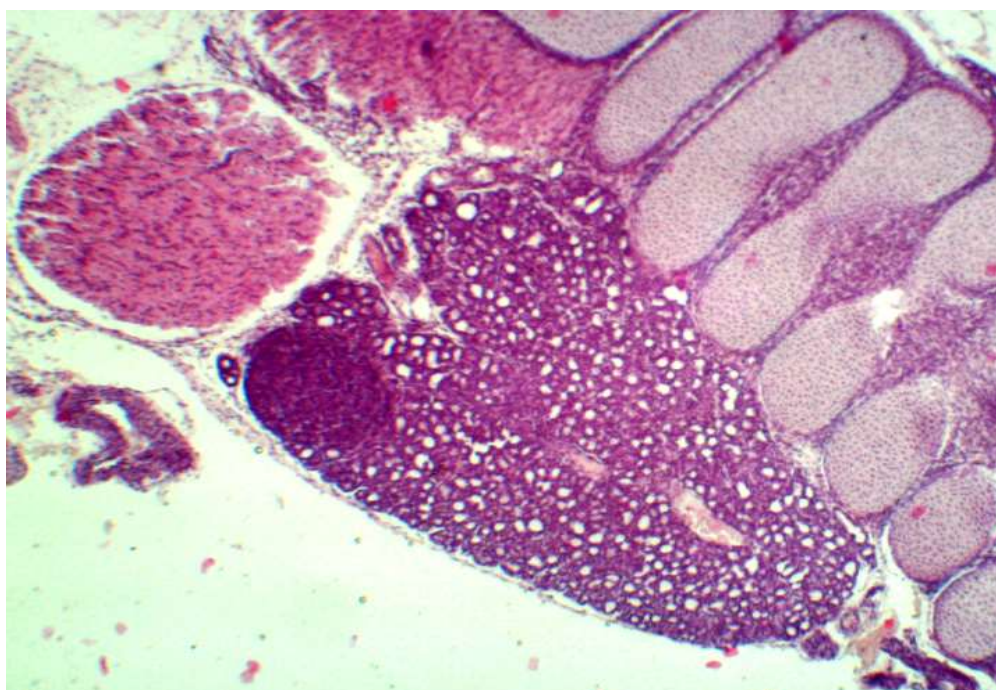


Рис. 4.7. Щитовидная железа (с паращитовидной железой) крысы на 7-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 4. ок. 10



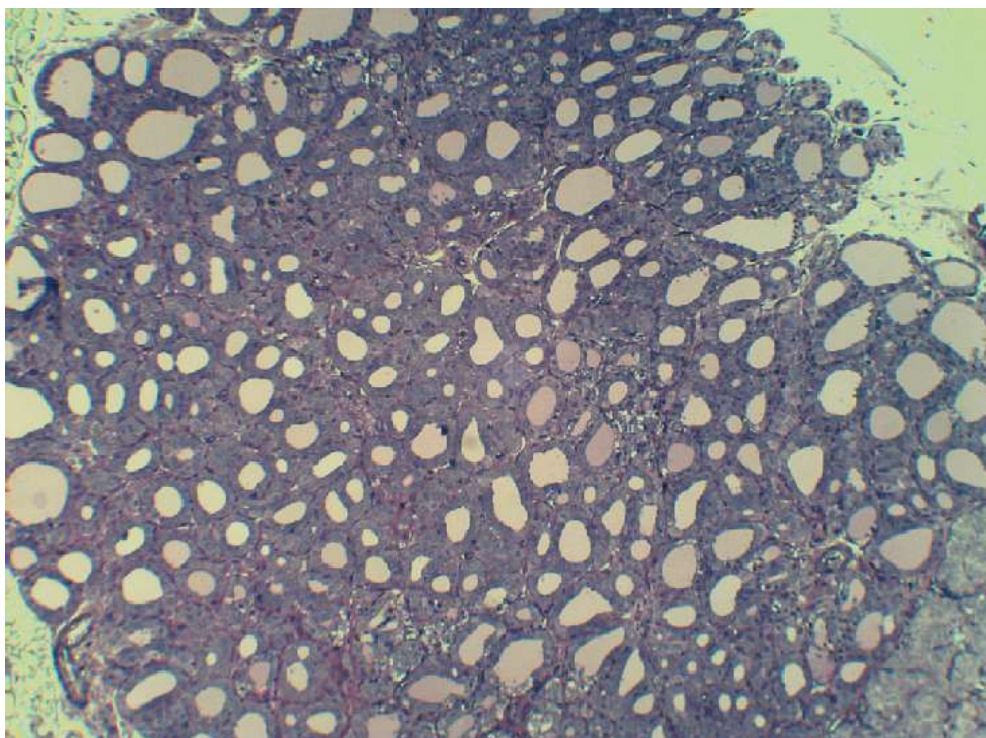


Рис. 4.8. Щитовидная железа крысы на 7-е сутки после рождения.  
Воздействие ламбда-цигалотрином. Полутонкий срез.  
Окраска метиленовым синим и фуксином. Об. 10. ок. 10.

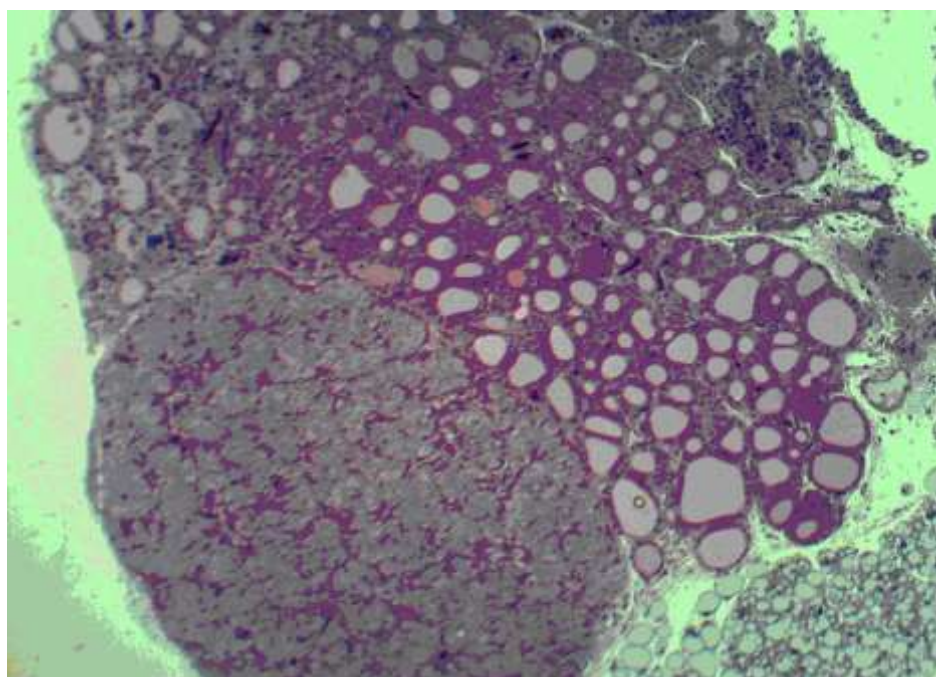


Рис.4.9. Щитовидная железа (с паращитовидной железой) крысы  
на 7-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Периферическая  
зона дольки. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и фуксином.  
Об. 10. ок. 10.

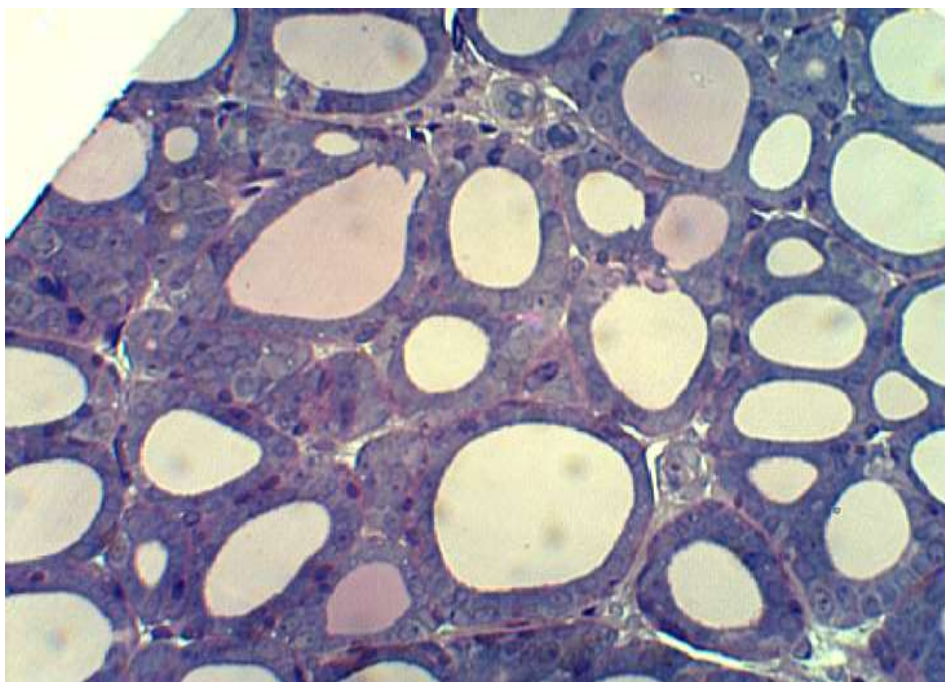


Рис. 4.10. Щитовидная железа крысы на 7-е сутки после рождения.  
Воздействие ламбда-цигалотрином. Полутонкий срез.  
Окраска метиленовым синим и фуксином. Об. 40. ок. 10.

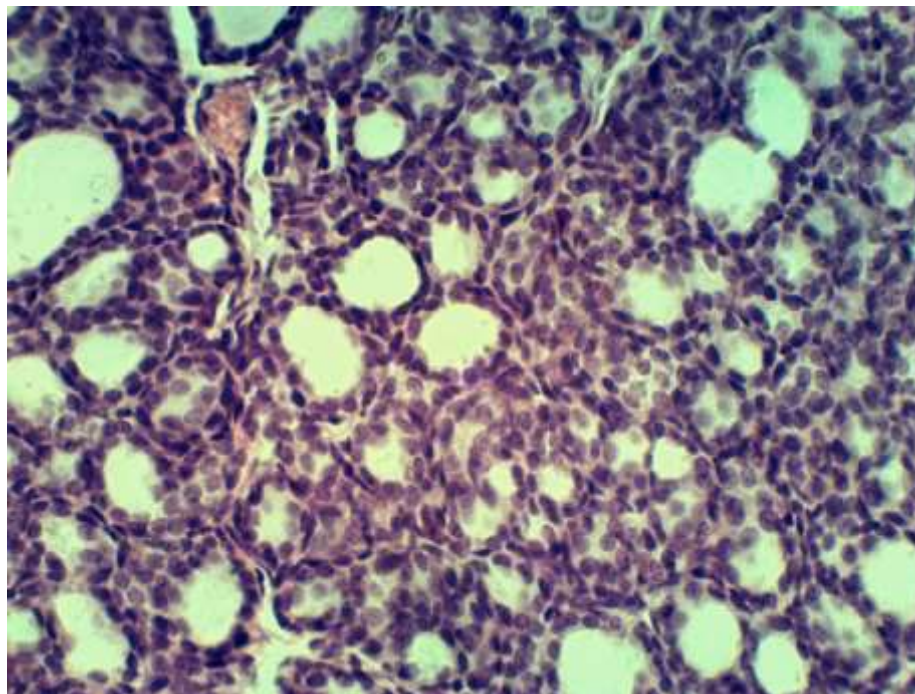


Рис. 4.11. Щитовидная железа крысы на 7-е сутки после рождения.  
Воздействие фипронилом. Периферическая зона дольки.  
Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.



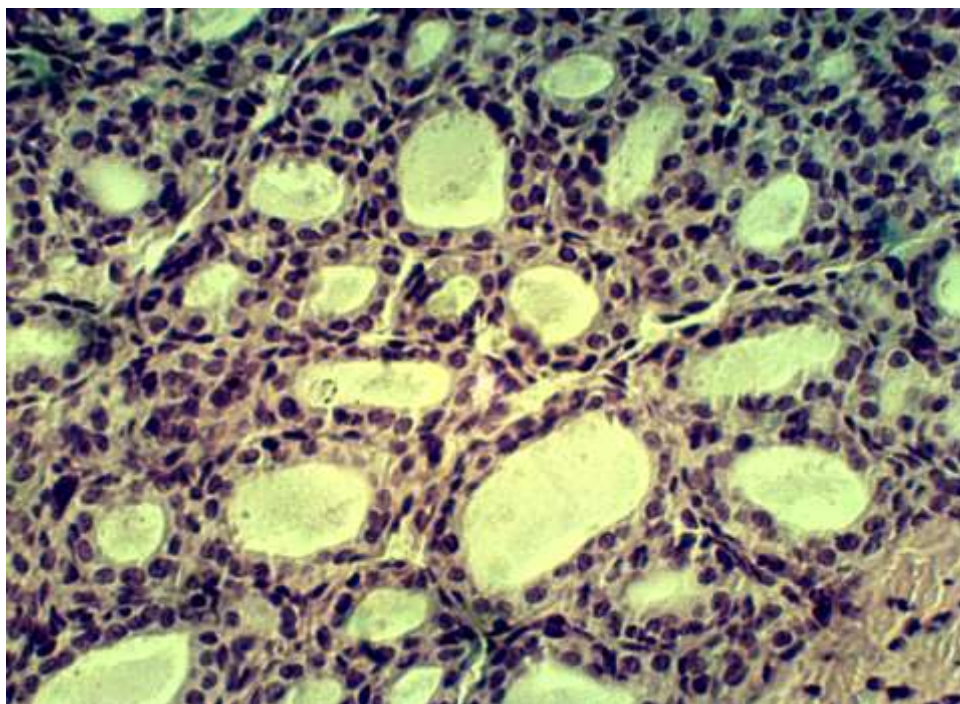


Рис. 4.12. Щитовидная железа крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.

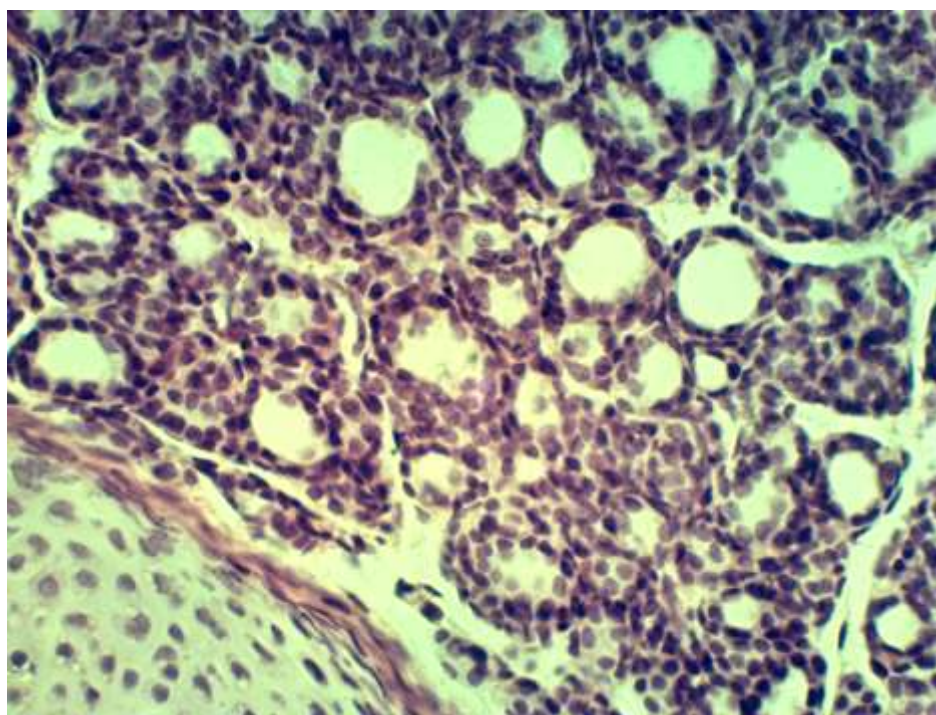


Рис. 4.13. Щитовидная железа крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Об.40. ок.10.



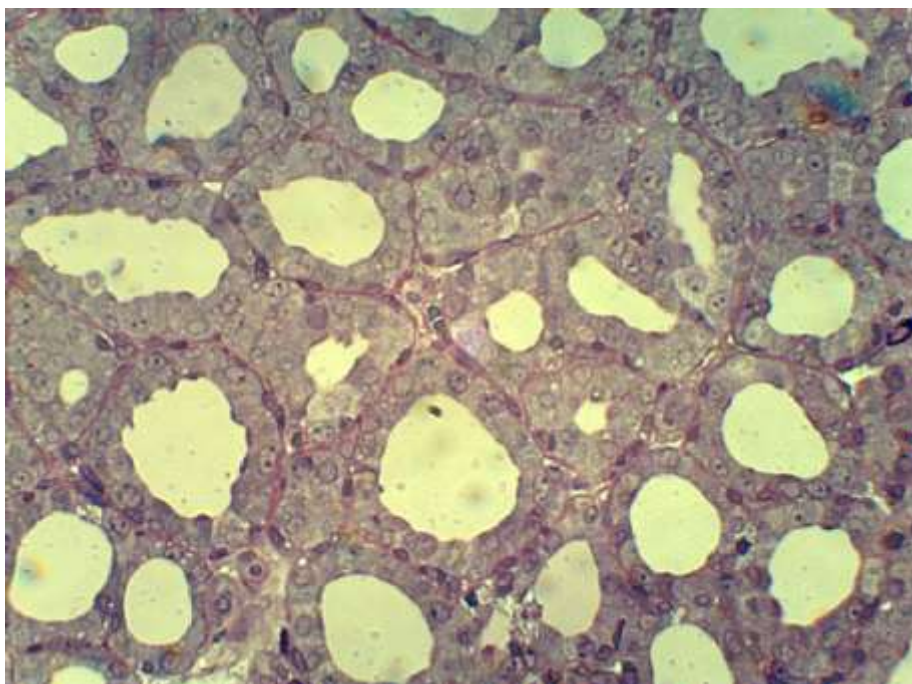


Рис. 4.14. Щитовидная железа крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Периферическая зона дольки. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и фуксином. Об. 40. ок. 10.

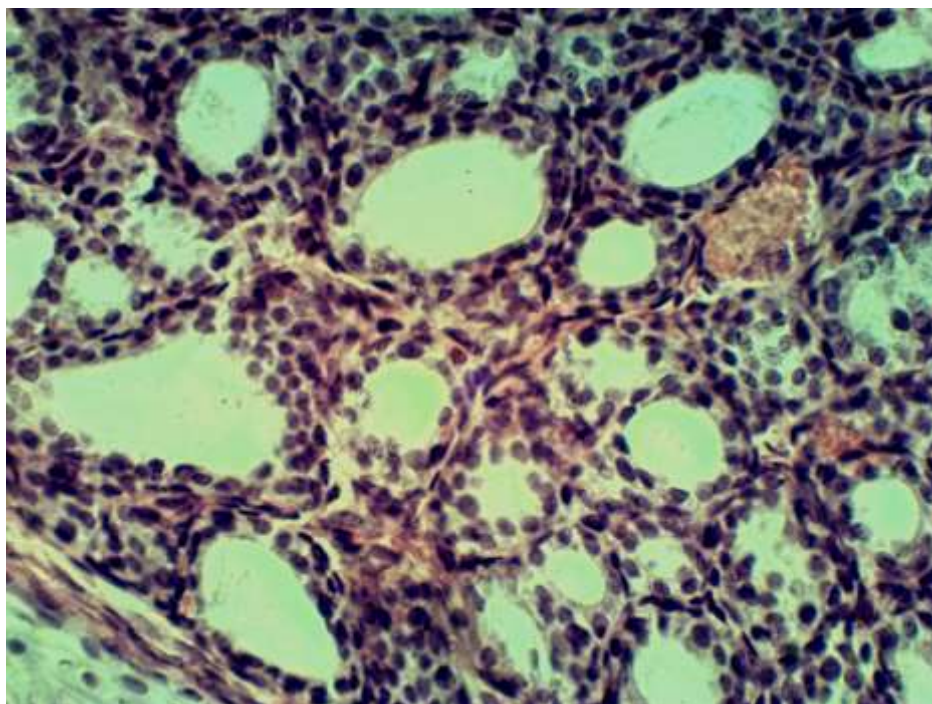


Рис. 4.15. Щитовидная железа крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.

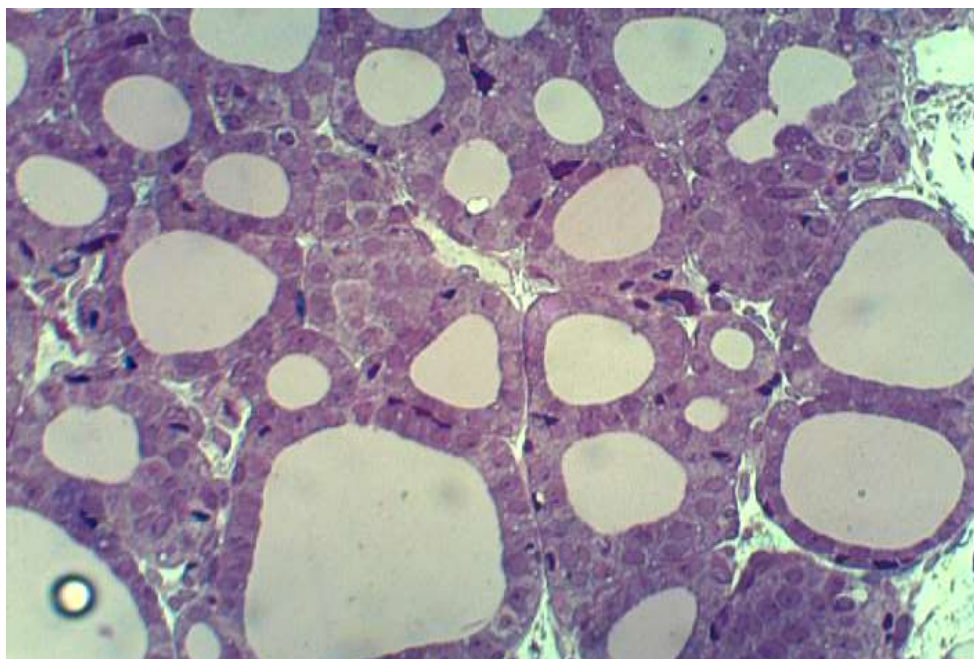


Рис. 4.16. Щитовидная железа крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Периферическая зона дольки. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и фуксином. Об. 40. ок. 10.

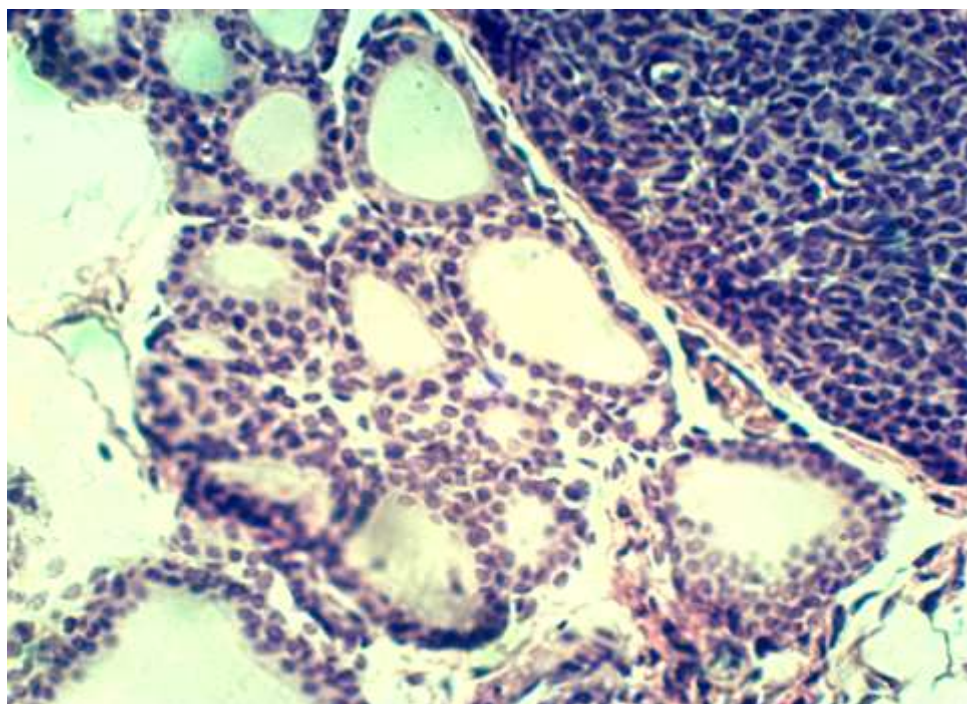


Рис. 4.17. Щитовидная железа крысы на 21-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.



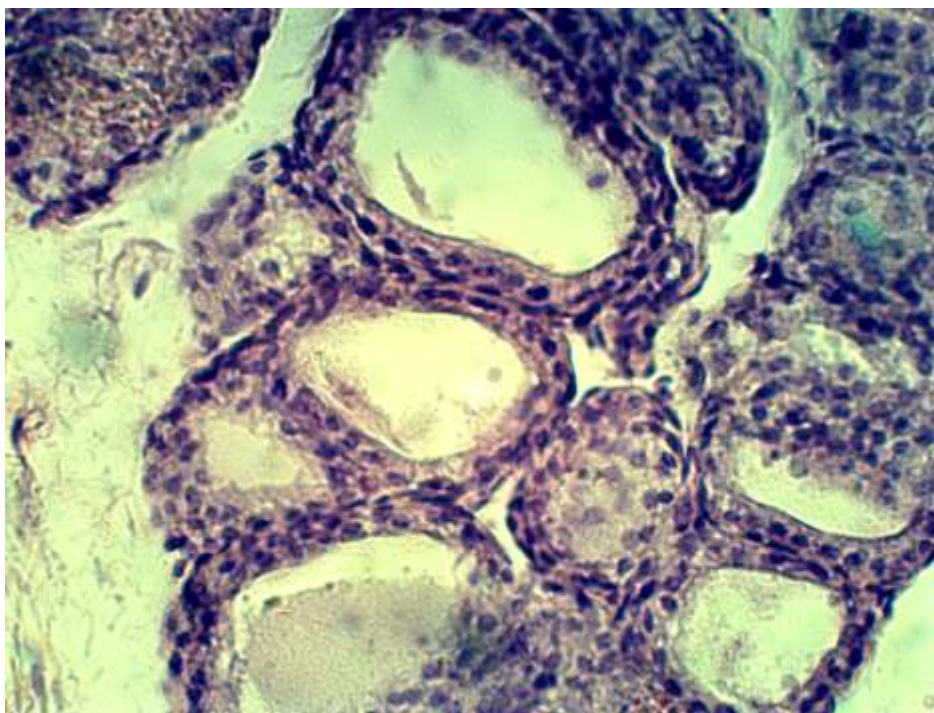


Рис. 4.18. Щитовидная железа крысы на 21-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Периферическая зона дольки. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40. ок. 10.

Количество межфолликулярных эпителиальных островков стало меньше, чем на предыдущем сроке (рис. 4.10 и 4.11).

На 14-е сутки после рождения щитовидная железа имела еще большие размеры, тонкие прослойки соединительной ткани формировали дольки (рис. 4.12-4.16). К 21 и 30 дням после рождения щитовидная железа практически была сформирована. Паренхима железы состояла, в основном, из долек, содержащих фолликулярные комплексы из фолликулов малых, средних и крупных размеров (рис. 4.17 и 4.18). Следует отметить, что крупные и средние фолликулы располагались преимущественно по периферии щитовидной железы, а в центре органа встречались, в основном, малые фолликулы и межфолликулярные островки.

Таким образом, в раннем постнатальном периоде у крыс происходит рост и становление щитовидной железы. Этот процесс протекает однотипно как у контрольных, так и опытных крыс, матери которых подвергались воздействию ламбда-цигалотрина и фипронила. Однако, на уровне обычной световой микро-

скопии существенных морфологических различий между контрольной и опытной группами животных обнаружить не удастся. Следует лишь отметить некоторое отставание темпов новообразования фолликулов у опытных животных, особенно, при воздействии фипронилом. Более информативные данные о структурно-функциональном состоянии щитовидной железы в постнатальном онтогенезе, в условиях воздействия пестицидов, нами получены с помощью электронно-микроскопических и морфометрических методов. Они приведены ниже, в соответствующих разделах.

#### **§4.2. Ультраструктура клеток щитовидной железы**

В ультраструктурном плане щитовидная железа контрольных крыс характеризуется наличием двух основных групп клеток. Первую группу составляют тироциты, входящие в состав фолликулов, вторая группа эпителиальных клеток представлена межфолликулярными клетками. Кроме них, в щитовидной железе выявляются парафолликулярные или С-клетки, которые участвуют в регуляции обмена кальция и фосфора. Эти клетки по генезу, структуре и функции принципиально отличаются от тироцитов и являются предметом отдельных исследований.

Электронномикроскопически тироциты периферической зоны представляют собой неоднородную популяцию клеток. Результаты показали, что в периферической зоне тироциты располагаются в составе фолликул, а в центральной зоне они формируют межфолликулярную ткань. Некоторые из этих клеток могут находиться на различных стадиях митотического деления.

Тироциты в составе фолликул характеризуются различной ультраструктурой в зависимости от функционального состояния клеток. В составе фолликул можно различить тироциты со светлой и темной цитоплазмой (рис. 4.19, 4.20, 4.21).



Рис. 4.19. Щитовидная железа контрольной крысы на 3-и сутки после рождения. Тироциты периферической зоны. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Ув. 11200×

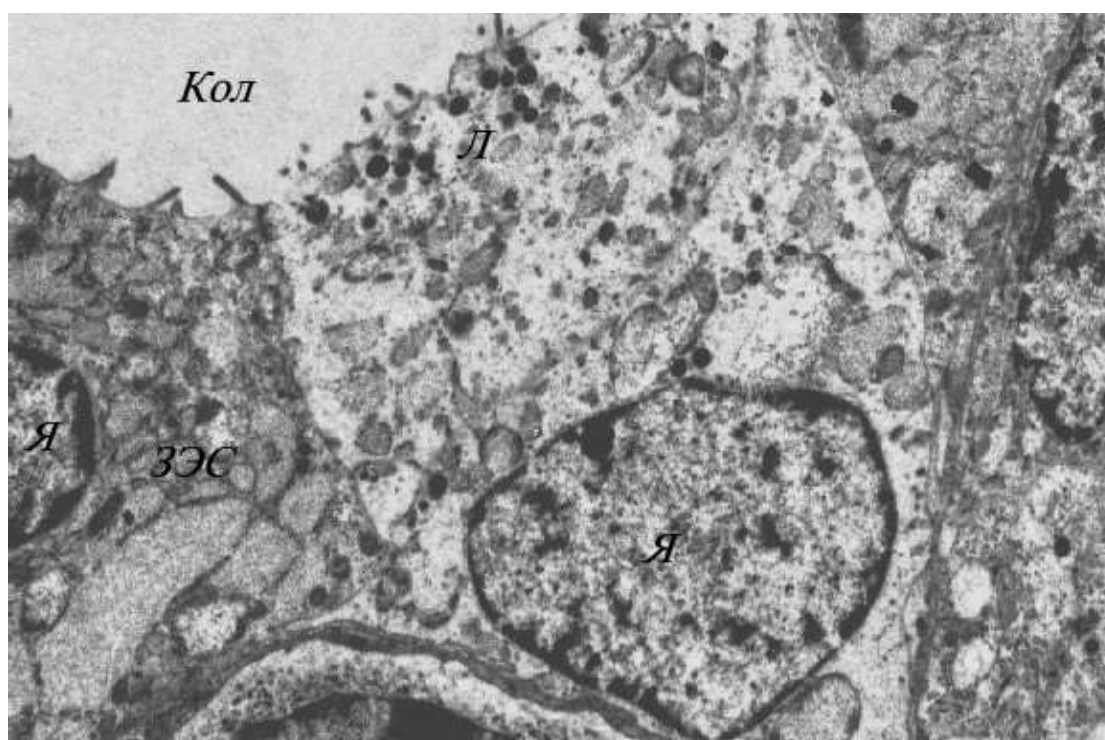


Рис. 4.20. Щитовидная железа контрольной крысы на 3-и сутки после рождения. «Светлый тироцит». ТЭМ. Ув. 32000×

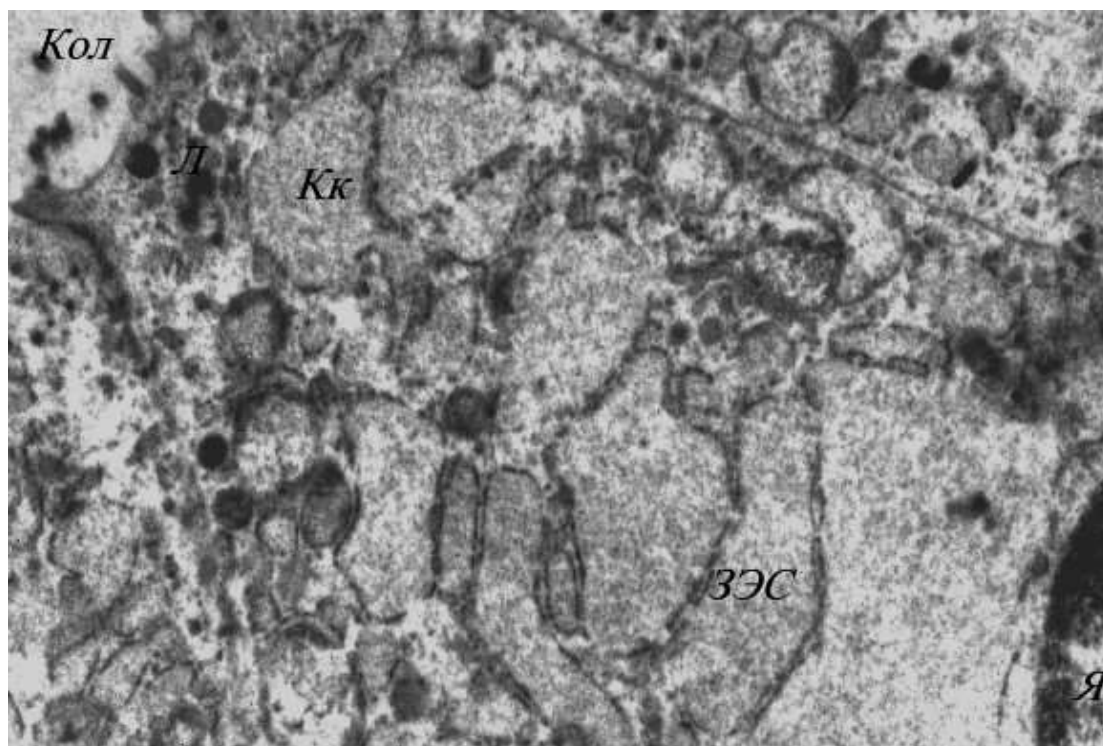


Рис. 4.21. Щитовидная железа контрольной крысы на 7-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 37500×

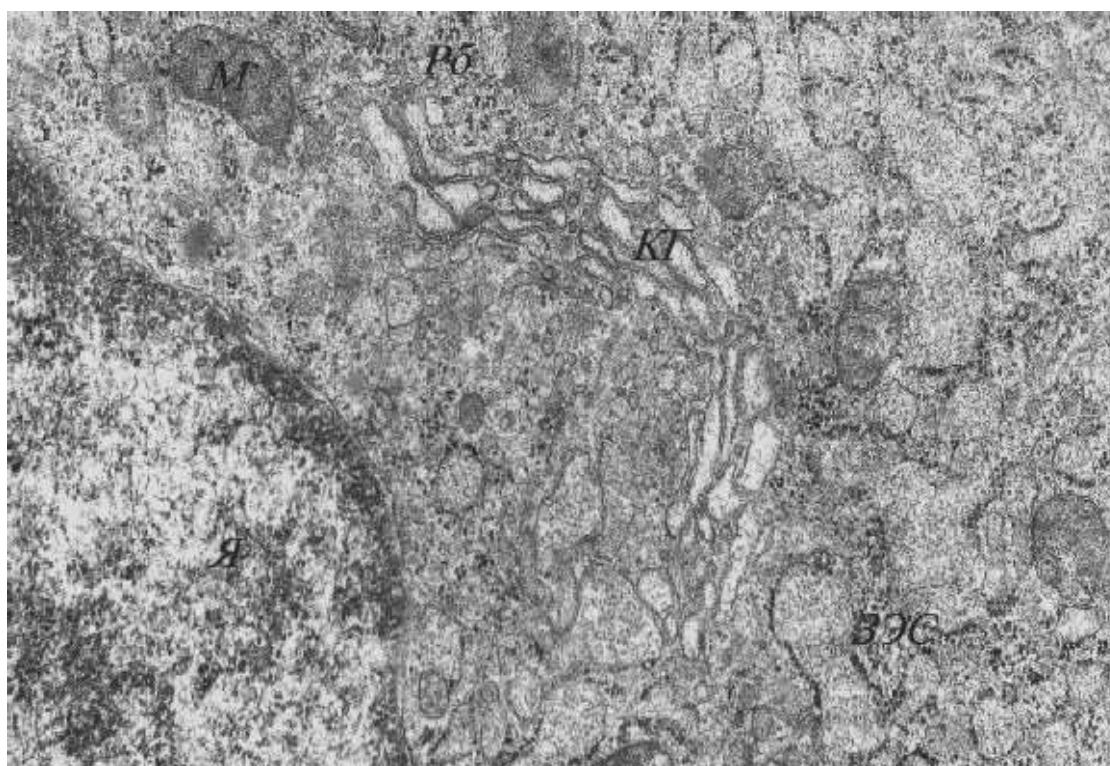


Рис. 4.22. Щитовидная железа контрольной крысы на 7-е сутки после рождения. Органеллы тироцита. ТЭМ. Ув. 37500×



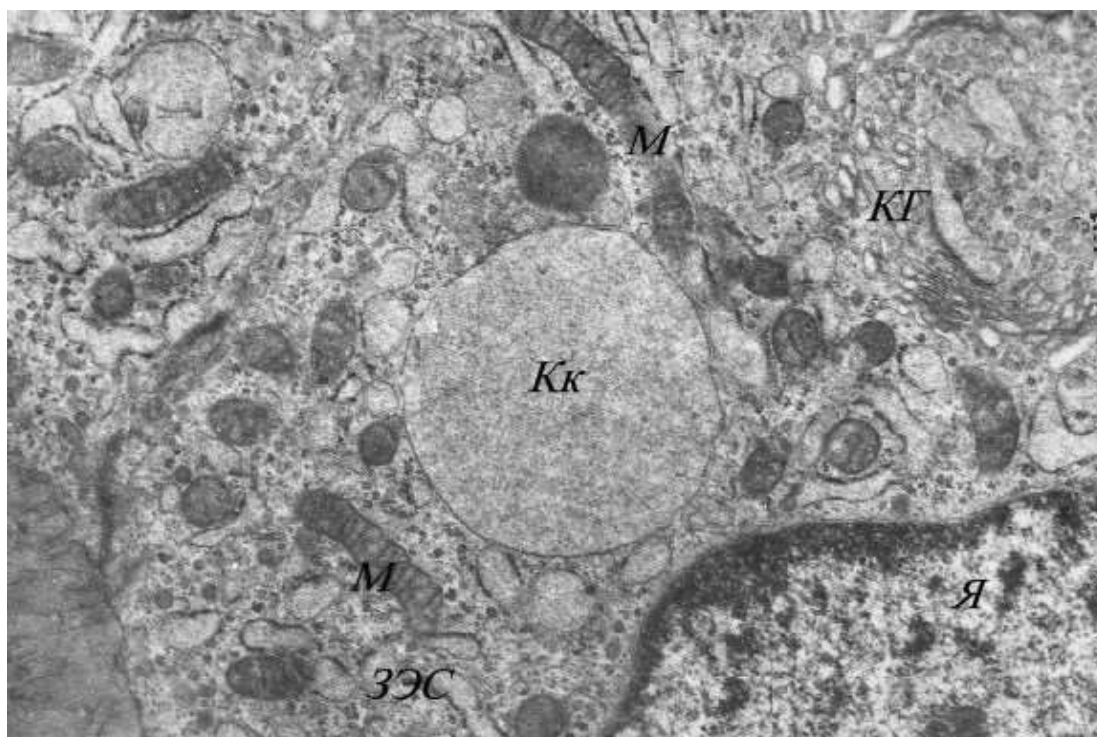


Рис. 4.23. Щитовидная железа контрольной крысы на 14-е сутки после рождения. Коллоидные капли и органеллы тироцита. ТЭМ. Ув. 37500×

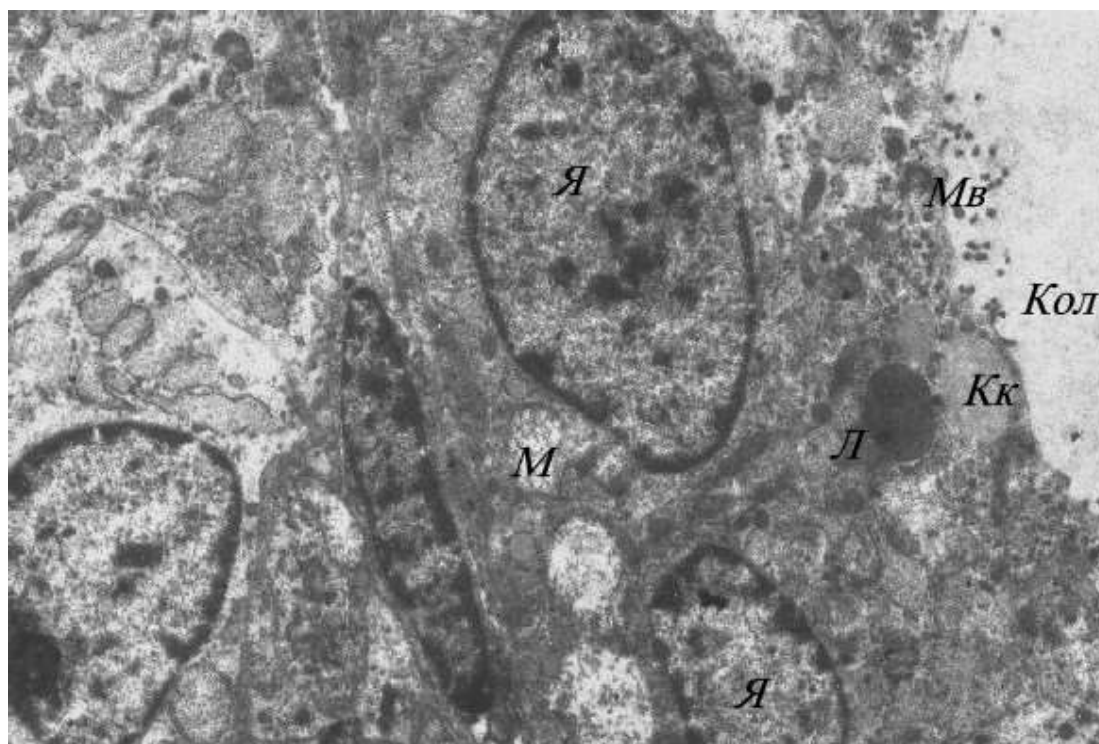


Рис. 4.24. Щитовидная железа при воздействии фипронилом на 14-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 11200×

Как правило, в цитоплазме тироцитов выявляется хорошо развитая зернистая эндоплазматическая сеть и коллоидные капли (рис.4.22). Комплекс Гольджи хорошо развит и состоит из уплощенных цистерн, мелких везикул и крупных вакуолей (рис. 4.23). Митохондрии различной формы, с уплотнённым матриксом, между ними обнаруживаются коллоидные капли.

У подопытных животных наблюдаются определенные субмикроскопические изменения, свидетельствующие о нарушении процессов синтеза и секреции тироидных гормонов. Иногда в составе фолликулов встречаются тироциты с набухшими митохондриями и разрушенной апикальной плазмолеммой (рис. 4.24).

Субмикроскопические изменения тироцитов носили более выраженный характер при воздействии фипронилом по сравнению с ламбда-цигалотрином. Цитоплазма некоторых тироцитов была отёчной, органеллы скапливались в центре или на периферии цитоплазмы (рис. 4.25). Отек межфолликулярной соединительной ткани часто обнаруживался при воздействии ламбда-цигалотрином (рис. 4.26; 4.27).

В ряде случаев, особенно на 14-е-21-е сутки после рождения, в тироцитах наблюдались изменения, указывающие на функциональную напряженность клеток. Они проявлялись в виде набухания митохондрий гипертрофии комплекса Гольджи и зернистой эндоплазматической сети (рис. 4.32; 4.33).

При воздействии фипронилом, наряду с интактными тироцитами, часто выявлялись деструктивные тироциты (рис. 4.28; 4.29; 4.30).

Нередко, особенно на 3-и-7-е сутки после рождения выявлялись тироциты в состоянии митотического деления (рис.4.31).

В отдельных случаях выявлялись клетки, цитоплазма которых была заполнена большими коллоидными каплями (рис. 4.34; 4.35). Деструктивные изменения тироцитов наблюдались и в более отдаленные сроки опытов (рис 4.36).

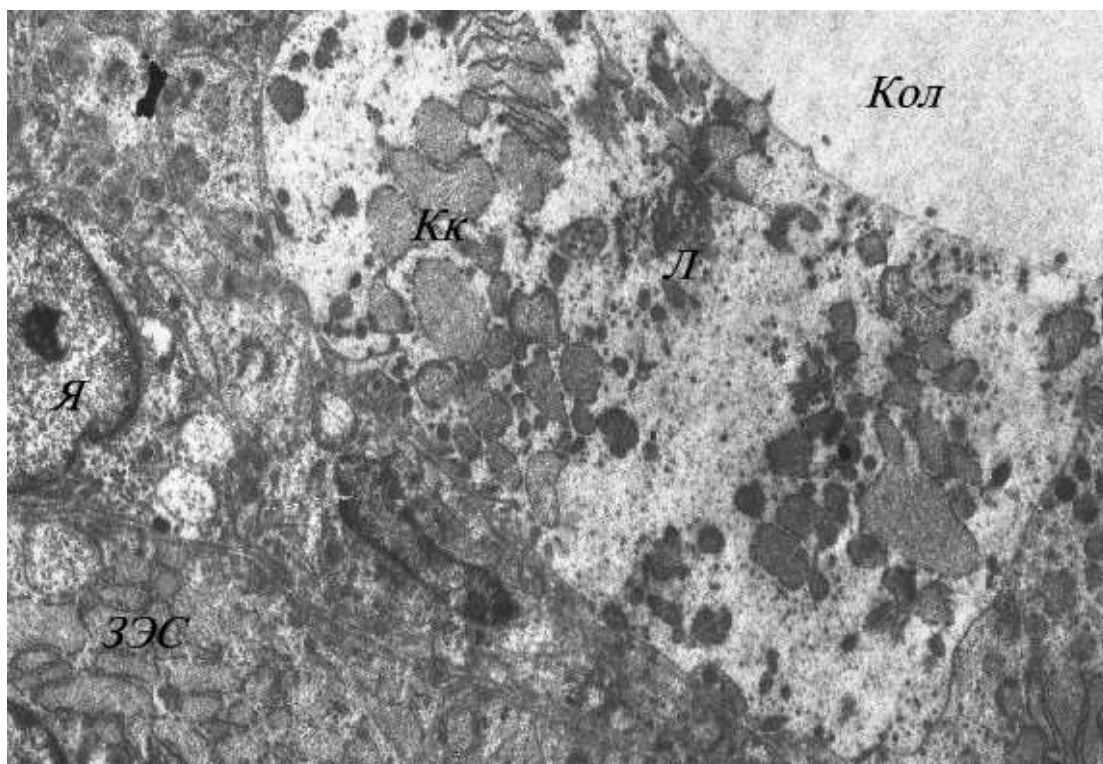


Рис. 4.25. Щитовидная железа при воздействии фипронилом на 21-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 11200х

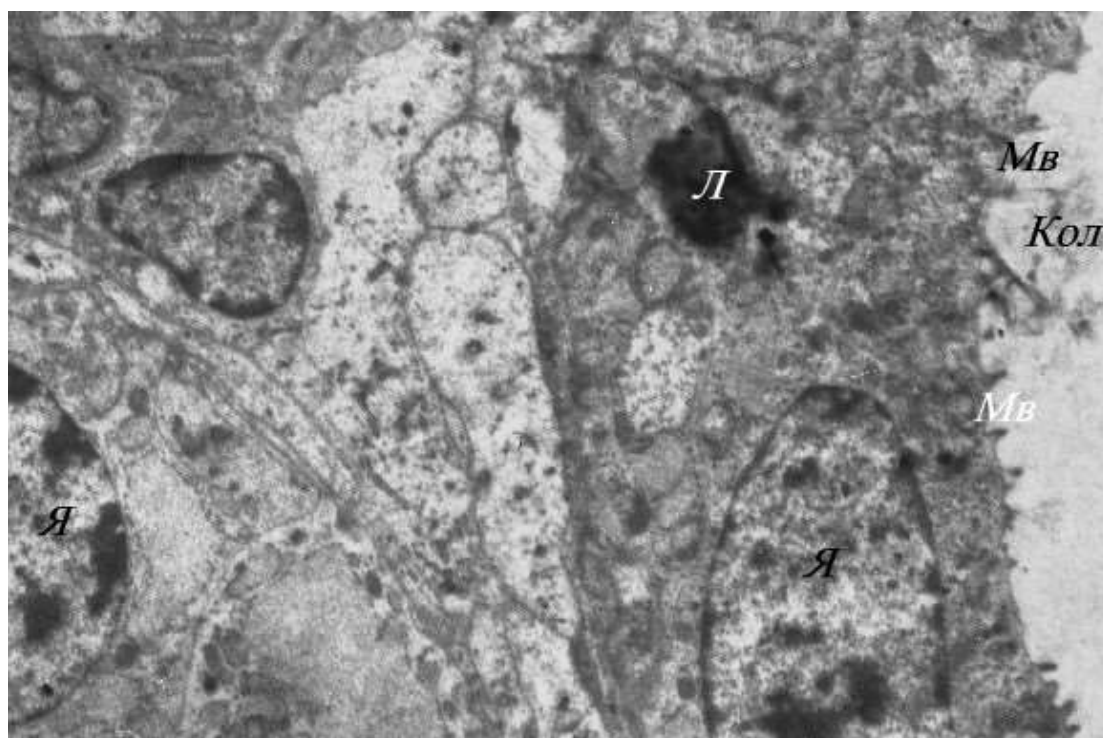


Рис. 4.26. Щитовидная железа при воздействии ламбда-цигалотрином на 21-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 11200х

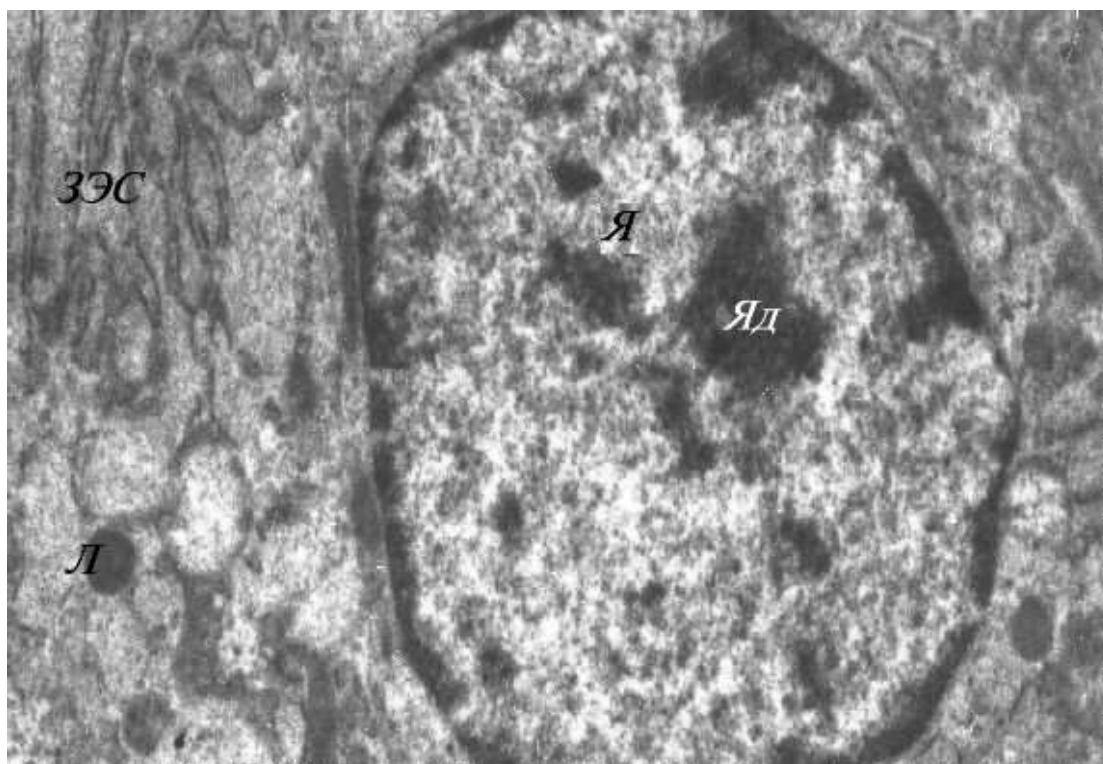


Рис. 4.27. Щитовидная железа при воздействии ламбда-цигалотрином на 30-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 28000×

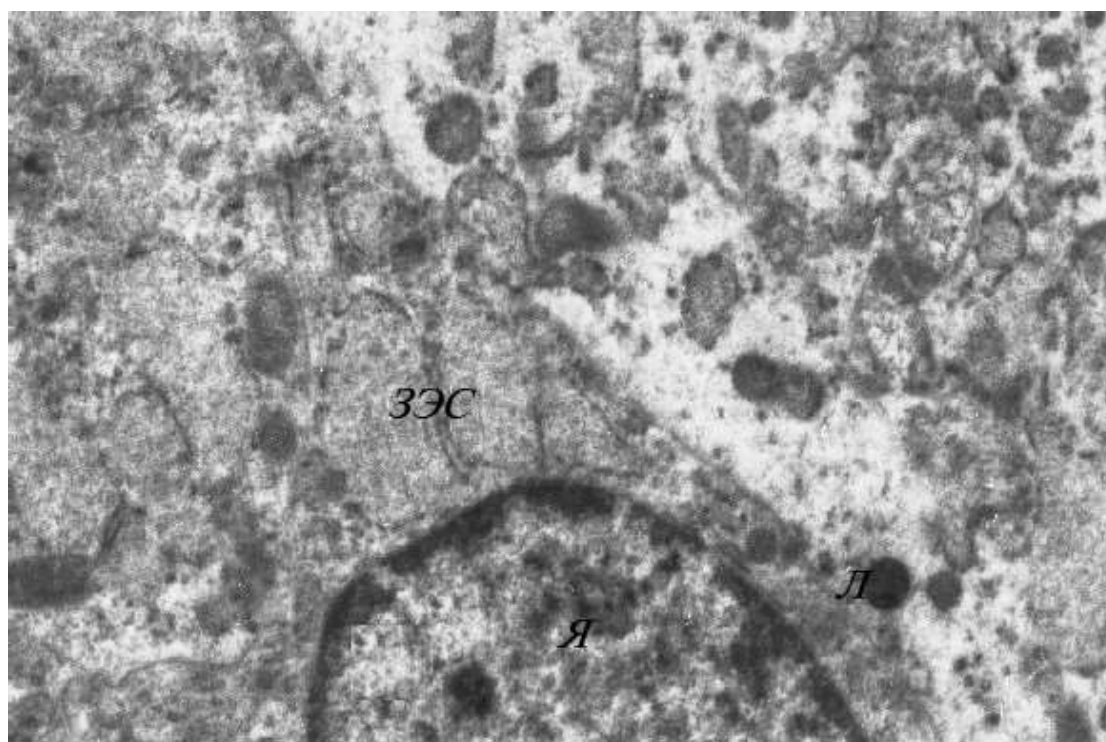


Рис. 4.28. Щитовидная железа при воздействии фипронилом на 7-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 28000×



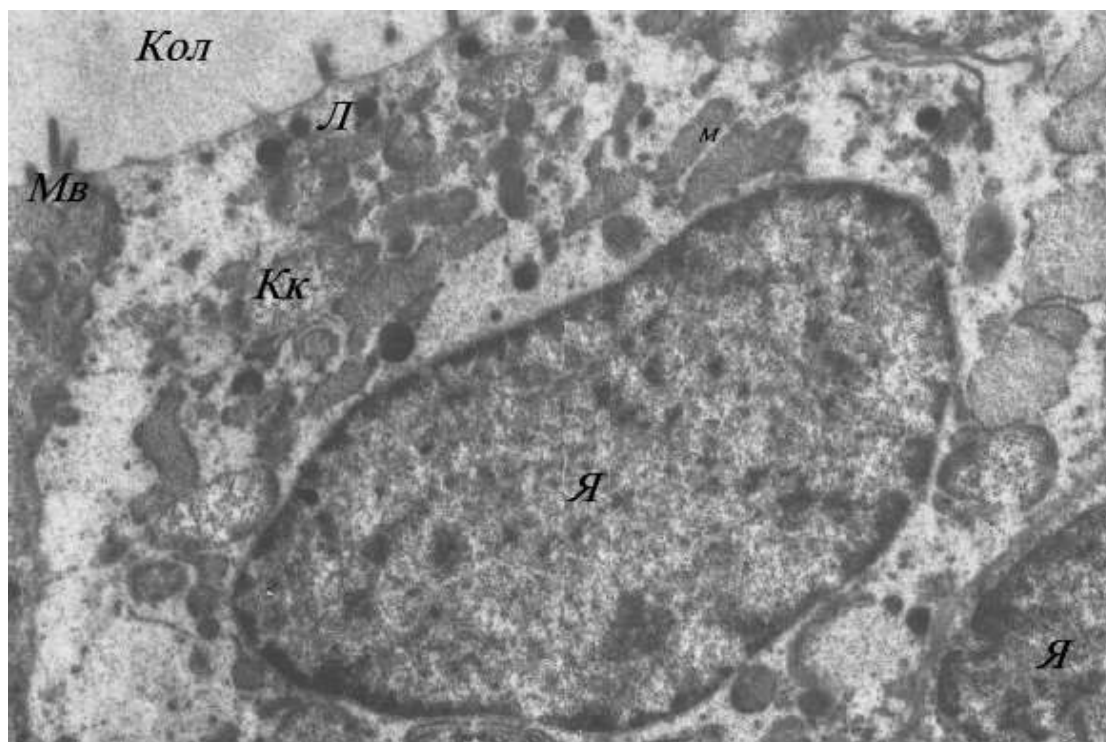


Рис. 4.29. Щитовидная железа при воздействии ламбда-цигалотрином на 7-е сутки после рождения. ТЭМ. Ув. 18000×

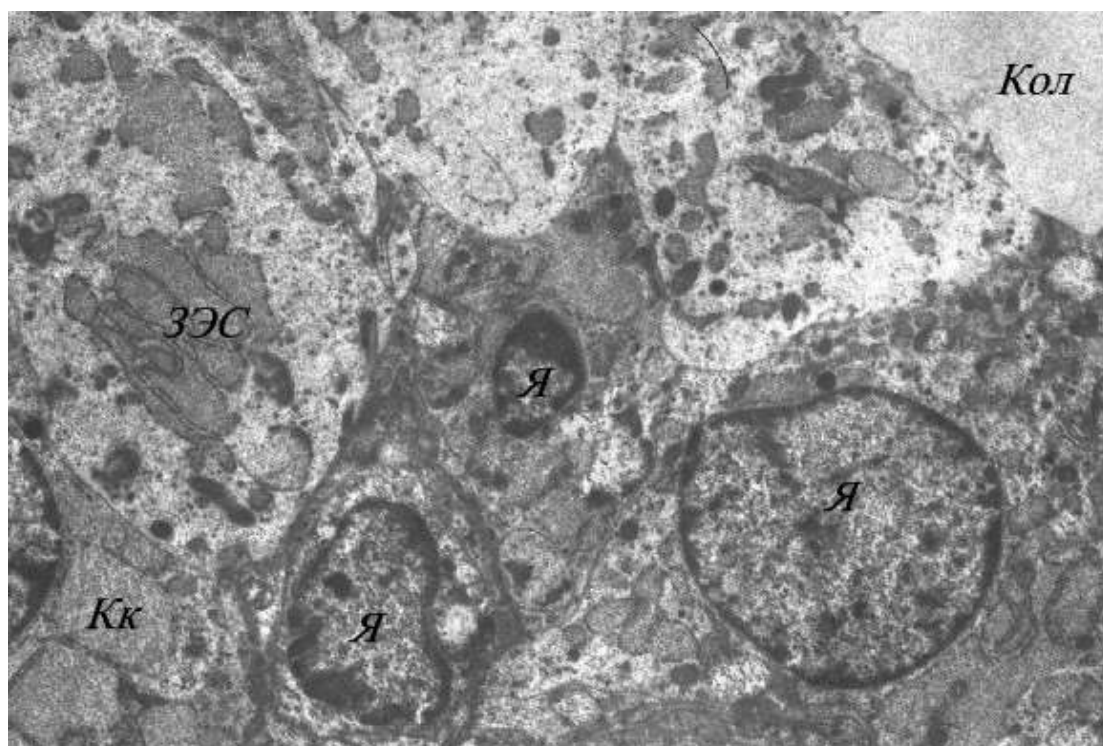


Рис. 4.30. Щитовидная железа подопытной крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 11200×

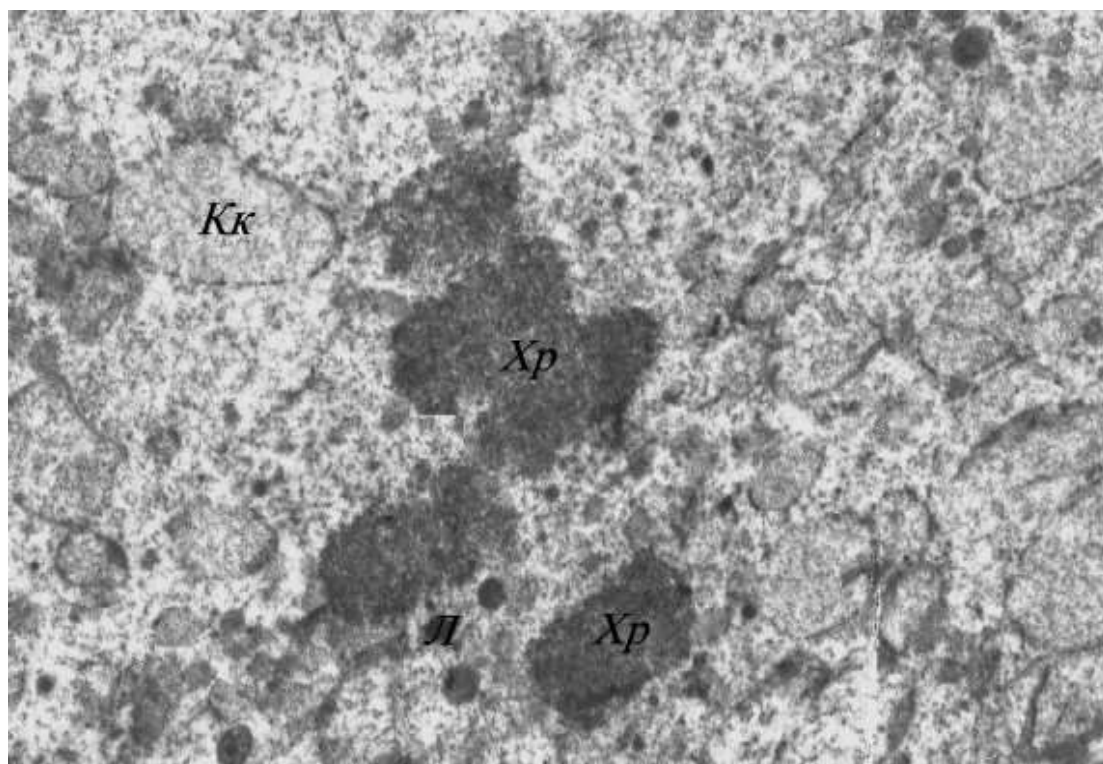


Рис. 4.31. Щитовидная железа подопытной крысы на 3-и сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Митоз тироцита. ТЭМ. Ув. 32000×

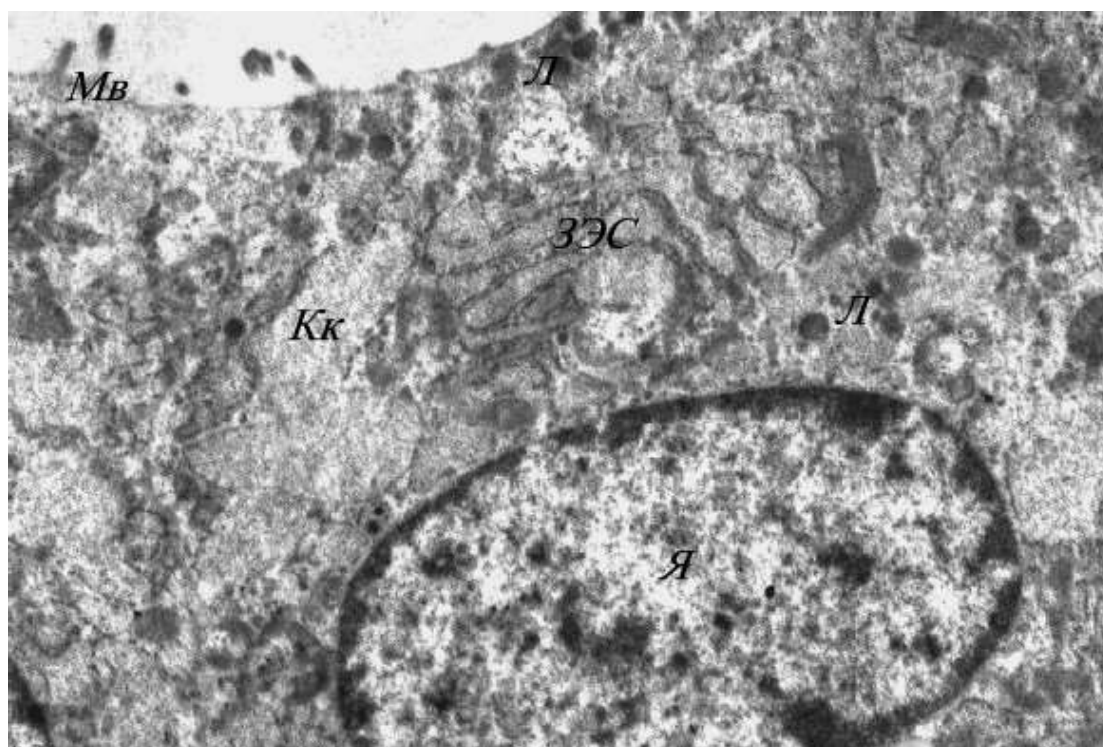


Рис. 4.32. Щитовидная железа подопытной крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 32000×

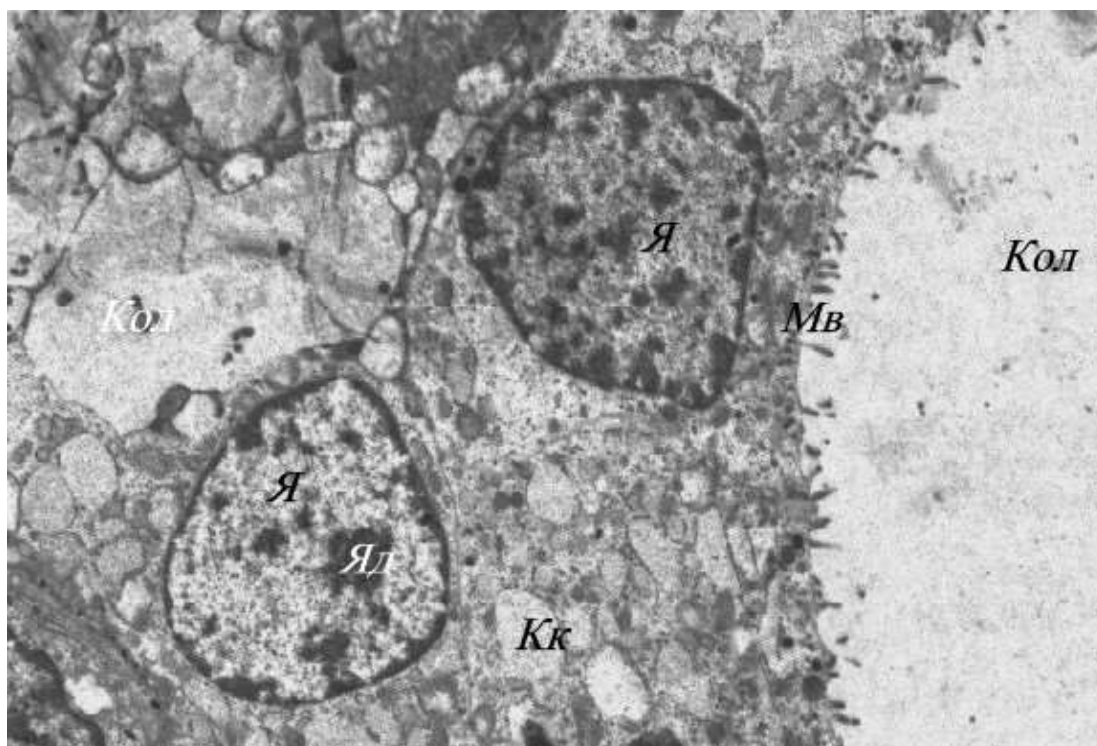


Рис. 4.33. Щитовидная железа подопытной крысы на 14-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. ТЭМ. Ув. 11200×

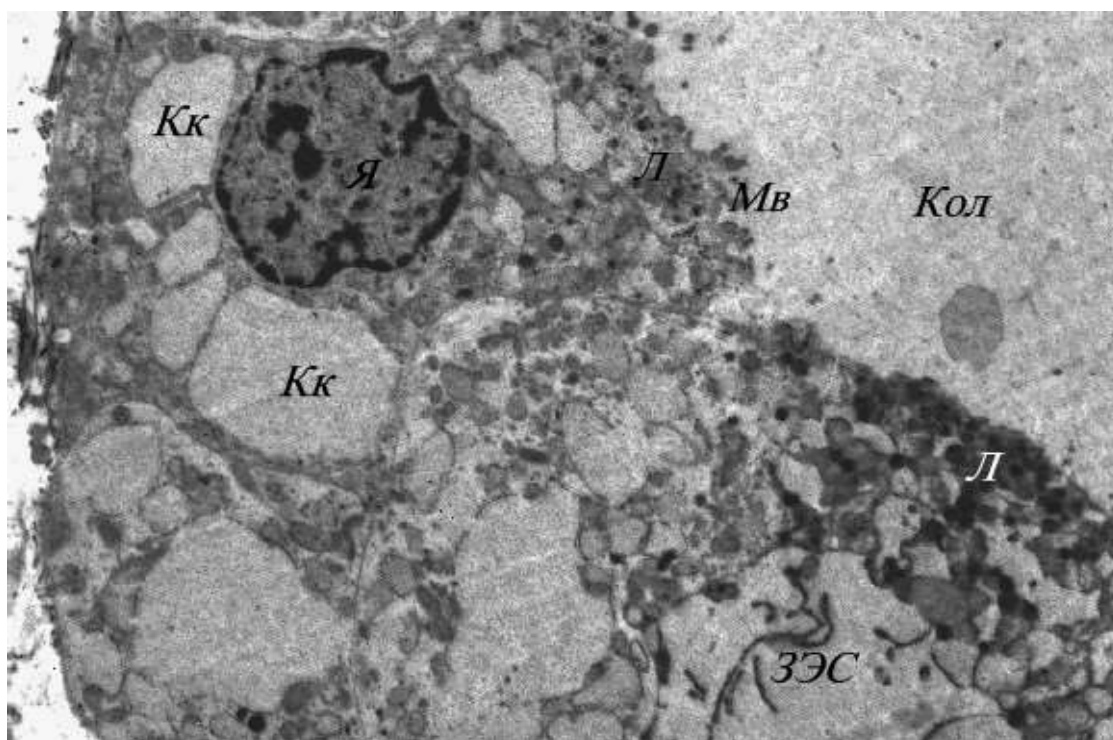


Рис. 4.34. Щитовидная железа подопытной крысы на 21-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Ув. 11200×

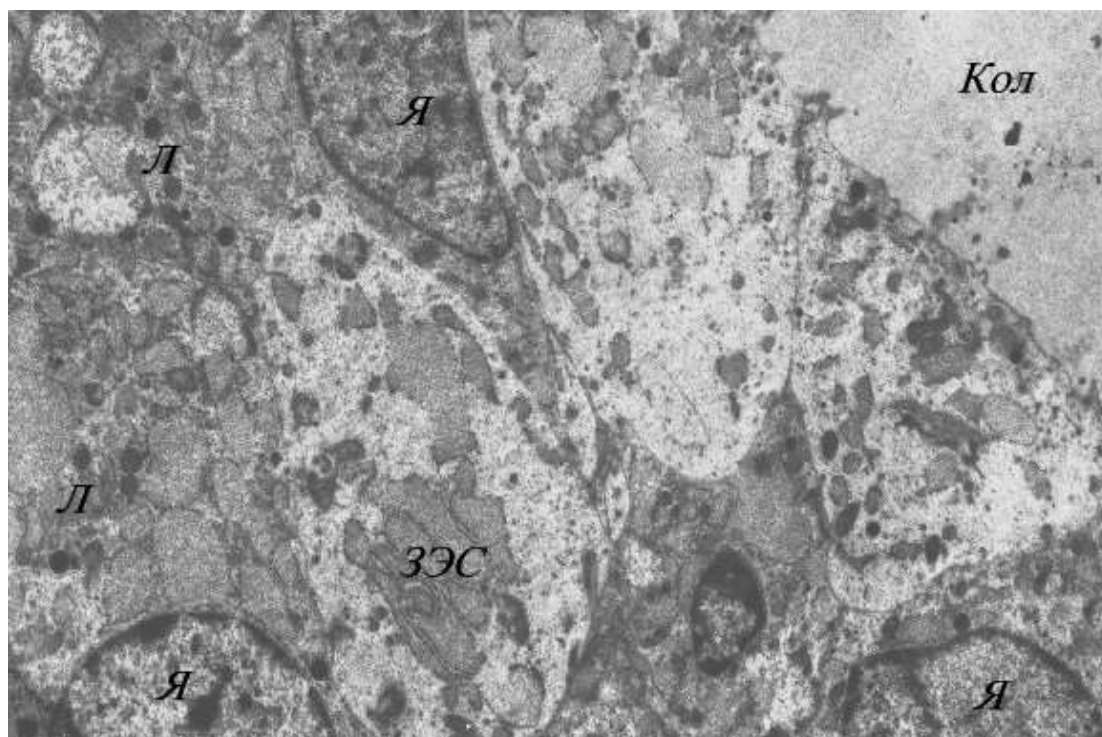


Рис. 4.35. Щитовидная железа подопытной крысы на 21-е сутки после рождения. Воздействие фипронилом. ТЭМ. Ув. 14000×

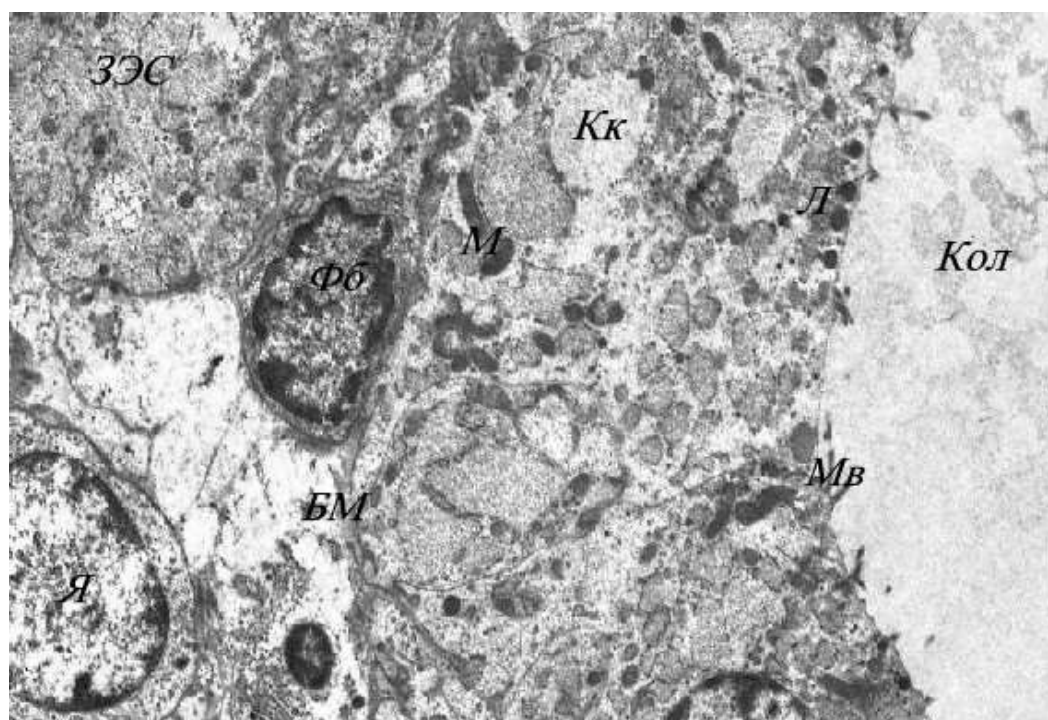


Рис. 4.36. Щитовидная железа опытной крысы на 21-е сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 14000×

Таким образом, электронно-микроскопические исследования щитовидной

железы потомства подопытных животных показали наличие определенных субмикроскопических изменений, свидетельствующих о нарушениях тех или иных фаз секреторного цикла тироцитов. В стенке фолликулов часто обнаруживались клетки с выраженными признаками дезорганизации профилей зернистой эндоплазматической сети в виде их чрезмерного расширения и снижения плотности внутреннего содержимого. Цитоплазма отдельных тироцитов выглядела как гигантская вакуоль со светлым содержимым, ядро и немногочисленные органеллы были оттеснены к периферии клетки. Часто обнаруживались тироциты с выраженным набуханием митохондрий, с просветлением их матрикса и дезорганизацией крист. Иногда в некоторых тироцитах удавалось отметить появление немногочисленных липидных капель различных размеров, которые практически не встречались у животных контрольной группы. И, наконец, у потомства от подопытных животных гораздо чаще, по сравнению с контролем, определялись тироциты с явными признаками апоптоза и деструкции цитоплазматических органелл.

#### **§4.3. Результаты морфометрических исследований**

Данные, подтверждающие вышеизложенные морфологические изменения щитовидной железы, были получены с помощью морфометрических методов исследования. Они приведены в таблицах 4.1-4.6 (см. «Приложения») и в рисунках 4.37-4.48.

В динамике постнатального роста общая площадь среза щитовидной железы во всех группах животных возрастает. Однако, при воздействии пестицидов, особенно фипронила, эти показатели имеют тенденцию к снижению (рис. 4.37).



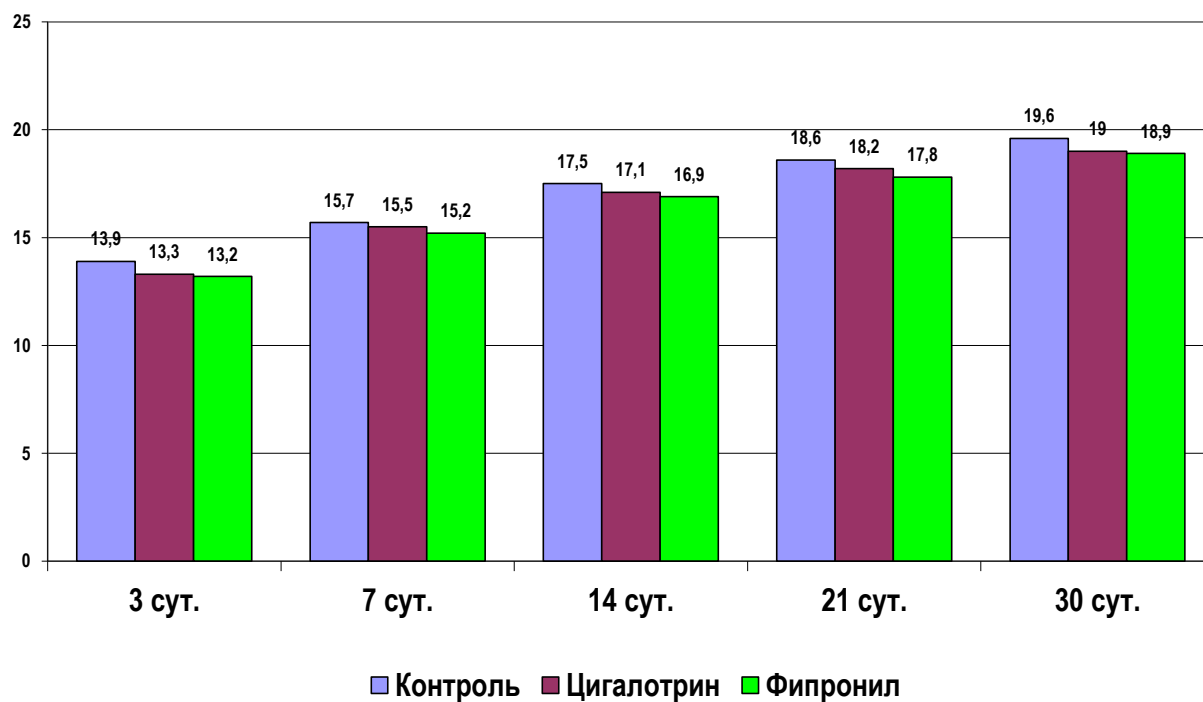


Рис. 4.37. Динамика морфометрических показателей общей площади среза (ST,  $\times 10^3 \mu m^2$ ) щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе

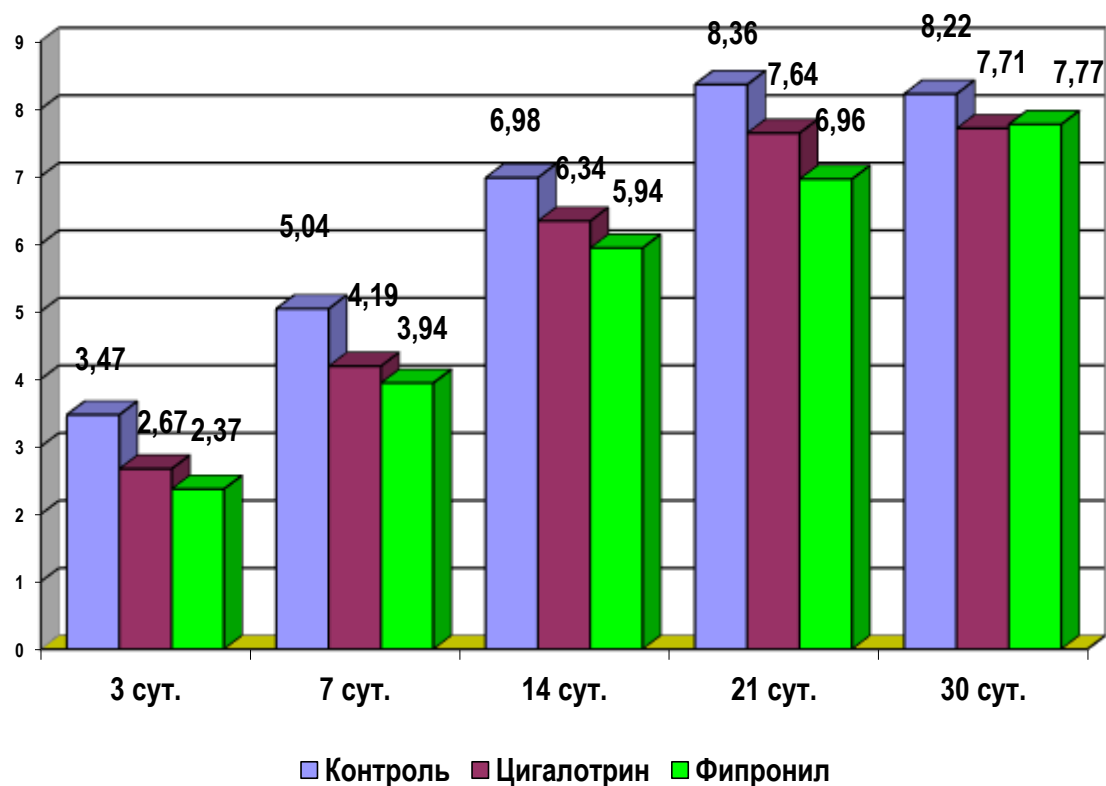


Рис. 4.38. Динамика морфометрических показателей эпителия фолликулы (SEF,  $\times 10^3 \mu m^2$ ) щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе

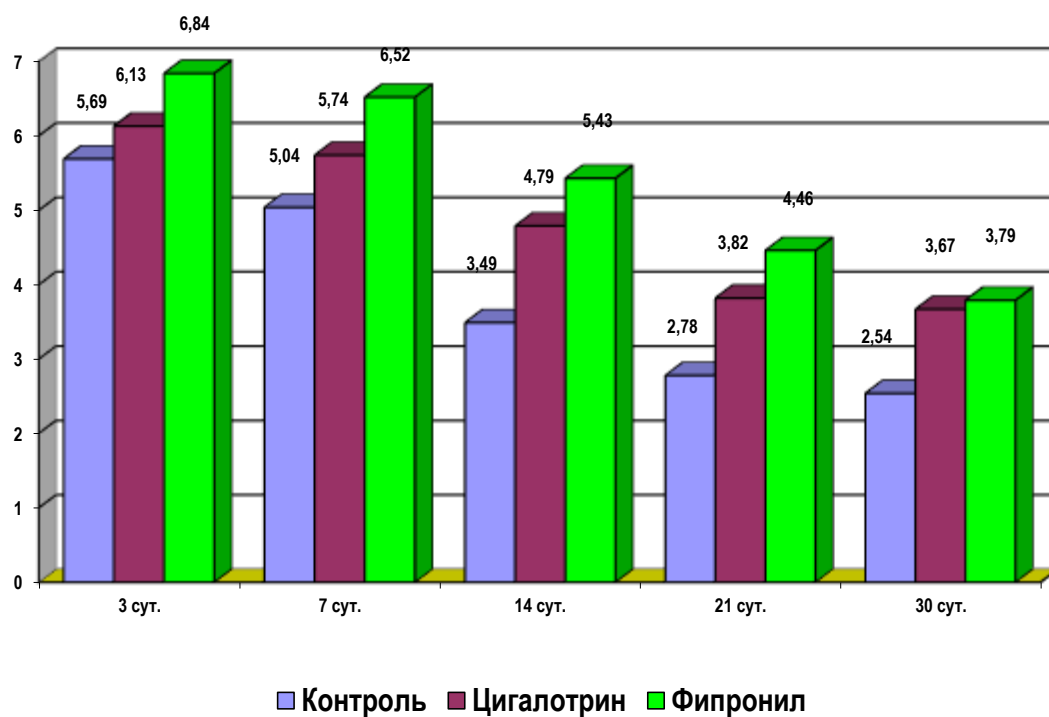


Рис. 4.39. Динамика морфометрических показателей межфолликулярного эпителия ( $SEI, \times 10^3 \mu m^2$ ) щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе.

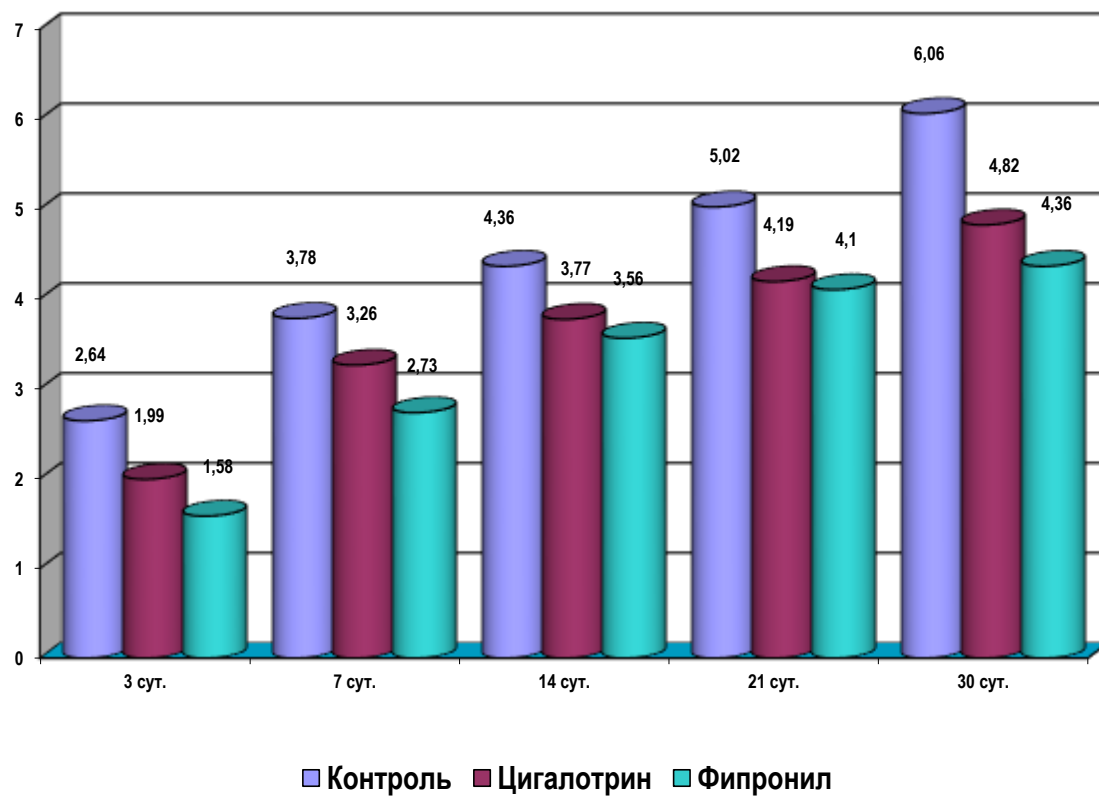


Рис 4.40. Динамика морфометрических показателей площади коллоида ( $SK, \times 10^3 \mu m^2$ ) щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе

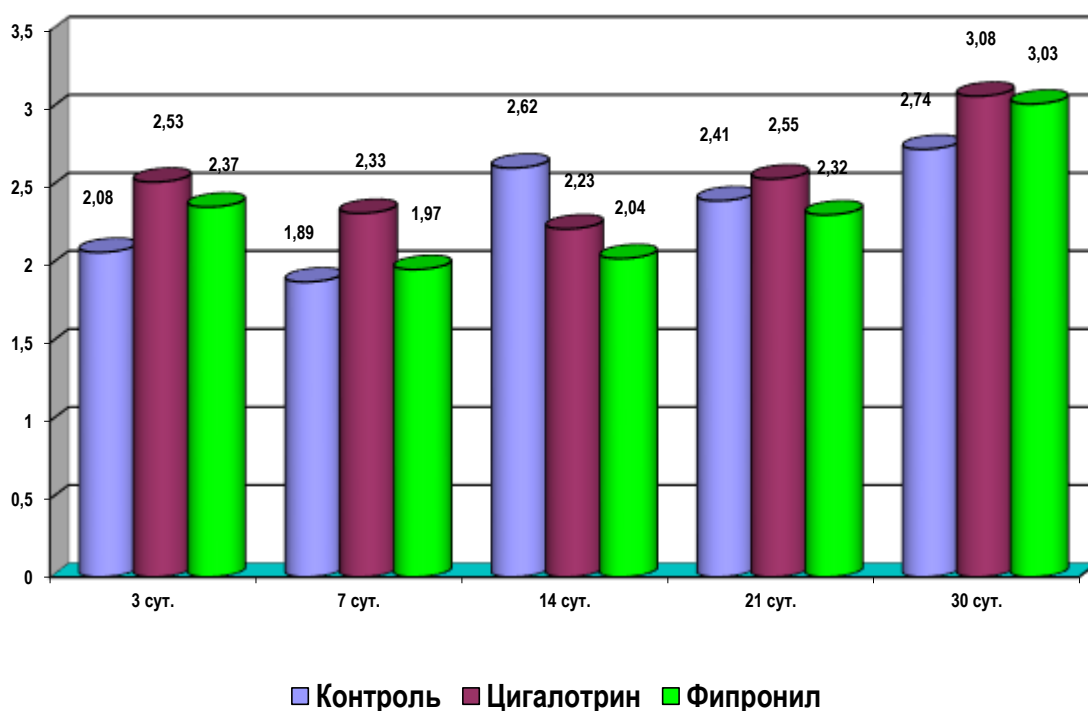


Рис. 4.41. Динамика морфометрических показателей площади стромы ( $SS, \times 10^3 \mu m^2$ ) щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе

Особенно отчетливо происходит снижение площадей, занимаемых эпителием фолликул и коллоидом (рис.4.38; 4.40). Наиболее выраженное и достоверное уменьшение этих показателей наблюдается у животных при воздействии фипронила, тогда как при воздействии ламбда-цигалотрина эти показатели снижены более умеренно. Обращает на себя внимание динамика показателей площади, занимаемой межфолликулярным эпителием (рис. 4.39). При воздействии фипронилом с 7 суток, а при воздействии ламбда-цигалотрином с 14 суток после рождения этот показатель достоверно превышает контрольные цифры. Площадь стромы в динамике онтогенеза проявляла тенденцию к увеличению, особенно при воздействии ламбда-цига-лотрином (рис. 4.41).

Полученные данные подтвердились при морфометрическом анализе показателей фолликула щитовидной железы. Прослеживалась тенденция к уменьшению наружного и внутреннего диаметра фолликул, которая наиболее наглядно проявляется при воздействии фипронила (рис. 4.42; 4.43).

Среднее число клеток в одном фолликуле через 3 суток после рождения



при воздействии ламбда-цигалотрином достоверно снижается. В дальнейшем наблюдается тенденция к увеличению числа клеток, особенно, при воздействии фипронилом (рис.4.44). Наиболее закономерные и взаимосвязанные изменения отмечены при анализе показателей фолликула. Средняя высота и площадь тироцита достоверно снижались по сравнению с контролем, причем, снижение наиболее выражено при воздействии фипронилом (рис.4.45; 4.46). Естественно, снижение параметров тироцитов обусловило закономерное уменьшение других показателей фолликула – площадей эпителия и фолликула в целом, а также коллоида (рис. 4.47; 4.48; 4.49). Таким образом, динамика роста и становления щитовидной железы после рождения имеет однотипный характер у контрольных и опытных групп потомства. Наши морфометрические исследования позволили получить данные, свидетельствующие о тех или иных нарушениях динамики роста и становления щитовидной железы потомства в условиях воздействия пестицидов.

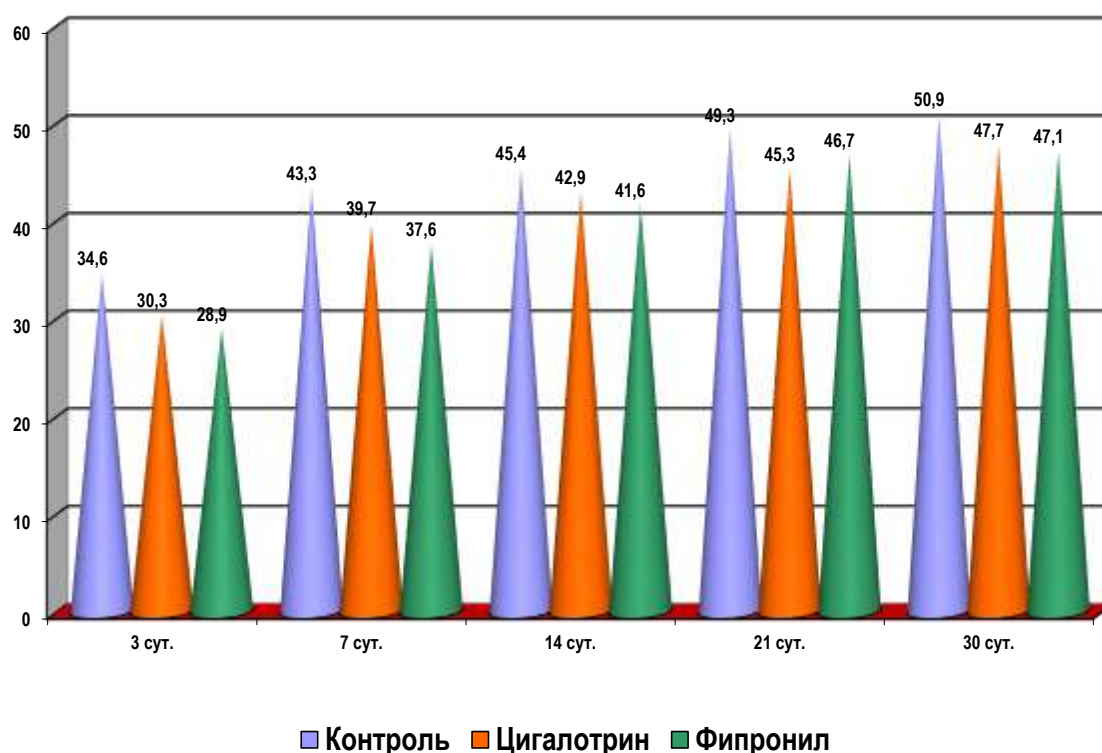


Рис 4.42. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Наружный диаметр (EDF, мкм)

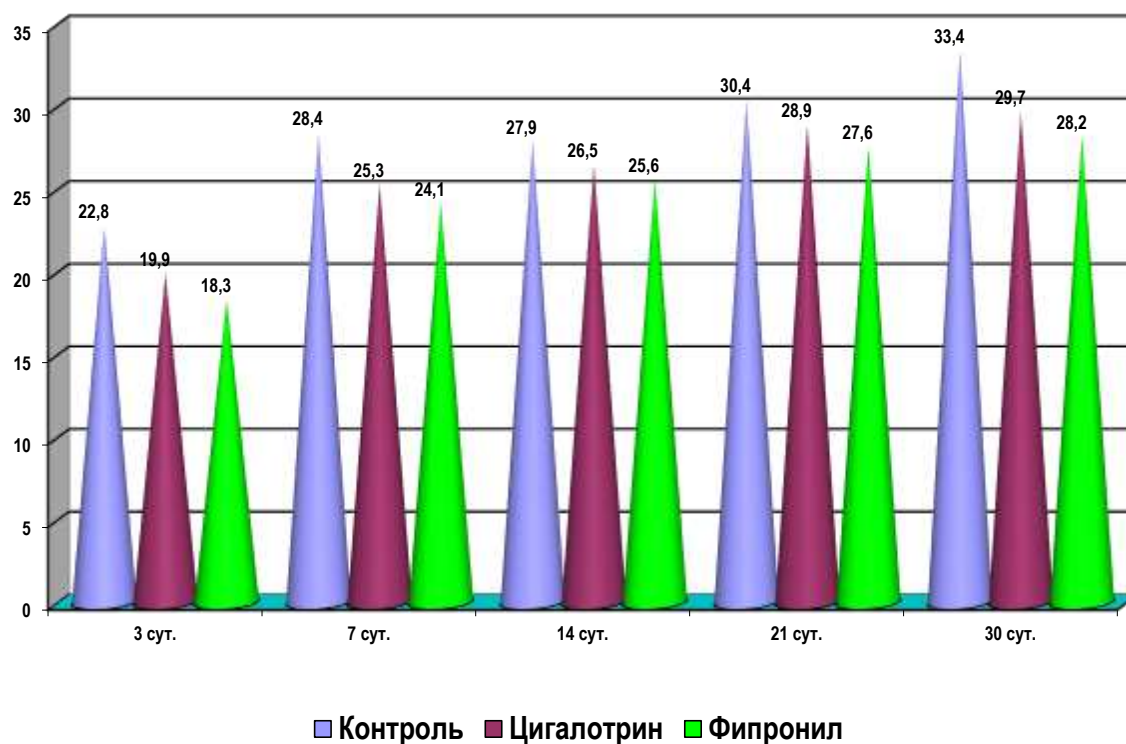


Рис. 4.43. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Внутренний диаметр (IDF, мкм)

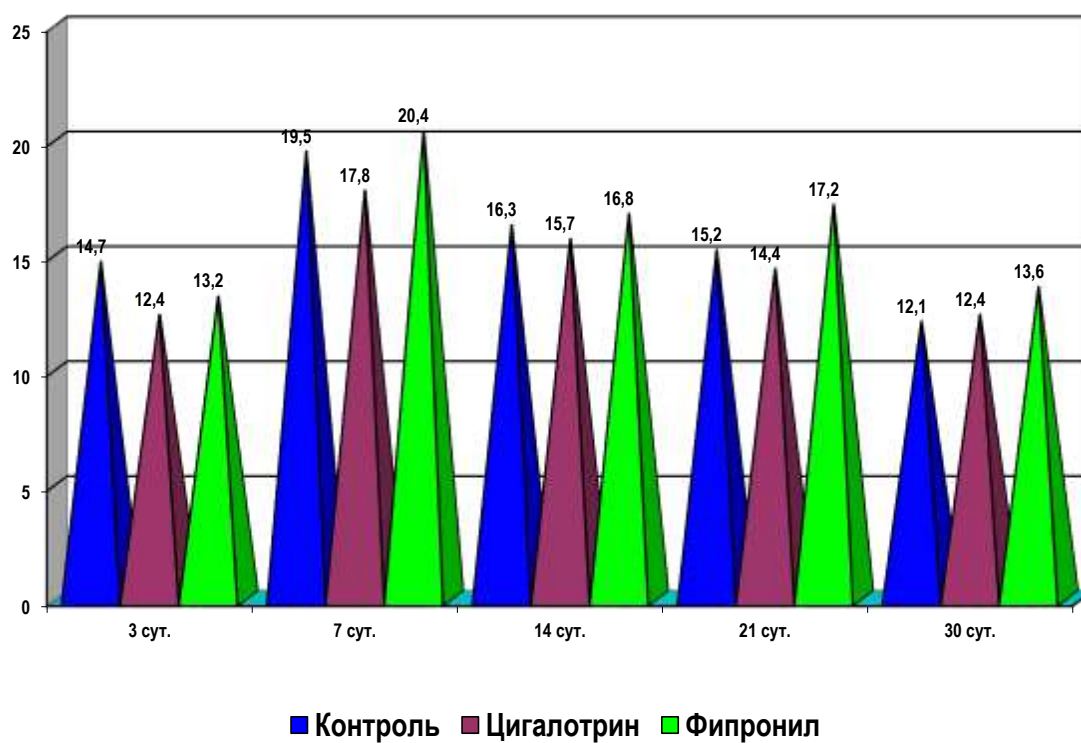


Рис 4.44. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Число клеток в фолликуле (NC)

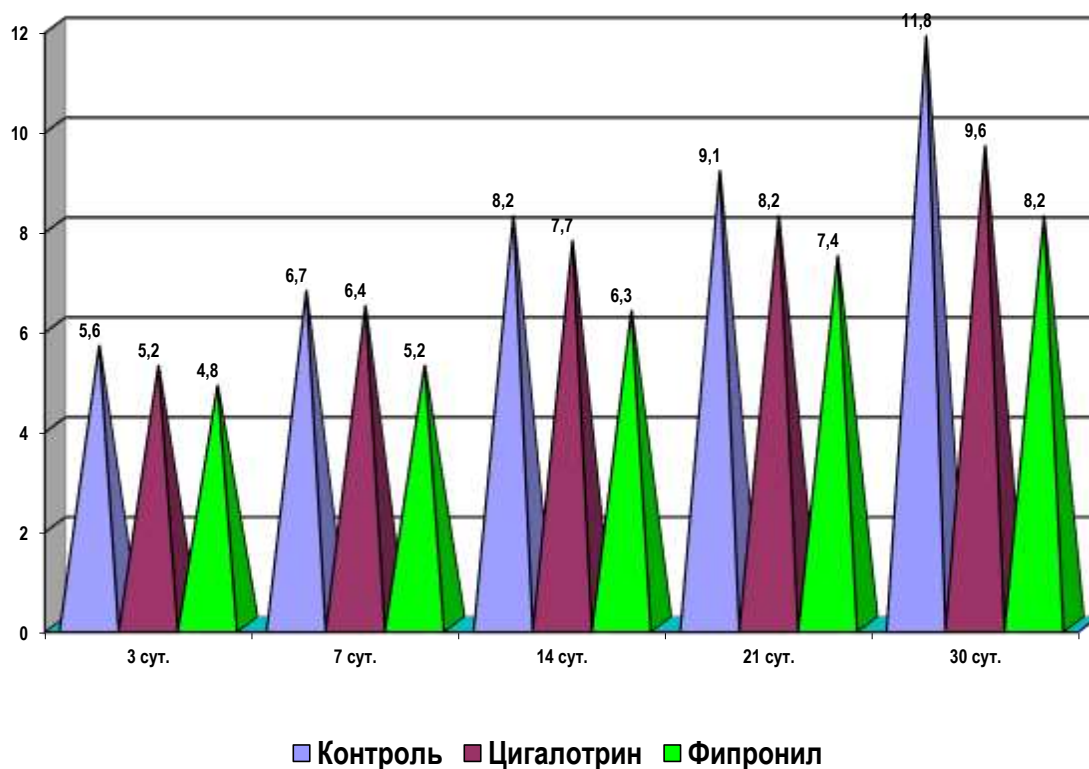


Рис. 4.45. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Высота тироцита (НТ, мкм)

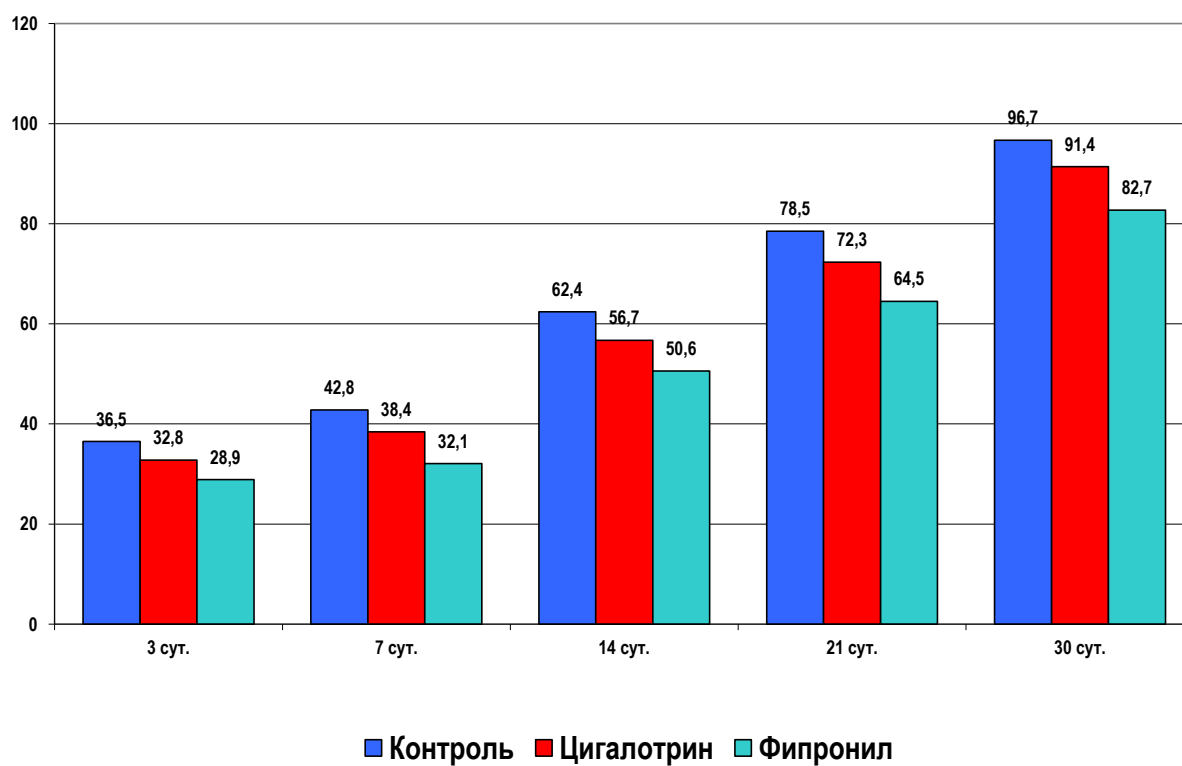


Рис. 4.46. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Площадь тироцита (СТ, мкм²)

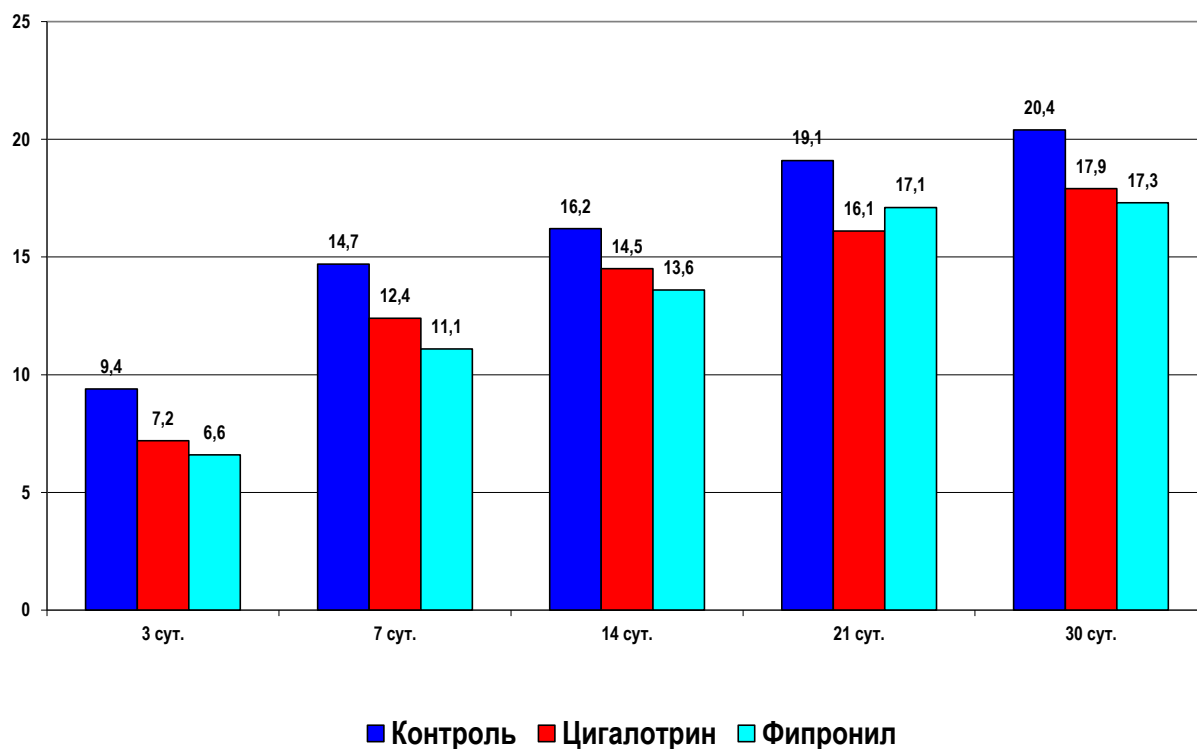


Рис 4.47. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Площадь фолликулы (SF,  $\times 10^2 \text{мкм}^2$ )

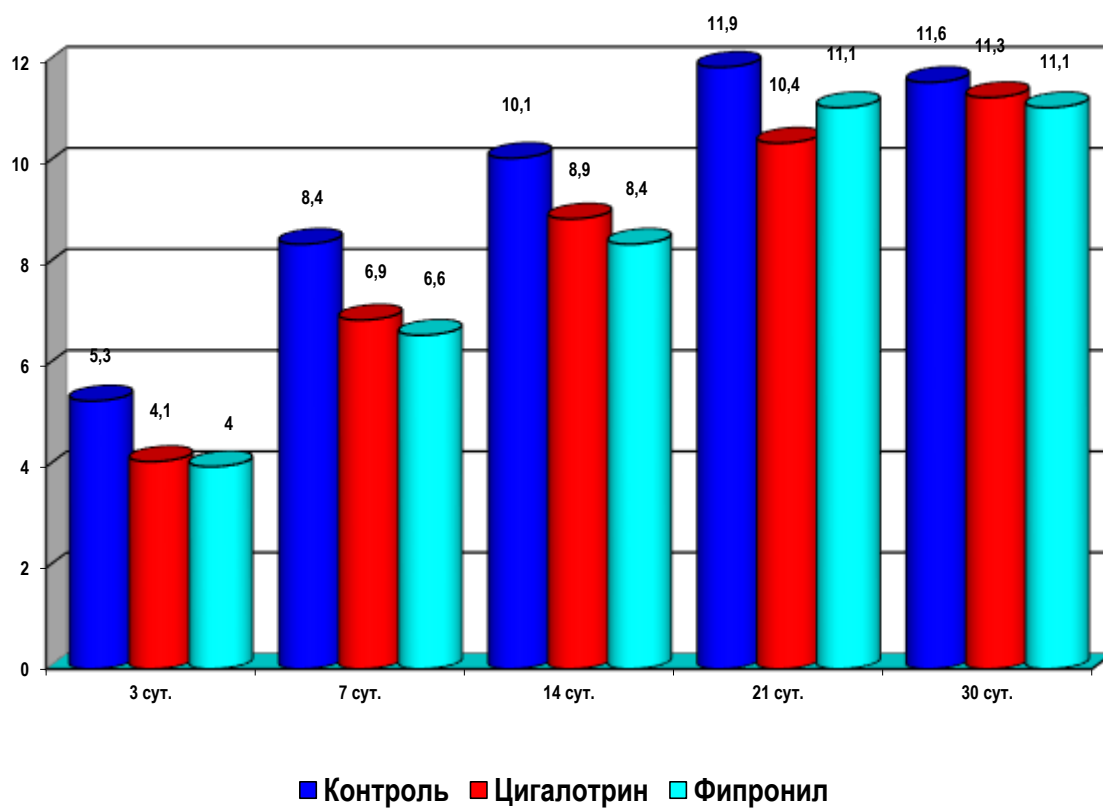


Рис 4.48. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Площадь эпителия (SE,  $\times 10^2 \text{мкм}^2$ )

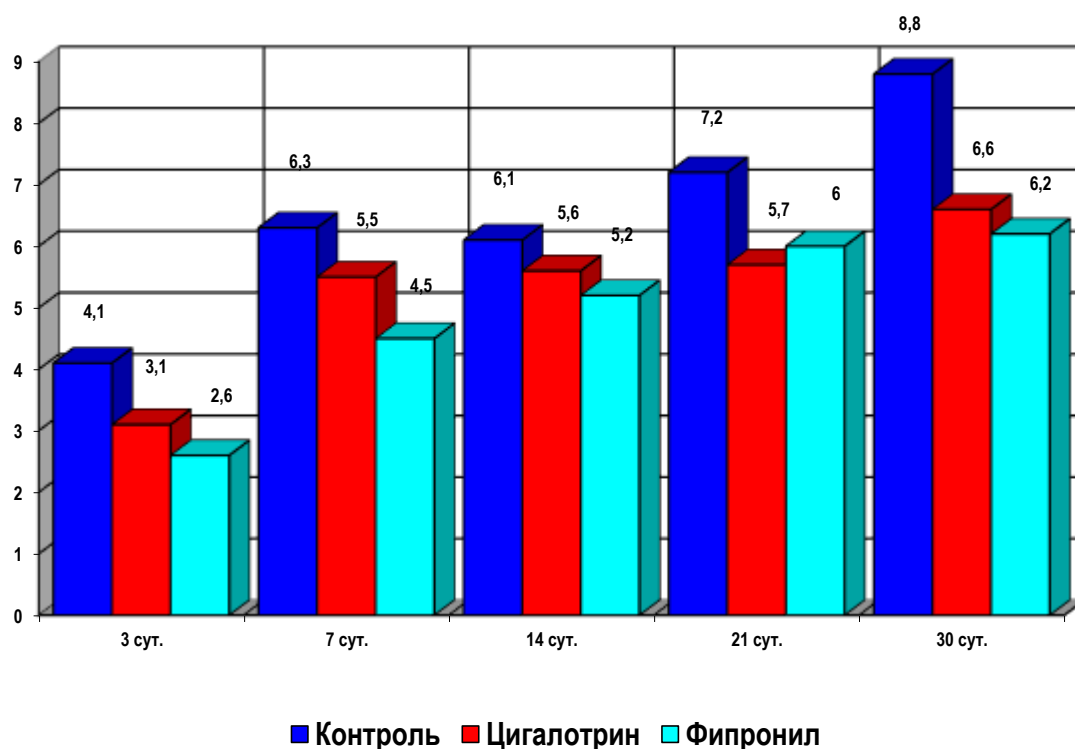


Рис. 4.49. Динамика показателей фолликулы щитовидной железы потомства крыс в онтогенезе. Площадь коллоида (SK,  $\times 10^2 \mu\text{m}^2$ ).

Темпы прироста общей площади эпителия фолликулов при воздействии ламбда-цигалотрина на 10-17% , а при воздействии фипронила –на 15-30% отстают от показателей контроля. Соответственно на 15-25%и 20-40% уменьшалась площадь, занимаемая коллоидом. И, напротив, общая площадь межфолликулярных эпителиальных островков при воздействии ламбда-цигалотрина на 15-45%, а при воздействии фипронила– на 20-60% превышала показатели контроля. Известно, что межфолликулярные эпителиальные островки являются камбиальной зоной органа, за счет которой происходит новообразование фолликулов. Увеличение площади данной зоны у опытных крыс, очевидно, является следствием замедления темпов формирования новых фолликулов. Замедление темпов роста и становления структурно-функциональной единицы щитовидной железы – фолликул, наиболее выражено при воздействии фипронила, по сравнению с воздействием ламбда-цигалотрина. Однако, отрицательный эффект пестицидов не ограничивался только лишь торможением новообразования фолликул. Выявлено, что воздействие пестицидов приводит к уменьшению площади фолликула

в целом за счет уменьшения площадей эпителия фолликула и тироцита. Темпы прироста высоты и средней площади тироцита при воздействии ЛСТ на 10-20% , а при воздействии ФПН – на 15-30% отставали от показателей контроля.

Таким образом, морфометрические исследования отчетливо показали, что воздействие пестицидов через материнский организм существенно снижает темпы роста и становления щитовидной железы в постнатальном онтогенезе. Особенно следует отметить низкие удельные показатели тироцитов во все сроки исследования, свидетельствующие о снижении секреторной активности клеток. Замедление темпов роста и становления структурно-функциональной единицы щитовидной железы – фолликулы, наиболее выражено при воздействии фипро-нила, по сравнению с хроническим воздействием ламбда-цигалотрина.

#### §4.4. Иммуногистохимическое определение апоптоза и пролиферации клеток щитовидной железы

Для выявления маркерных субстратов пролиферирующих клеток использовались моноклональные кроличьи антитела ki-67, а апоптозные клетки выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител cas-3 и p-53 (см. главу III). Срезы докрашивались метиленовым синим или нейтральным красным. При этом продукт реакции в клетках выявлялся в виде коричневых отложений. Далее подсчитывались индексы пролиферации и апоптоза на 1000 клеток (тироцитов) и выражались в промиллях.

Результаты исследования пролиферативной активности и уровня апоптоза клеток щитовидной железы приведены в таблицах 4.7, 4.8 (см. «Приложения») и на рисунках 4.50-4.51.

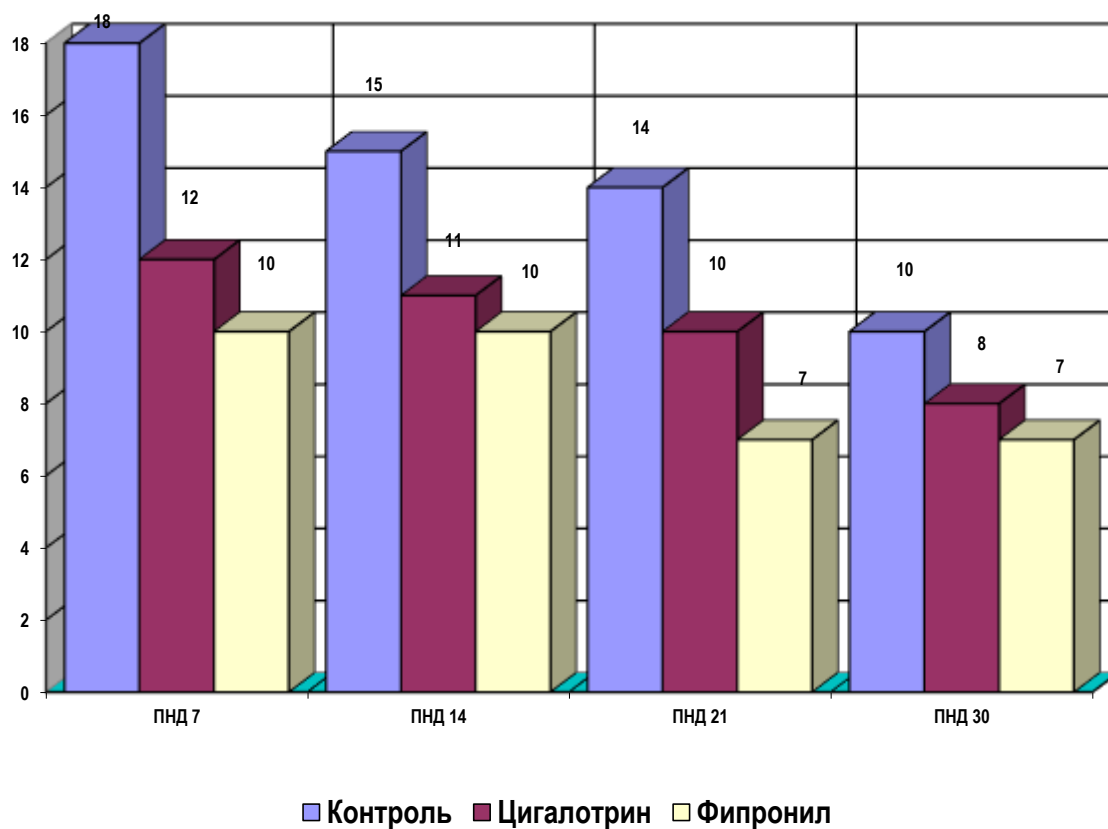


Рис. 4.50. Индекс пролиферации клеток щитовидной железы в динамике постнатального развития. ПНД – постнатальные дни

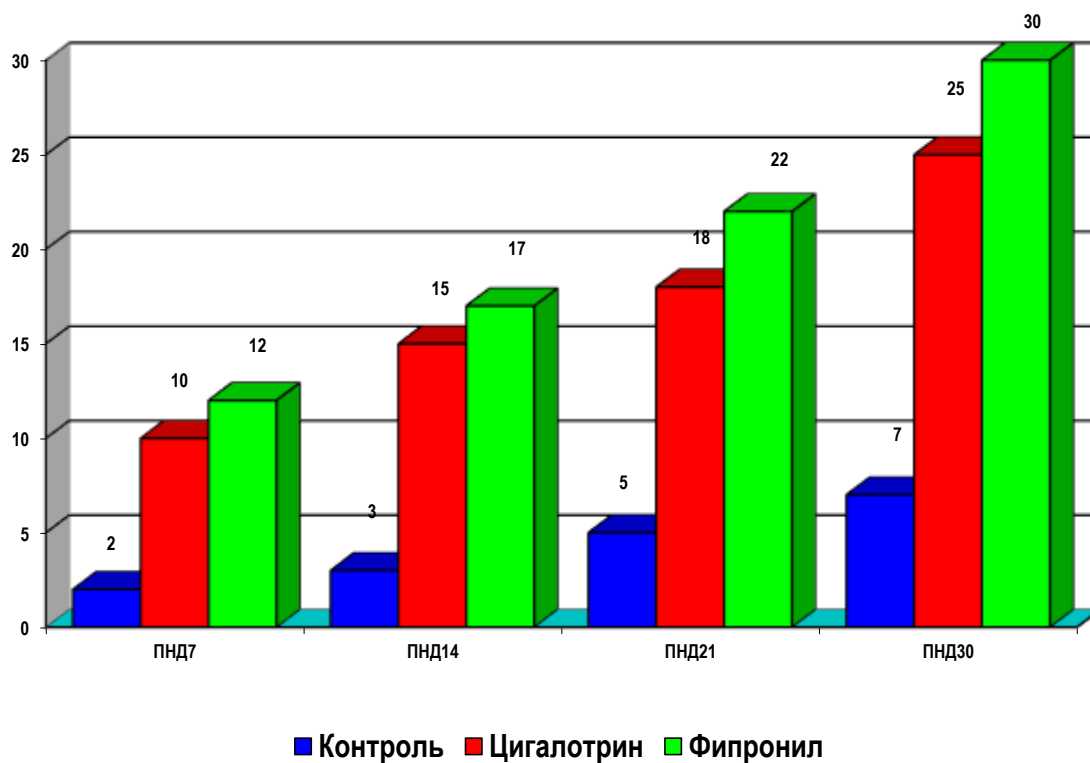


Рис. 4.51. Индекс апоптоза клеток щитовидной железы в динамике постнатального развития

Исследование степени пролиферации тироцитов показало, что наиболее высокая пролиферативная активность наблюдается на 7 сутки постнатального развития щитовидной железы. В дальнейшем пролиферативная активность тироцитов постепенно снижается и к 30 суткам составляет чуть более половины исходных показателей. У животных обеих опытных групп пролиферативная активность во все сроки наблюдения остаётся достоверно низкой по отношению к контролю (рис.4.50). Это косвенно свидетельствует о значительном снижении потенциала щитовидной железы в плане генерации клонов предшественников тироцитов и формирования новых фолликулов. Значительная часть тироцитов не достигает уровня зрелых клеток и погибает внутри щитовидной железы путем апоптоза и деструкции. Наши морфологические данные, указывающие на усиление деструкции тироцитов, получили своё подтверждение при количественном подсчёте апоптозных клеток щитовидной железы (рис. 4.51). Из приведённого графика видно, что на протяжении всего периода наблюдения степень апоптоза тироцитов в обеих группах опытных животных достоверно превышает показатели контрольной группы.

Таким образом, сравнительный анализ показал, что воздействие пестицидов приводит к уменьшению индекса пролиферации по сравнению с контролем. Снижение пролиферативной активности клеток щитовидной железы в обеих опытных группах наиболее выражено на 7-21 сутки постнатального периода. В эти сроки наблюдения индекс пролиферации при воздействии фипронилом снижается на 40-45% от контроля, тогда как воздействие ламбда-цигалотрином уменьшает индекс пролиферации на 28-30% по сравнению с контролем. На 30 сутки после рождения на фоне общего снижения пролиферативной активности клеток уменьшение индекса пролиферации при воздействии ламбда-цигалотрином составляет 13%, а при воздействии фипронилом – 18%, по сравнению с контролем. Все это в целом указывает на значительное угнетение пролиферации клеток щитовидной железы при внутриутробном и раннем постнатальном воздействии пестицидов. При этом наиболее выраженное и достоверное уменьшение



пролиферации отмечено при воздействии фипронилом, по сравнению с ламбда-цигалотрином. Одновременно с этим, во все сроки наблюдения индекс апоптоза у опытных животных значительно превышает показатели контроля. Наибольшее повышение индекса апоптоза наблюдалось на 14-21 сутки после рождения, когда индексы опытных животных в 3,2-4,3 раза превышали контрольные показатели. При этом индукция апоптоза клеток проявляется в более высокой степени при воздействии фипронила, нежели при воздействии цигалотрина.

Следовательно, у потомства, полученного в условиях хронического воздействия пестицидов, наблюдается выраженный дисбаланс между процессами пролиферации и деструкции тироцитов.

#### §4.5. Уровень гормонов гипофизарно-тироидной системы

Результаты исследования гормонов гипофиза и щитовидной железы приведены в таблицах 4.9-4.14 (см. «Приложения») и на рисунках 4.52-4.57.

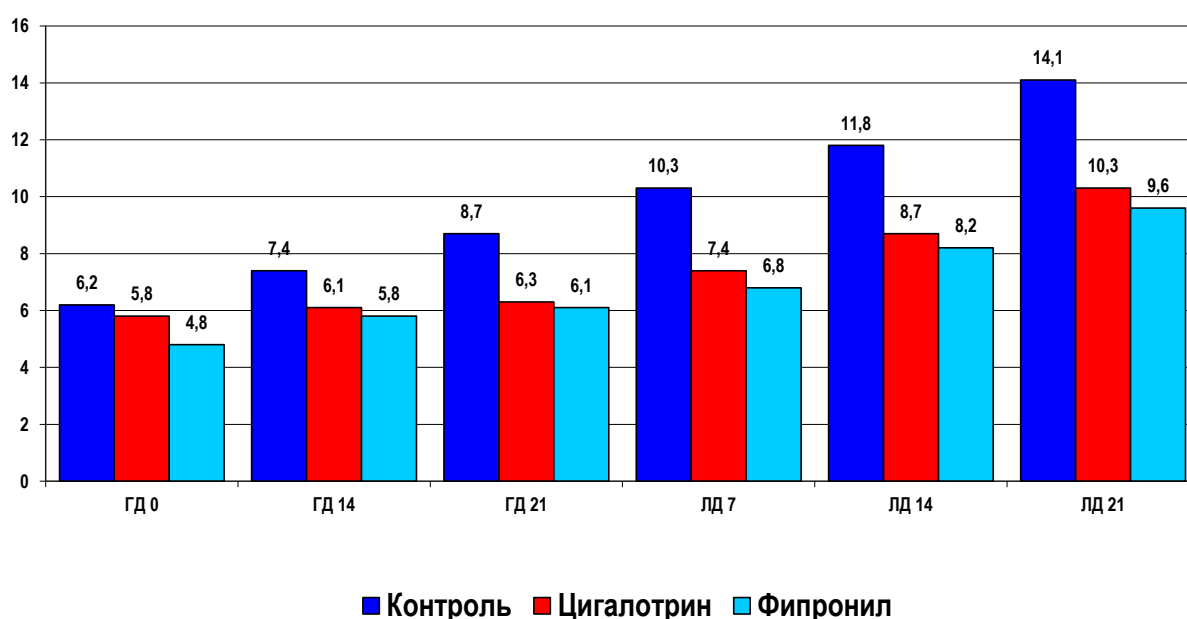


Рис.4.52. Уровень тироксина (Т<sub>4</sub>) у самок крыс в динамике беременности и лактации, в нг/мл

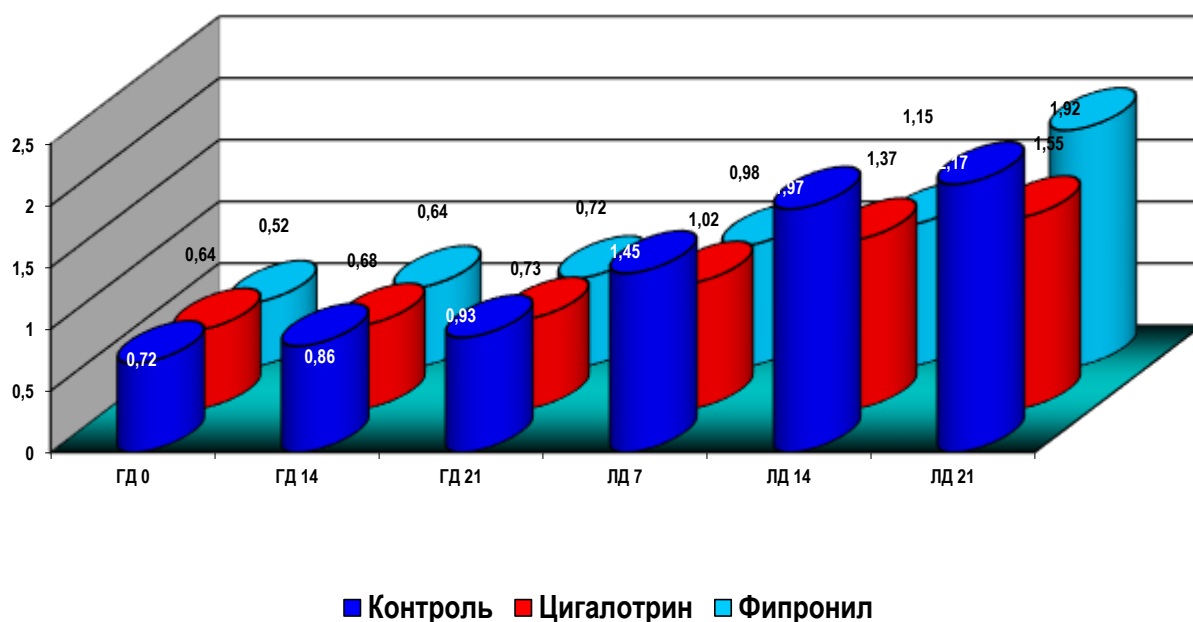


Рис.4.53. Уровень трийодтиронина (Т<sub>3</sub>) самок крыс в динамике беременности и лактации, в нг/мл

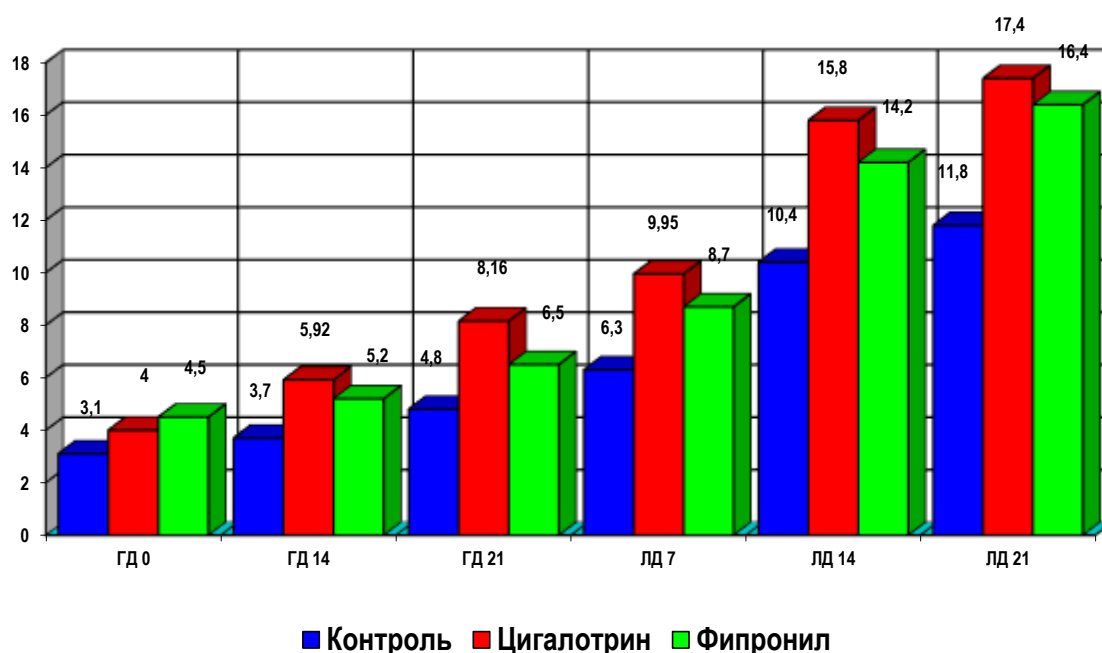


Рис. 4.54. Уровень тиротропного гормона (ТТГ) самок крыс в динамике беременности и лактации, в МЕ/л

Полученные данные показали, что беременность, и особенно, лактация по себе приводят к прогрессивному увеличению Т<sub>4</sub> и Т<sub>3</sub> (рис. 4.52 и 4.53). У небеременных крыс-самок, получавших в течение месяца ламбда-цигалотрин (ЛСТ) и фипронил (ФПН), концентрация этих гормонов достоверно снижалась. Снижение Т<sub>4</sub> и Т<sub>3</sub> у этих животных сопровождалось увеличением концентрации

тиротропного гормона гипофиза. С наступлением беременности в обеих группах у самок крыс, получающих ЛСТ и ФПН, развился отчетливый гипотиреоз. На 21-й дни гестации концентрация  $T_4$  и  $T_3$  в обеих группах была достоверно низкой по сравнению с контролем. Концентрация тиротропного гормона (ТТГ) в обеих группах крыс прогрессивно повышалась от беременности до лактации (рис. 4.54). В период лактации выявленные изменения сохранялись. Особенно большое различие между опытными и контрольными крысами обнаружено на 14-й и 21-й дни лактации. В эти дни концентрация  $T_4$  и  $T_3$  у подопытных крыс-самок в 1,3-1,4 раза снижалась по сравнению с контролем.

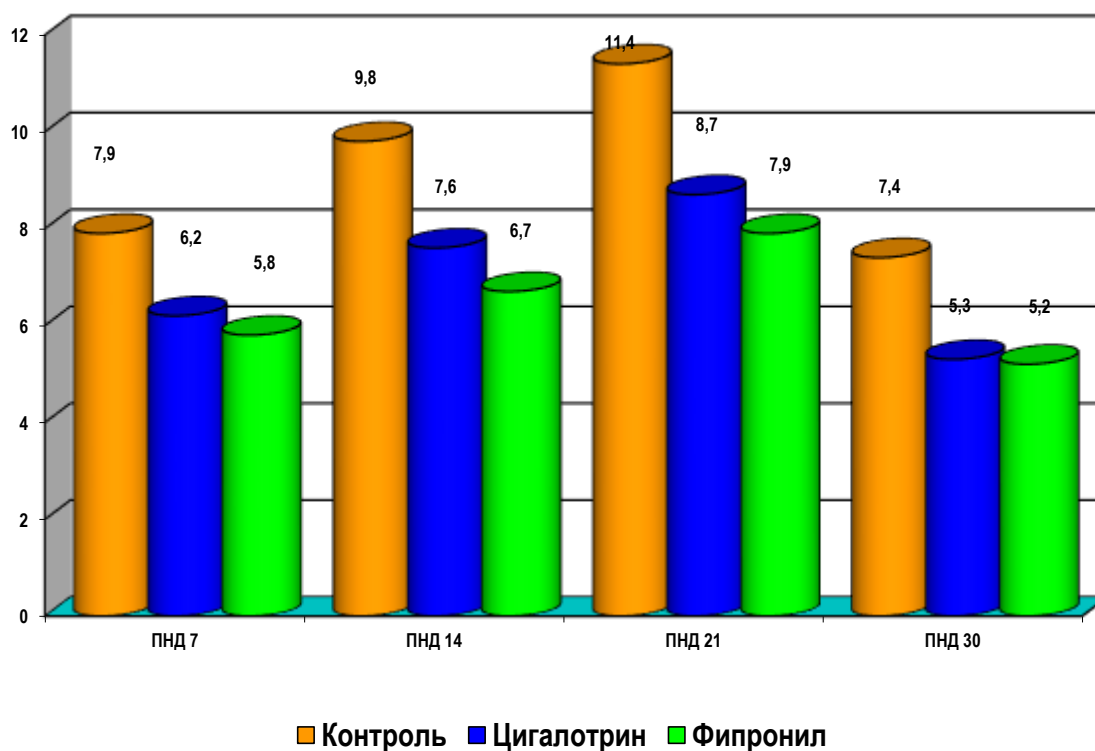


Рис. 4.55. Уровень тироксина ( $T_4$ ) у потомства крыс в динамике постнатального развития, в нг/мл.

Примечание: ПНД – постнатальные дни.

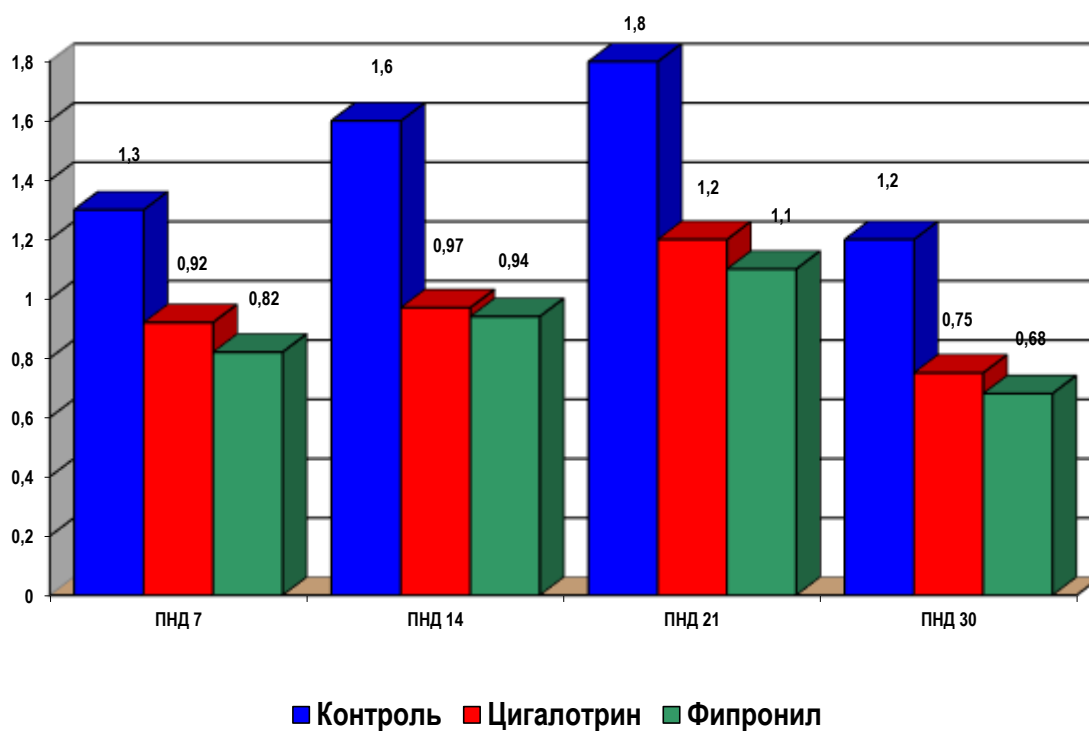


Рис 4.56. Уровень трийодтиронина ( $T_3$ ) у потомства крыс в динамике постнатального развития, в нг/мл.

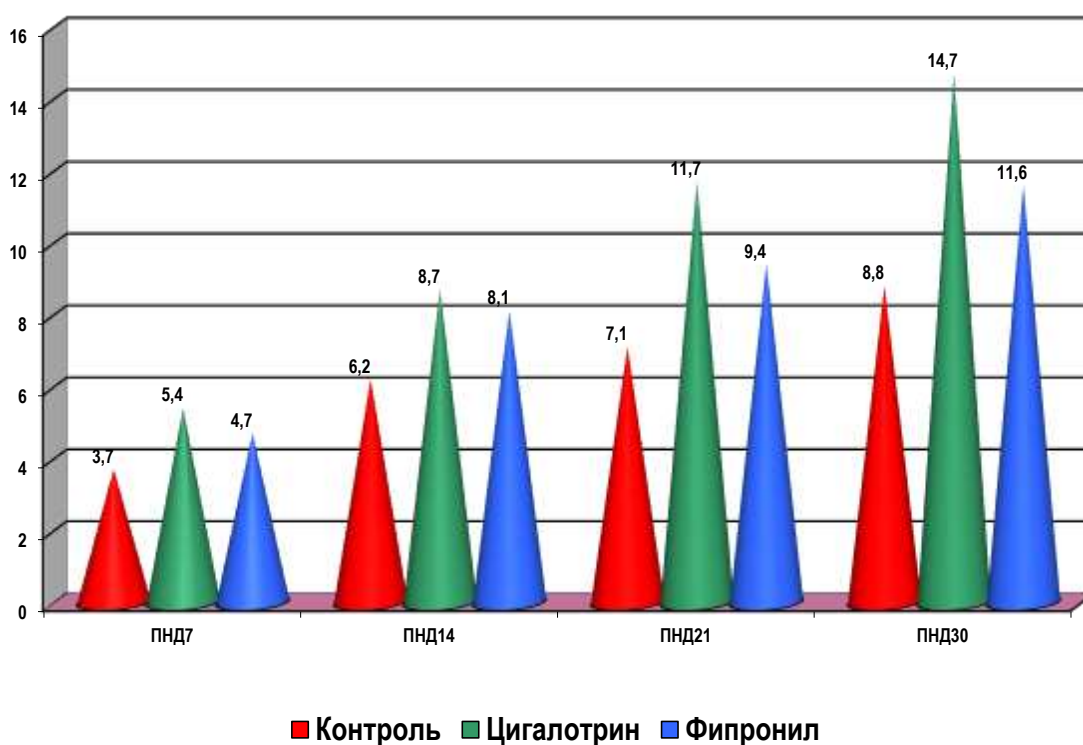


Рис.4.57. Концентрация тиротропного гормона (ТТГ) у потомства крыс в динамике постнатального развития, в МЕ/л.

Воздействие ЛСТ и ФПН во внутриутробном периоде и через грудное молоко приводило к значительному нарушению тироидной функции у потомства.

Концентрация  $T_4$  и  $T_3$  в обеих опытных группах во все сроки наблюдения была достоверно снижена по сравнению с контролем (рис. 4.55 и 4.56). Наибольшее различие в концентрациях гормонов выявлено на 14-е и 21-е сутки лактации, когда уровень гормонов у опытных крыс был уменьшен более чем в 1,3 раза по сравнению с контролем. Снижение  $T_4$  и  $T_3$  у этих животных сопровождалось увеличением концентрации тиротропного гормона гипофиза (рис. 4.57). При этом повышение концентрации ТТГ было наибольшим у животных, матери которых получали ламбда-цигалотрин. У этих животных концентрация ТТГ превышала контроль в 1,5-1,8 раза, тогда как в группе с фипронилом превышение составляло 1,2-1,4 раза.

Полученные данные позволяют заключить, что длительное воздействие малых доз пестицидов приводит к нарушению функции щитовидной железы у беременных самок крыс и их потомства. При этом, несмотря на повышенный уровень тиротропного гормона, гипотиреоз у новорожденных крысят сохраняется вплоть до окончания экспериментов.

## **Глава V. ЭФФЕКТ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ ПОТОМСТВА**

### **§5.1. Данные общей морфологии**

Нами выявлено, что рост и становление надпочечных желез осуществляется в раннем постнатальном периоде и характеризуется определенной динамикой. Эта динамика во многом аналогична той, которая описана выше в щитовидной железе и свидетельствует об общности регуляторных механизмов постнатального развития периферических органов эндокринной системы.

У новорожденных крысят снаружи орган покрыт соединительнотканной капсулой, содержащей большую прослойку жировой ткани. Капсула в основном представлена клетками фибробластического ряда. К моменту рождения кора надпочечных желез достаточно хорошо сформирована. В ней отчетливо дифференцирована клубочковая и пучковая зона, тогда как сетчатая зона практически не идентифицируется. Сосудистая система коры надпочечных желез также ещё слабо развита, и, в основном, представлена синусоидными гемокапиллярами и единичными артериолами. Венозная сеть органа состояла из тонкостенных трабекулярных вен и посткапиллярных венул с узким просветом. На 3-и сутки постнатального развития наблюдалось дальнейшее становление паренхимы органа. Увеличивались количество и размеры клеток в клубочковой и пучковой зонах (рис. 5.1).

Надпочечная железа контрольных крыс на 3-и сутки после рождения достаточно сформирована, окружена тонкой соединительнотканной капсулой. Четко различаются кора и мозговое вещество надпочечника. Паренхима коры железы состоит из недостаточно сформированных клубочковых, пучковых и сетчатых зон.



Рис. 5.1. Надпочечная железа контрольной крысы на 3 сутки после рождения. Окраска гематоксилином – эозином. Об.4. Ок.10.

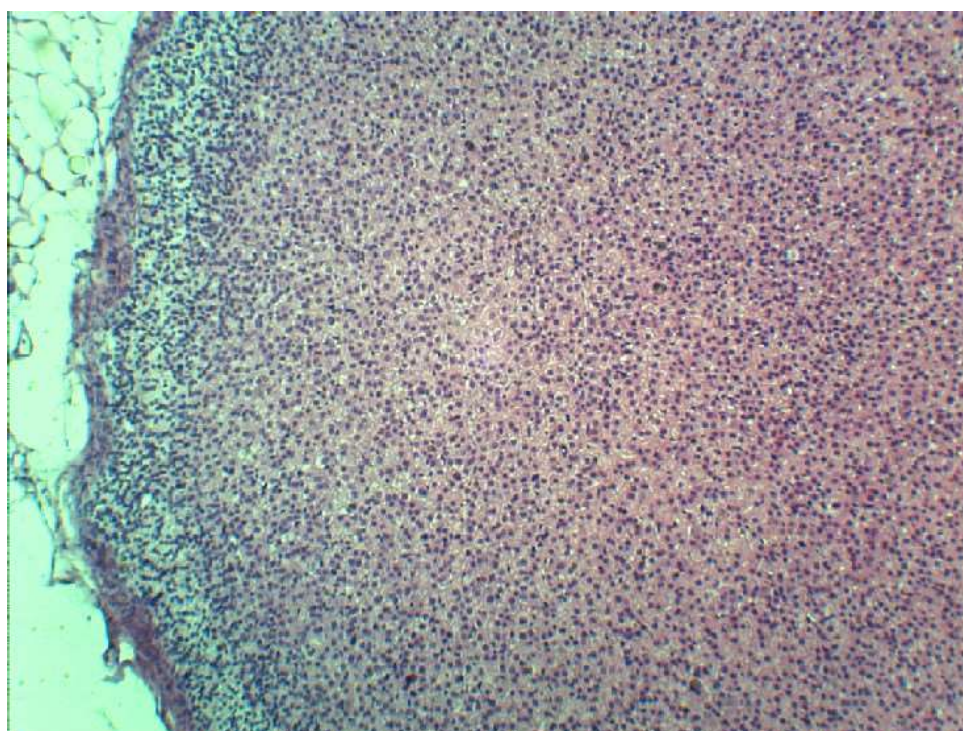


Рис. 5.2. Кора надпочечных желез контрольной крысы на 7 сутки после рождения. Окраска гематоксилином – эозином. Об.10. Ок.10



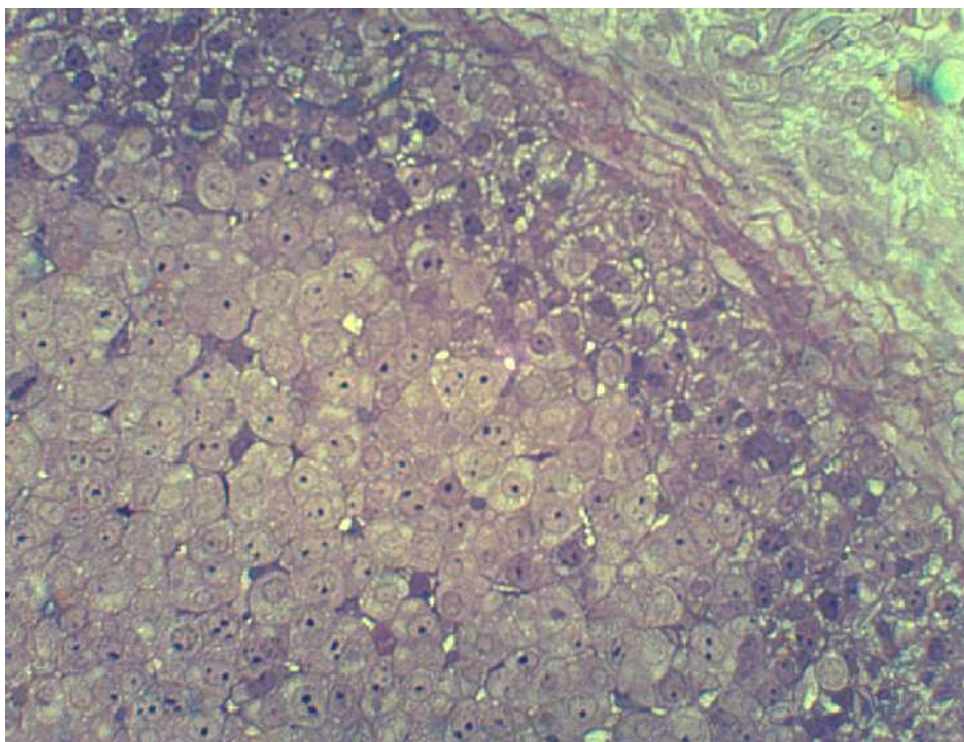


Рис. 5.3. Кора надпочечных желез контрольной крысы на 14 сутки после рождения. Капсула, клубочковая и пучковая зоны. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.

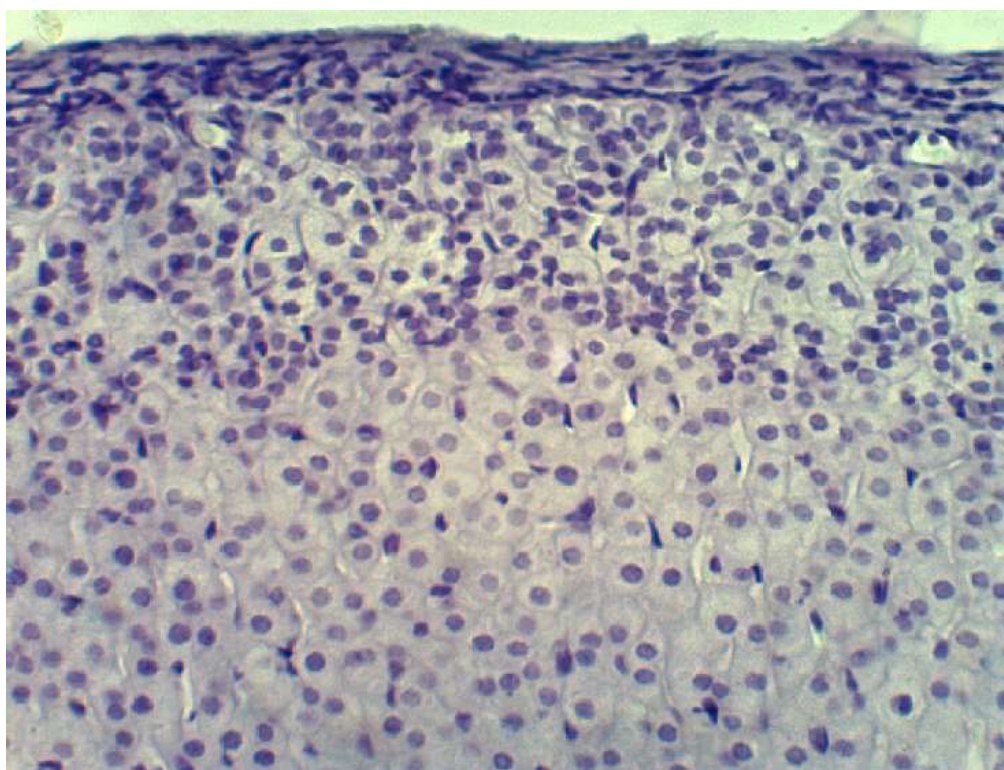


Рис. 5.4. Кора надпочечных желез контрольной крысы на 21 сутки после рождения. Окраска гематоксилином-эозином. Об.10. Ок.10



Сетчатая зона дифференцируется с трудом. Аналогичная морфологическая картина надпочечной железы наблюдалась и в опытных группах потомства.

На 7 сутки постнатального развития кора надпочечных желез характеризовались увеличением их площади, дальнейшим ростом клубочковой и пучковой зон (рис. 5.2). Вместе с тем, сетчатая зона органа в этот срок оставалась неразвитой. Дальнейшая динамика роста и становления надпочечной железы имела однотипный характер во всех группах исследованных животных. Эта динамика проявлялась в увеличении размеров железы в целом, увеличении размеров клубочковых, пучковых и сетчатых зон. На 14 сутки постнатального развития наблюдалось дальнейшее становление коры надпочечников (рис. 5.3). Этот период характеризовался интенсивным формированием пучковой зоны и появлением сетчатой зоны. На 21 сутки постнатального онтогенеза наблюдалось становление всех зон коры надпочечников (рис. 5.4). К 30-м суткам после рождения кора надпочечных желез существенно не отличалась от таковой у взрослых животных.

Динамика роста и становления коры надпочечной железы у опытных групп животных была однотипной с контрольной группой. Вместе с тем, наблюдалось некоторое отставание формирования структурных зон органа.

На 7 сутки после рождения у опытных животных отчетливо дифференцированы клубочковая и пучковая зоны (рис. 5.5 и 5.6). К 14 суткам после рождения у опытных животных наблюдается дальнейшая дифференцировка клубочковой и пучковой зон (рис. 5.7 и 5.8). На 21 сутки после рождения завершается дифференцировка клубочковой и пучковой зон (рис. 5.9 и 5.10). Следует отметить, что у опытных животных среди клеток этих зон довольно часто обнаруживаются деструктивные клетки с пикнотичными ядрами и вакуолизированной цитоплазмой. Деструктивные клетки значительно чаще выявляются у потомства крыс, подвергнутых воздействию фипронилом.

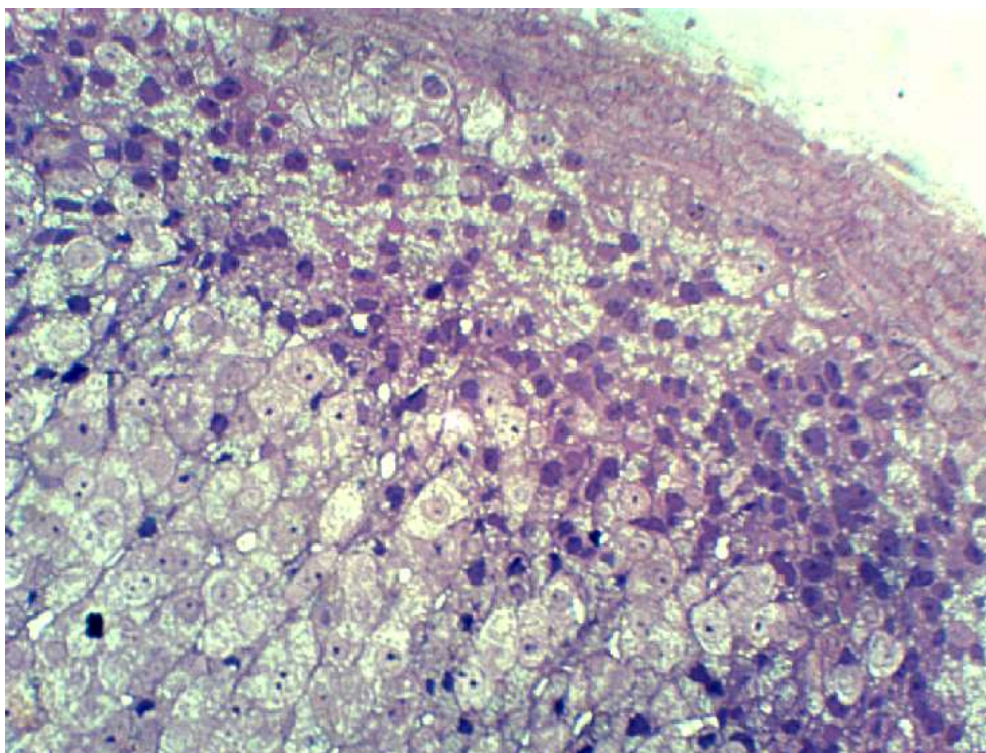


Рис. 5.5. Кора надпочечника крысы на 7 сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.

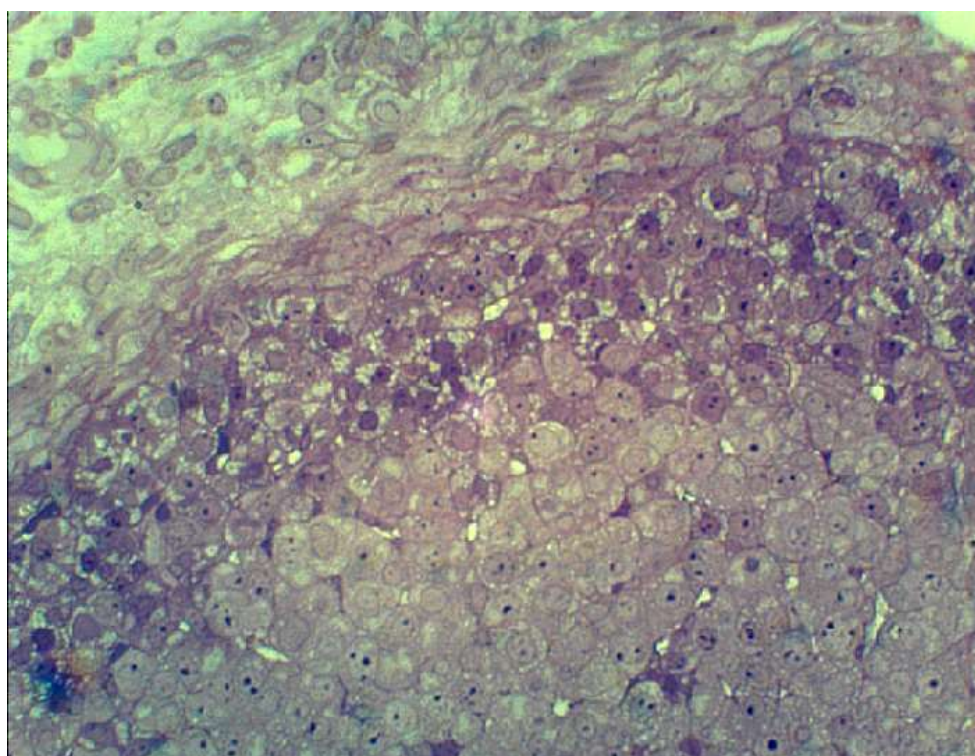


Рис. 5.6. Кора надпочечника крысы на 7 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.



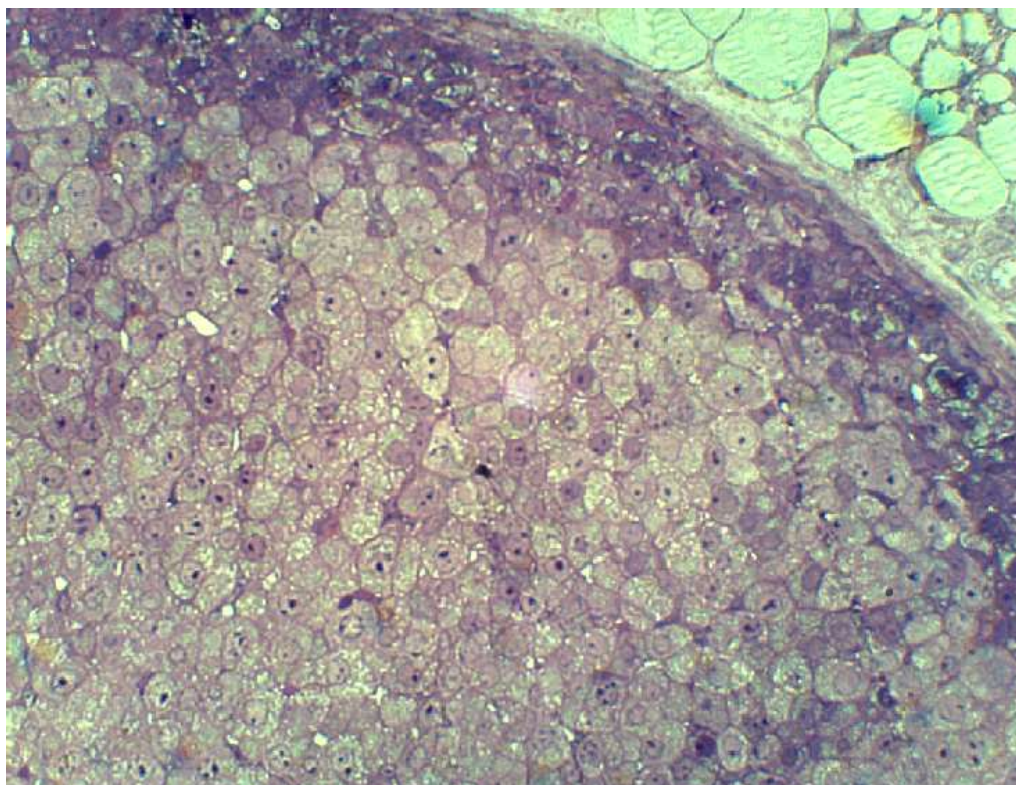


Рис. 5.7. Кора надпочечника крысы на 14 сутки после рождения. Воздействие фипронилом. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.

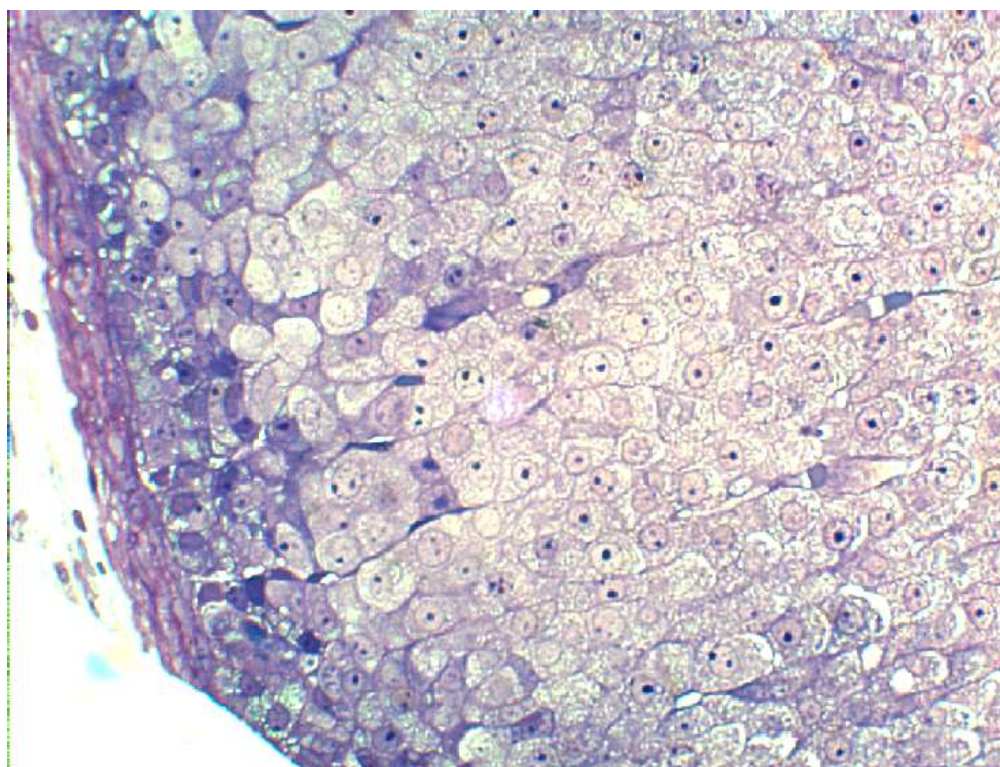


Рис.5.8. Кора надпочечника крысы на 14 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Полутонкий срез. Окраска



метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.

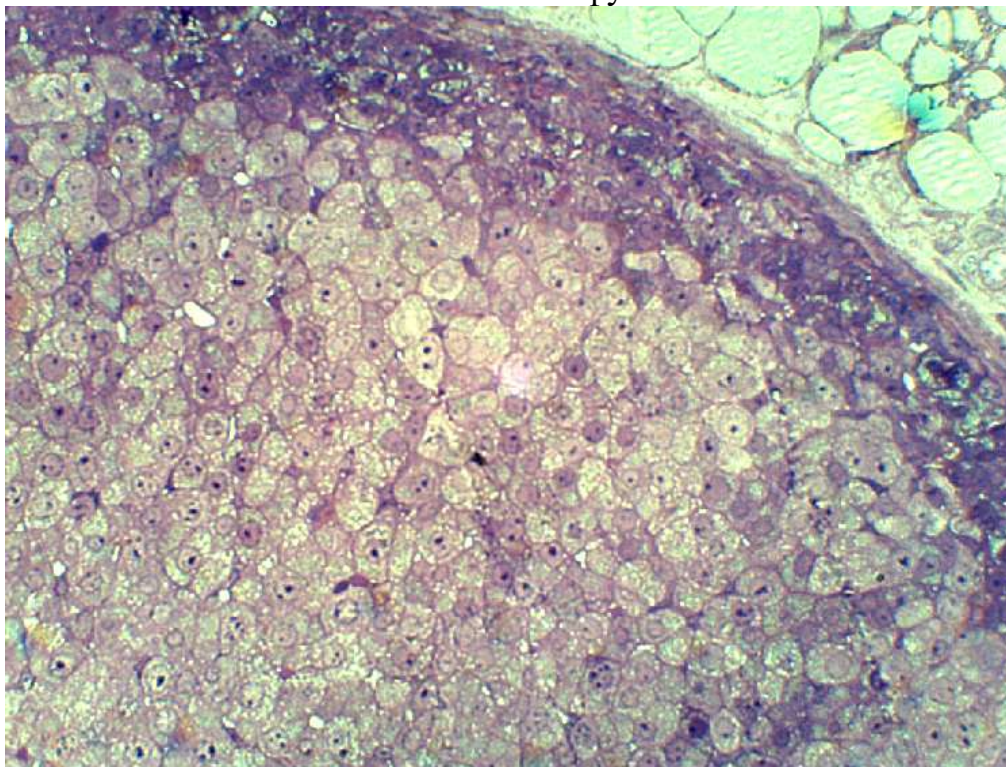


Рис.5.9. Кора надпочечника крысы на 21 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.

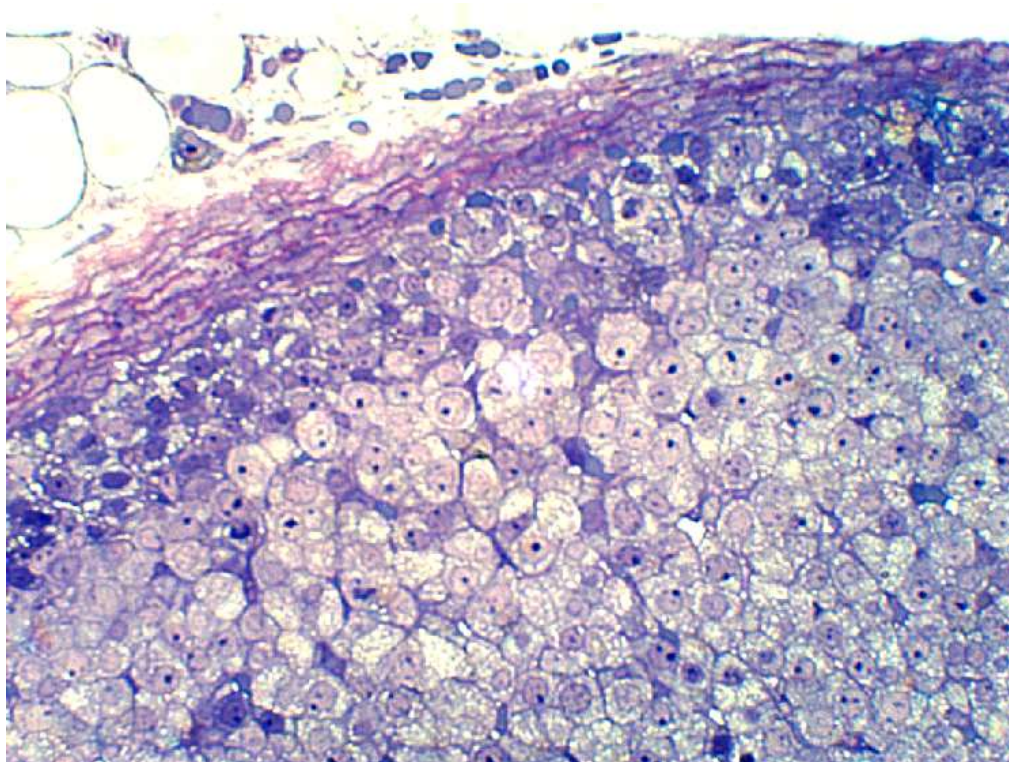


Рис. 5.10. Кора надпочечника крысы на 21 сутки после рождения.

Воздействие фипронилом. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим и основным фуксином. Об.20. Ок.10.

Таким образом, в процессе постнатального развития надпочечных желез происходит формирования клубочковой, пучковой и сетчатых зон. При этом у опытных животных определяется тенденция к замедлению формирования структурно-функциональных зон коры надпочечников. Значительно возрастает частота обнаружения деструктивных клеток, особенно у животных при воздействии фипронила. Указанные изменения более отчетливо проявляются при электронно-микроскопических и морфометрических исследованиях, результаты которых приведены ниже.

## **§5.2. Ультраструктура клеток коры надпочечников**

В ультраструктурном плане клетки коры надпочечников на 3-7 сутки после рождения в целом характеризовались относительно низкой степенью дифференцировки. На 14-21 сутки наблюдалась выраженная дифференцировка клеток коры. Клетки пучковой зоны характеризовались наличием крупного ядра, нередко содержащее ядрышко. В цитоплазме выявлялись многочисленные липидные капли. В цитоплазме клеток наблюдались многочисленные и довольно крупные митохондрии (рис.5.11). Некоторые клетки содержали хорошо развитый комплекс Гольджи, расположенный над ядром (рис.5.12). Митохондрии в основном содержали плотно упакованные кристы трубчато-везикулярного типа, среди которых значительно реже обнаруживались пластинчатые кристы (рис.5.13). Основная часть клеток клубочковой зоны отличалась малыми размерами и значительно меньшим содержанием липидных включений и органелл.

Клетки сетчатой зоны характеризовались гетерогенной ультраструктурой — одни клетки характеризовались наличием многочисленных липидных капель и митохондрий, другие же практически не содержали липидов и были бедны цитоплазматическими органеллами (рис.5.14).



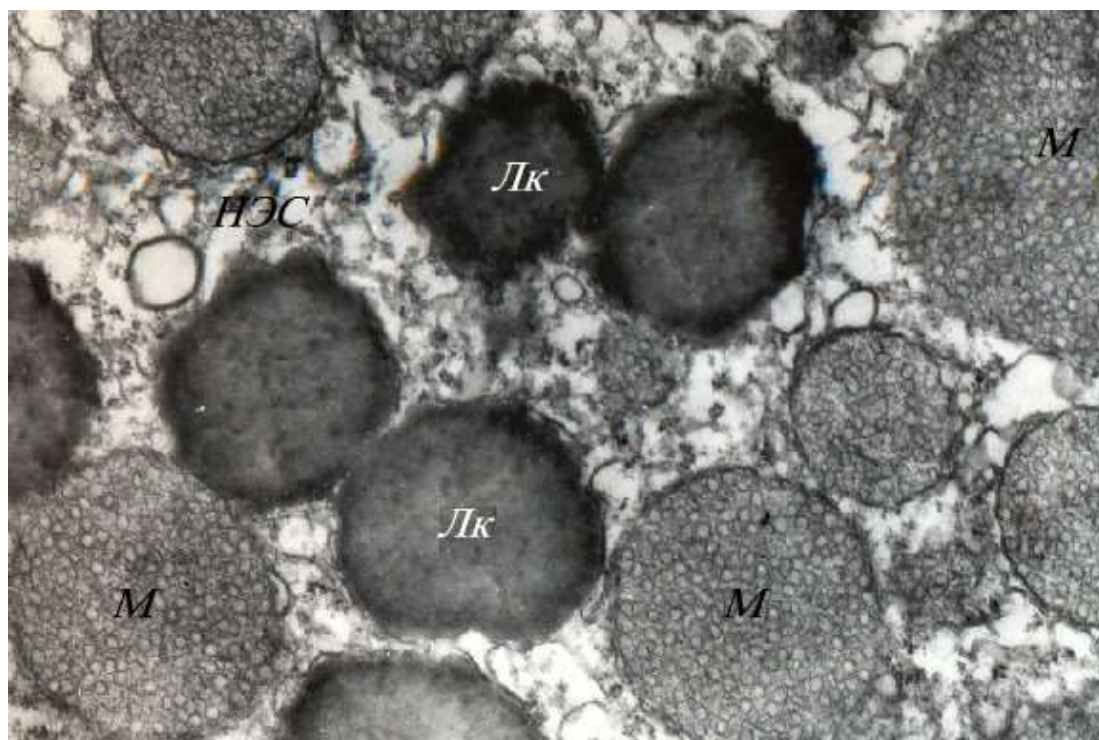


Рис. 5.11. Кора надпочечных желез контрольной крысы на 7 сутки после рождения. Митохондрии и липидные капли в клетке пучковой зоны. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Ув. 35000×

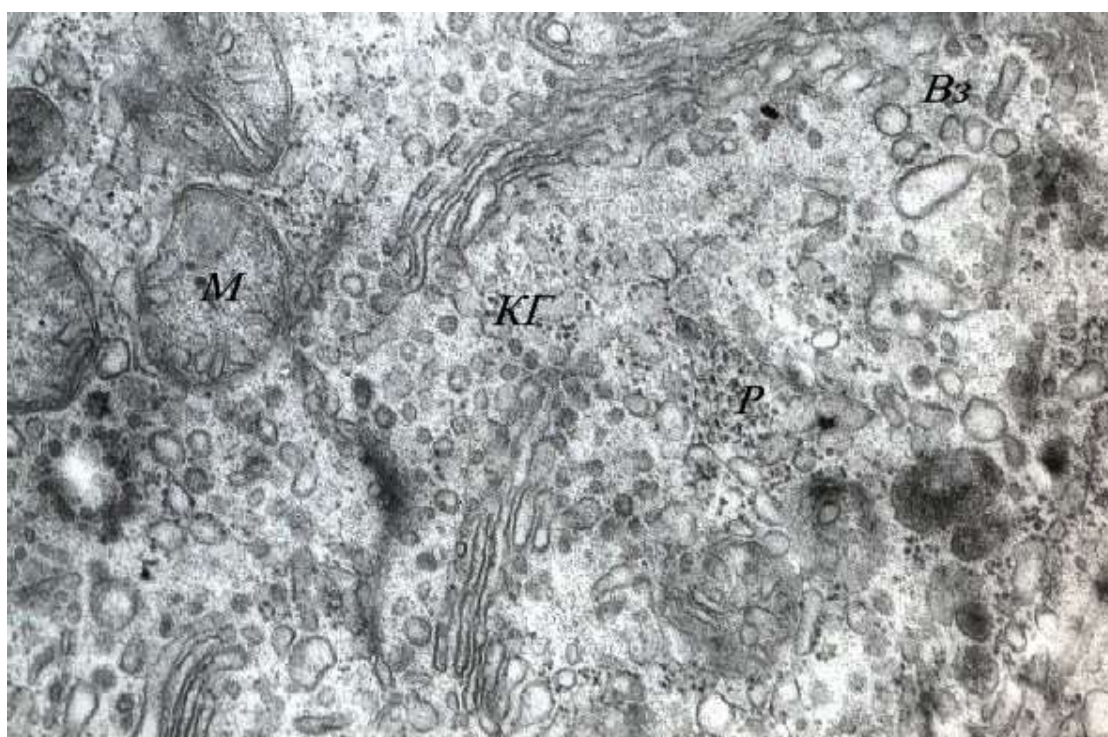


Рис. 5.12. Кора надпочечных желез контрольной крысы на 14 сутки после рождения. Органеллы клетки пучковой зоны. ТЭМ. Ув. 35000×



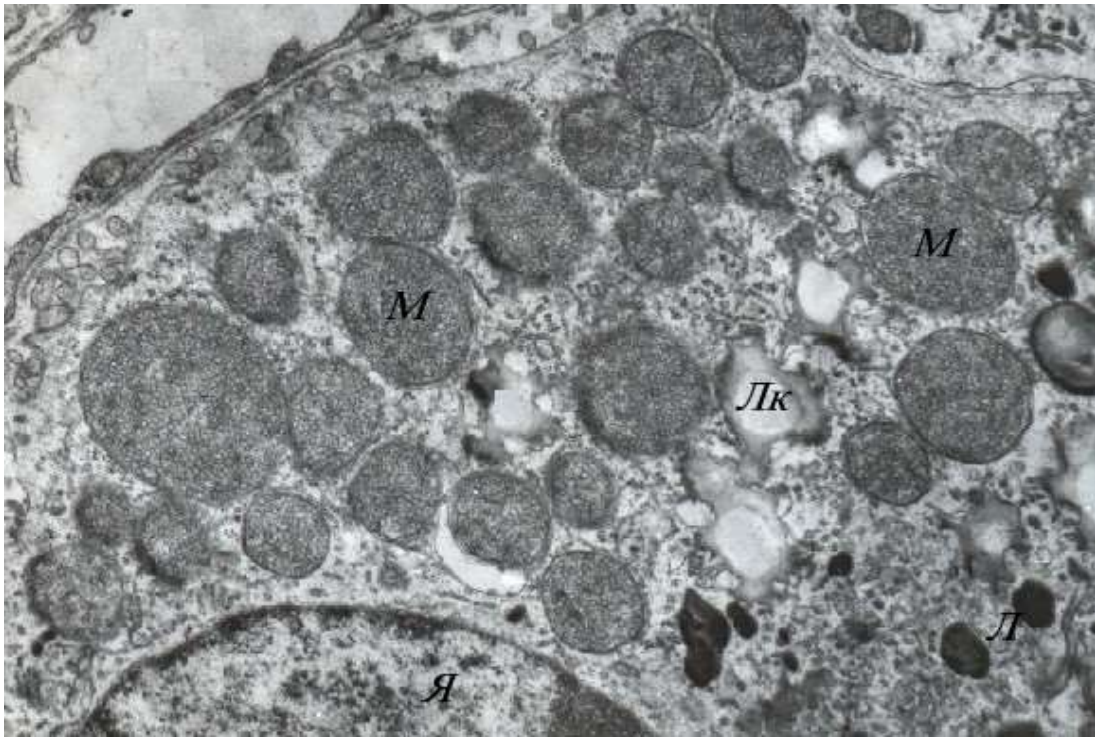


Рис.5.13. Клетка пучковой зоны надпочечника контрольной крысы на 14 сутки после рождения. Митохондрии и липидные капли.  
ТЭМ. Ув. 35000×



Рис. 5.14. Кора надпочечных желез контрольной крысы на 14 сутки после рождения. Клетки клубочковой зоны. ТЭМ. Ув. 12500×

У животных опытных групп формирование структурных зон коры надпочечников и дифференцировка их клеток, в отличие от контроля, происходило значительно медленнее. При этом к 14 суткам относительно четко разграничена была лишь клубочковая зона, а пучковая и сетчатая зоны не имели четких границ. Лишь к 21-30 суткам у опытных животных удавалось различить все три зоны коры.

Основные ультраструктурные изменения в коре надпочечников опытных крыс имели место в клетках пучковой зоны. Электронно-микроскопические исследования клеток пучковой зоны в эти сроки показали значительное замедление темпов дифференцировки клеток. Клетки данной зоны характеризовались выраженной ультраструктурной гетерогенностью. Наряду с клетками, содержащими крупное ядро с ядрышками, встречались клетки с уплотненными ядрами небольших размеров. Развитый комплекс Гольджи с характерными цистернами и везикулярными структурами обнаруживался в единичных клетках. Большинство клеток содержало лишь небольшое количество липидных включений, что сочеталось с выраженным уменьшением числа и размеров митохондрий, а также редукцией профилей гладкой эндоплазматической сети. В большинстве клеток митохондрии были набухшими, содержали лизированные кристы и просветленный матрикс (рис.5.15). Липидные капли в ряде клеток были лизированы и приобретали вид вакуолей различных размеров (рис.5.16). Во многих клетках обнаруживались крупные светлые вакуоли, которые равномерно распределялись по всей цитоплазме. Следует также отметить, что у опытных животных значительно чаще встречались деструктивные клетки с теми или иными признаками лизиса цитоплазматических органелл (рис. 5.17; 5.18; 5.19; 5.20). Изменения субклеточных структур в виде набухания митохондрий, лизиса их крист и матрикса, лизиса липидных капель выявлялись и в отдаленные сроки опытов (рис.5.21 и 5.22).



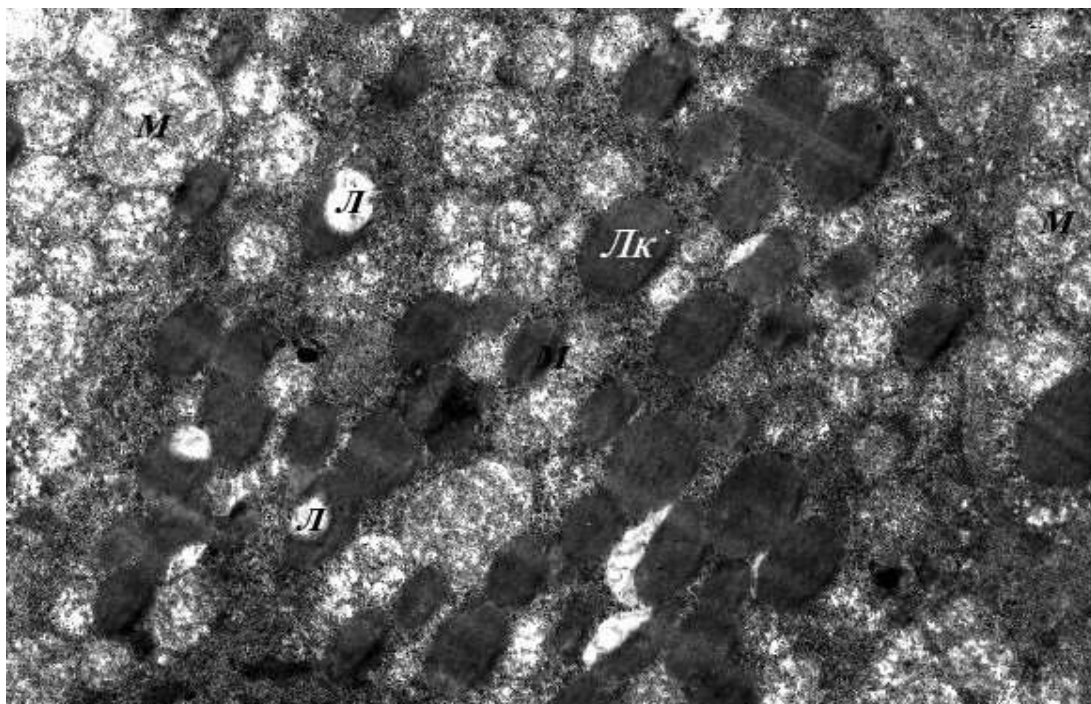


Рис.5.15. Клетка пучковой зоны надпочечника крысы на 14 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 35000×

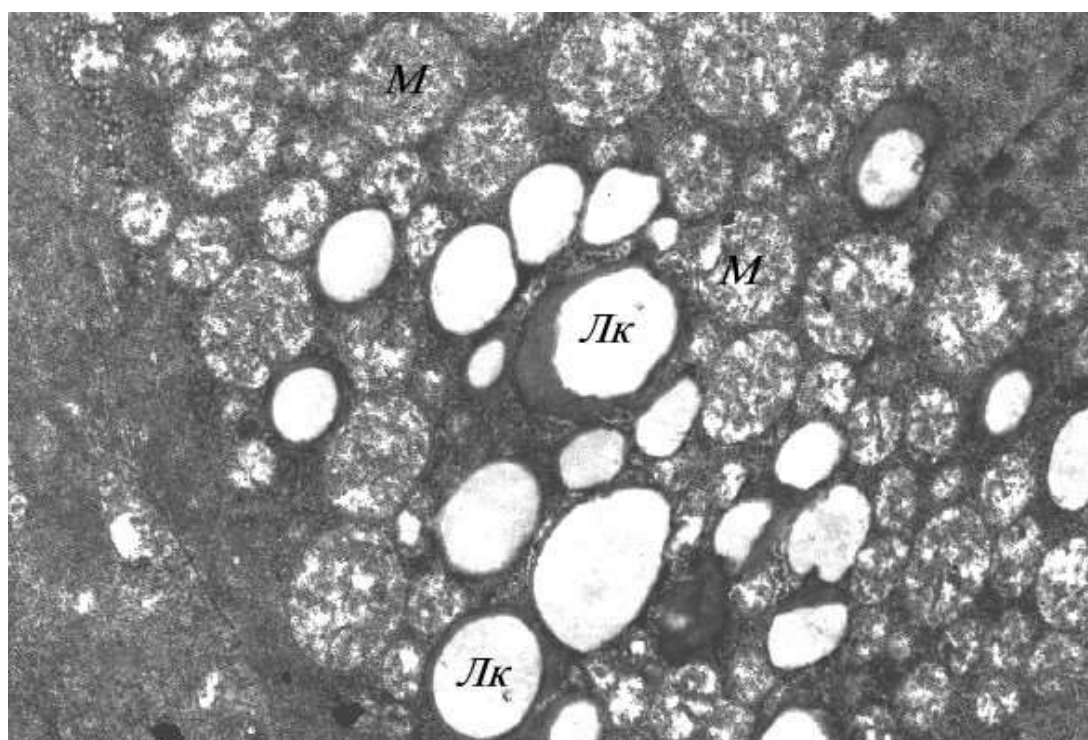


Рис.5.16. Клетка пучковой зоны надпочечника крысы на 14 сутки после рождения. Воздействие фипронилом. ТЭМ. Ув. 35000×

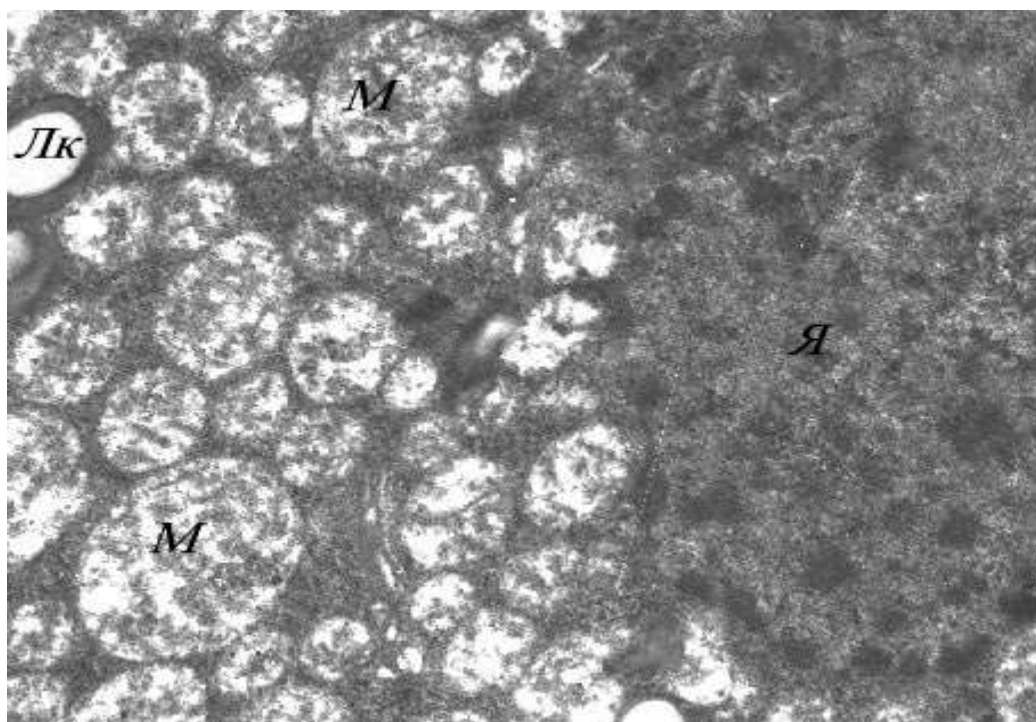


Рис. 5.17. Клетка пучковой зоны надпочечника крысы на 21 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 35000×

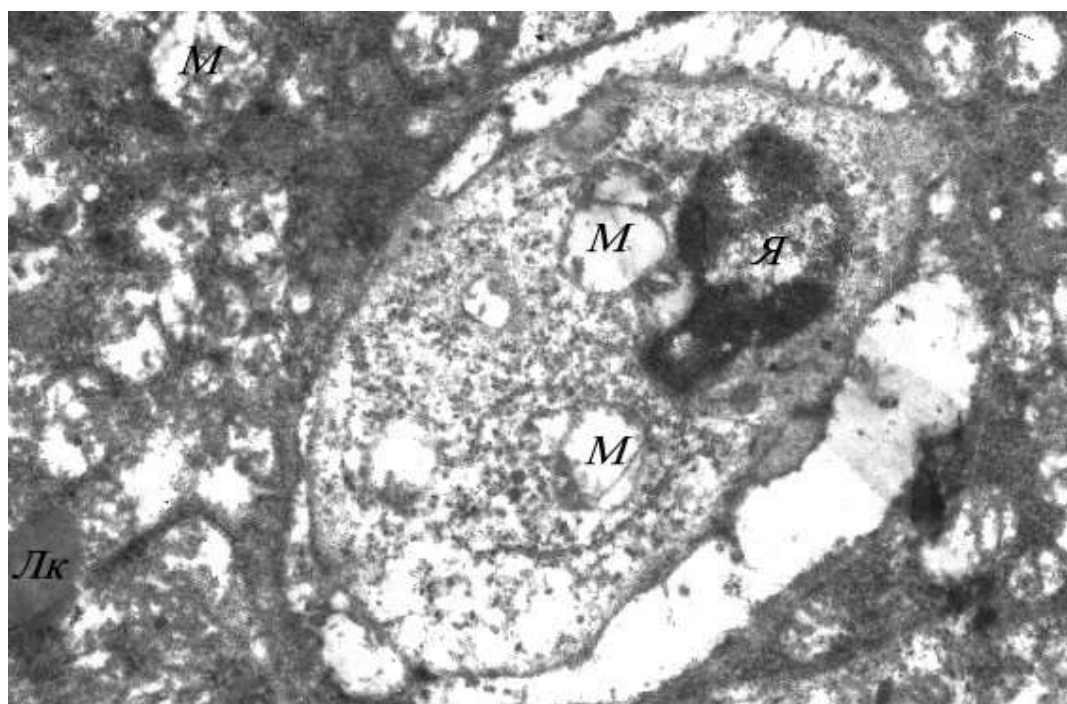


Рис. 5.18. Деструктивная клетка пучковой зоны надпочечника крысы на 21 сутки после рождения. Воздействие фипронилом. ТЭМ. Ув. 35000×

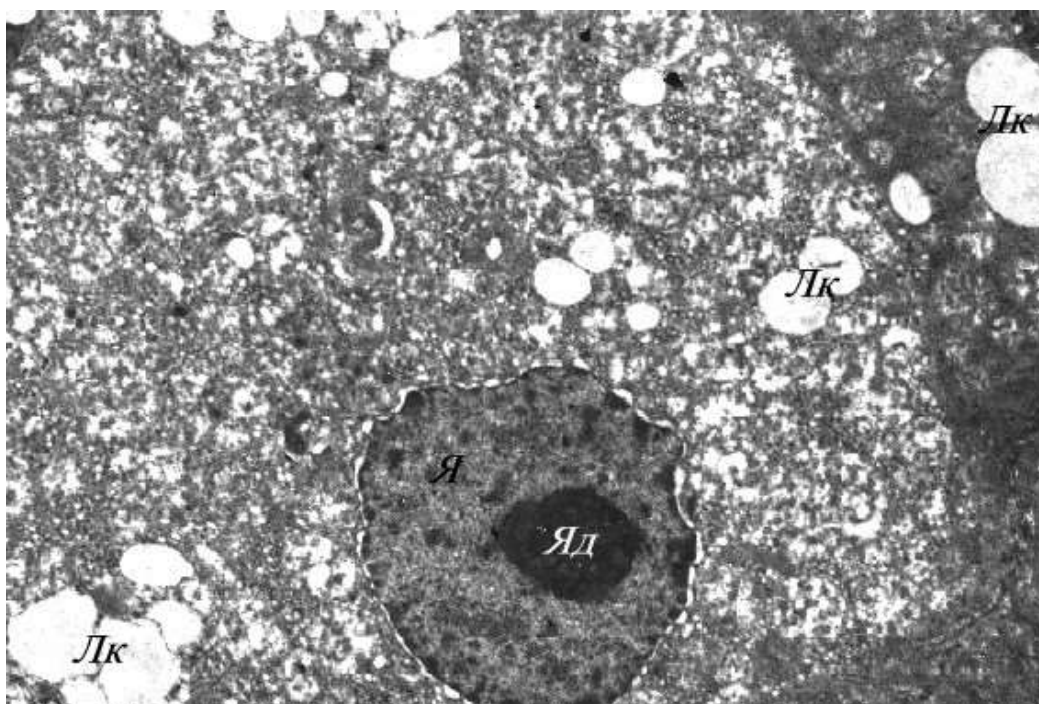


Рис. 5.19. Деструктивная клетка пучковой зоны надпочечника крысы на 21 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 35000×

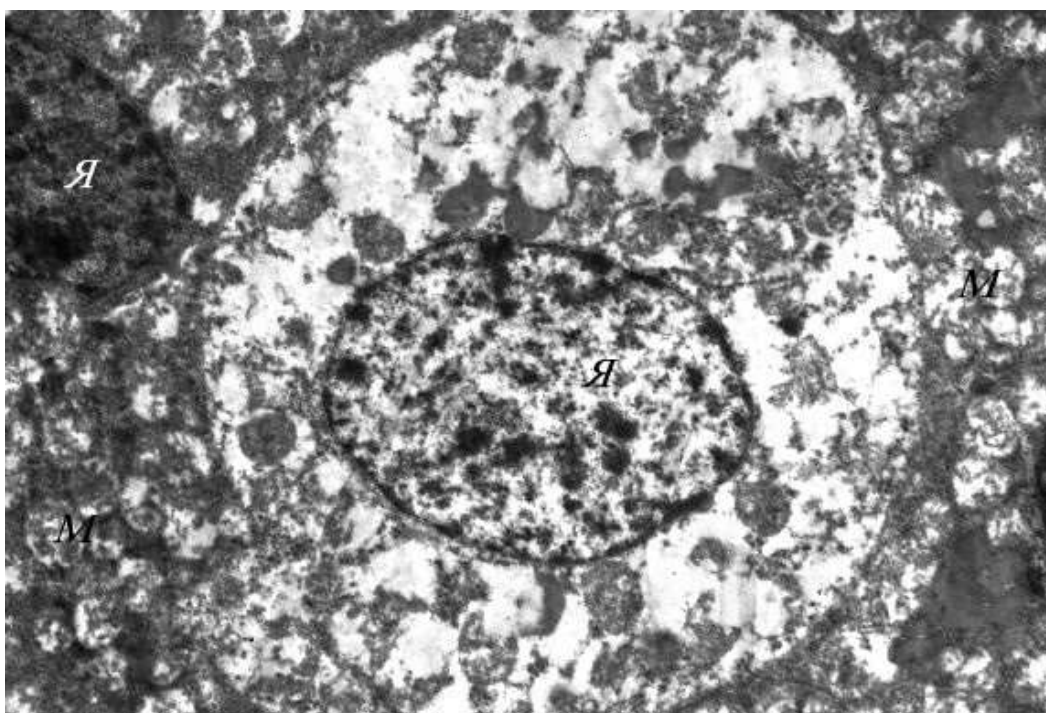


Рис.5.20. Деструктивная клетка пучковой зоны надпочечника крысы на 21 сутки после рождения. Воздействие фипронилом. ТЭМ. Ув. 35000×

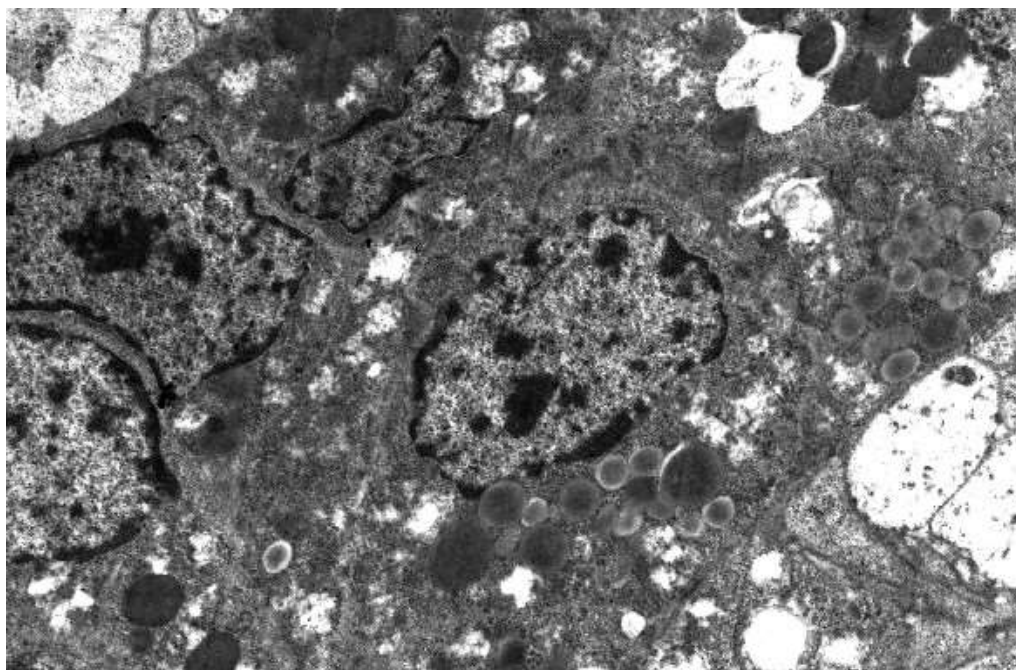


Рис.5.21. Клетки пучковой зоны надпочечника на 30 сутки после рождения. Воздействие ламбда-цигалотрином. ТЭМ. Ув. 35000×

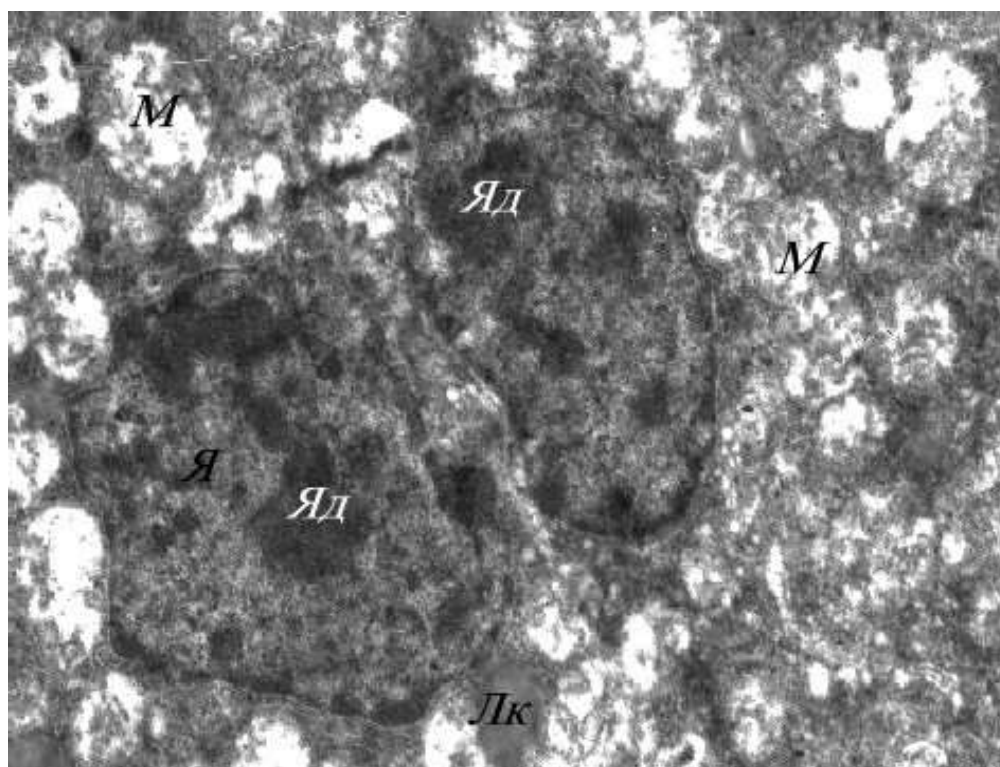


Рис.5.22. Клетки пучковой зоны надпочечника крысы на 30 сутки после рождения. Воздействие фипронилом. ТЭМ. Ув. 35000×

Известно, что клетки пучковой и сетчатой зоны являются основными продуцентами стероидных гормонов, исходным сырьем для которых является холестерол липидных включений клеток [97; с.279-289. 98; с.103-115. 99; с.199-206]. Механизм биосинтеза стероидных гормонов (стероидогенез) достаточно хорошо изучен. В этом процессе активно участвуют митохондрии с трубчатыми и везикулярными кристами, компоненты комплекса Гольджи и гладкой эндоплазматической сети [99; с.199-206]. Показано, что редукция цитоплазматических органелл в совокупности со снижением числа липидных включений указывает на замедление или нарушение процесса стероидогенеза [102; с.111-120. 127; с.197-200]. Полученные нами данные также свидетельствуют, что внутриутробное и раннее постнатальное воздействие пестицидов приводит к функциональному напряжению органелл. Кроме того, значительно увеличивалась частота клеток с деструктивными изменениями цитоплазмы. Эти данные в целом можно считать ультраструктурными проявлениями нарушений постнатальной дифференцировки клеток коры надпочечников и их функциональной напряженности.

Таким образом, наши исследования показали, что хроническая интоксикация организма матери пестицидами приводит к существенному нарушению постнатального роста и становления коры надпочечных желез у потомства. Формирование структурно-функциональных зон коры надпочечников происходит на 7-10 дней позднее по сравнению с контролем. Электронно-микроскопические исследования свидетельствуют, что на протяжении всего опыта сохраняются высокая функциональная напряженность и повышенная степень деструктивных изменений субклеточных органелл железистых клеток. Все это указывает на функциональную напряженность кортикостероцитов пучковой зоны коры надпочечников, что, очевидно, связано с ответной реакцией на стрессорное воздействие.



### §5.3. Результаты морфометрических исследований

Морфометрические исследования коры надпочечников отчетливо продемонстрировали динамику формирования ее основных зон в постнатальном онтогенезе. Показатели площадей различных структурно-функциональных зон надпочечников в динамике постнатального онтогенеза контрольных и опытных крыс приведены в таблицах 5.15-5.17 (см. «Приложения») и в рисунках 5.23-5.29.

Результаты показали, что воздействие пестицидов существенно замедляет темпы постнатального роста коры надпочечников. Общая площадь надпочечников проявляет выраженную тенденцию к снижению по сравнению с контролем (рис.5.23). При этом достоверное снижение общей площади наблюдается на 3 и 21 сутки опытов. Площадь соединительной ткани органа в начале опытов проявляет тенденцию к снижению, в последующие сроки опытов изменения площади стромы носят недостоверный характер (рис.5.24).

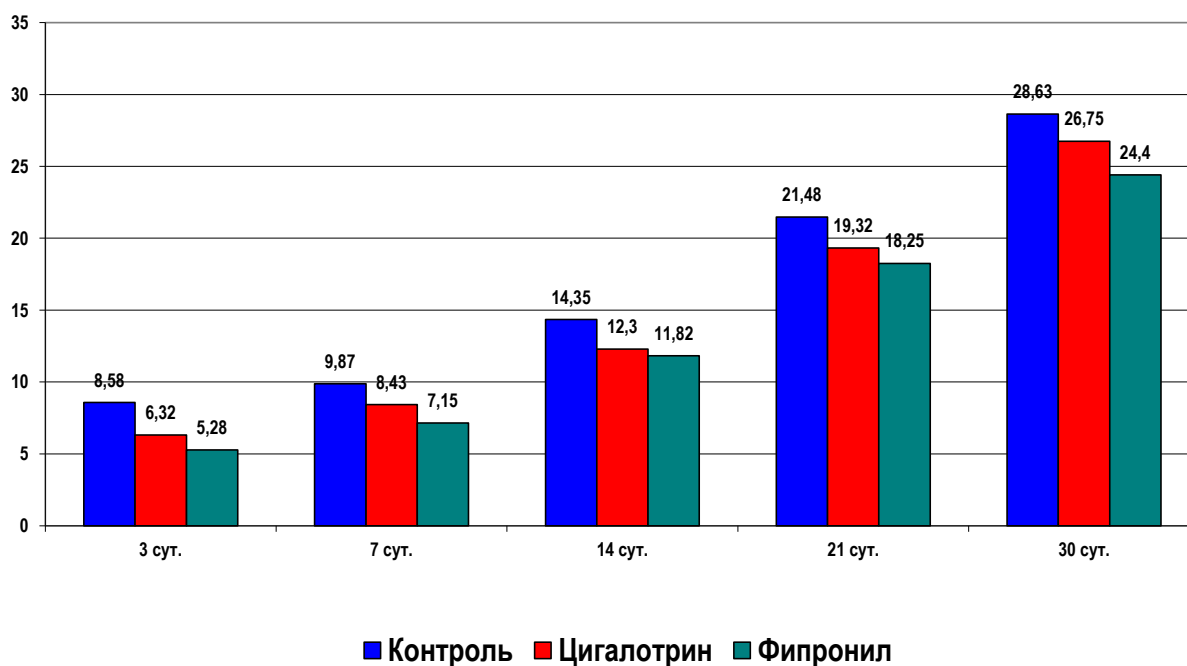


Рис 5.23. Динамика показателей общей площади надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе.

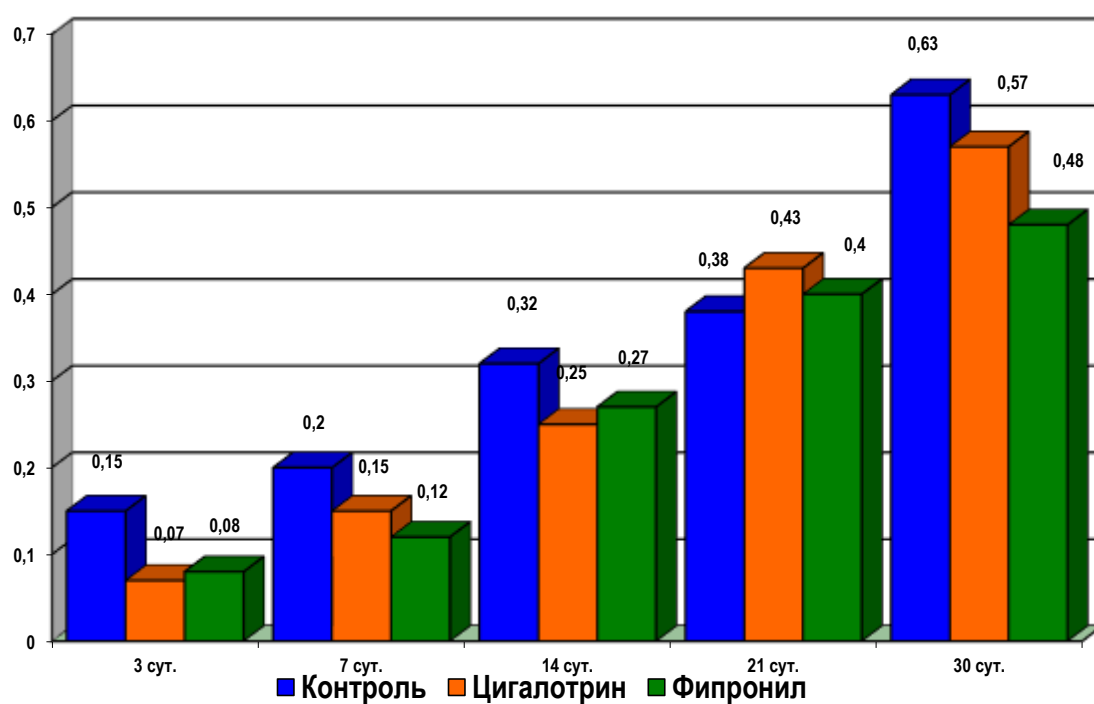


Рис 5.24. Динамика показателей соединительной ткани надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе

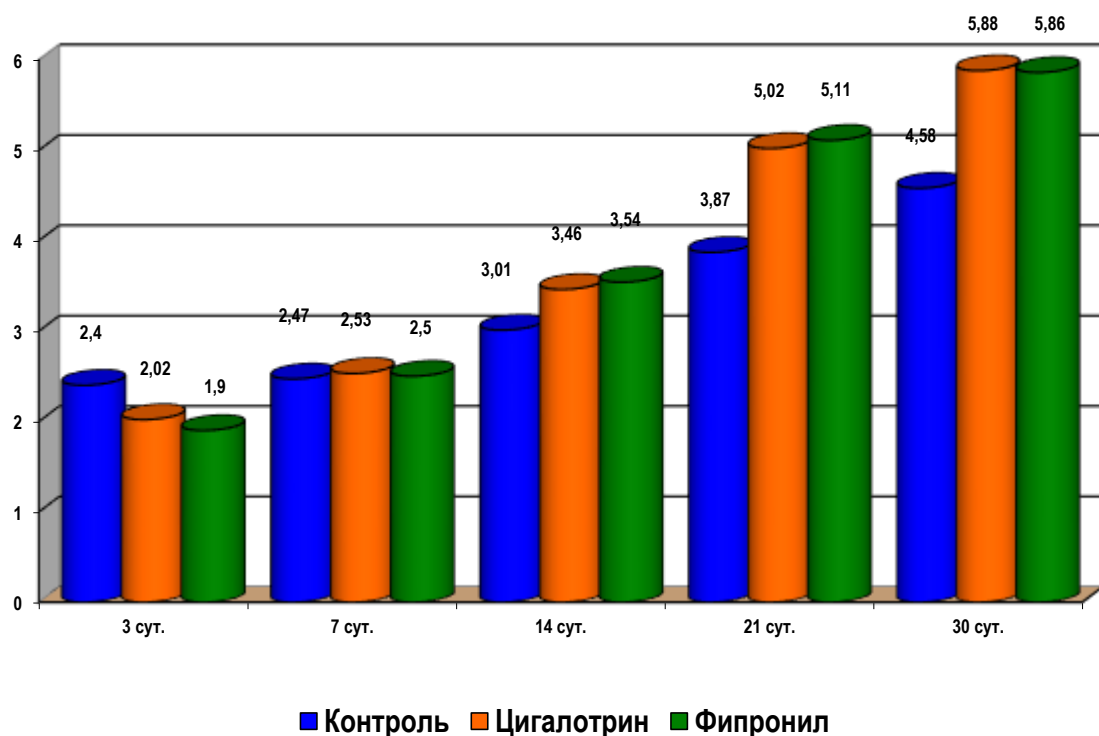


Рис 5.25. Динамика показателей мозгового вещества надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе



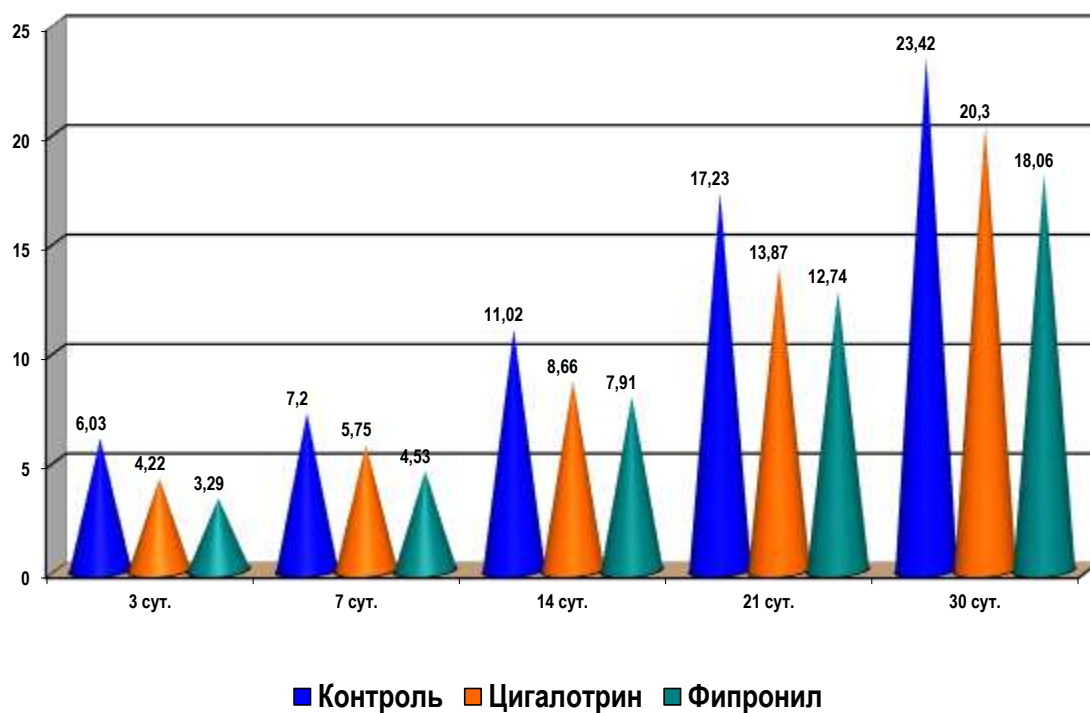


Рис 5.26. Динамика показателей коркового вещества надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе

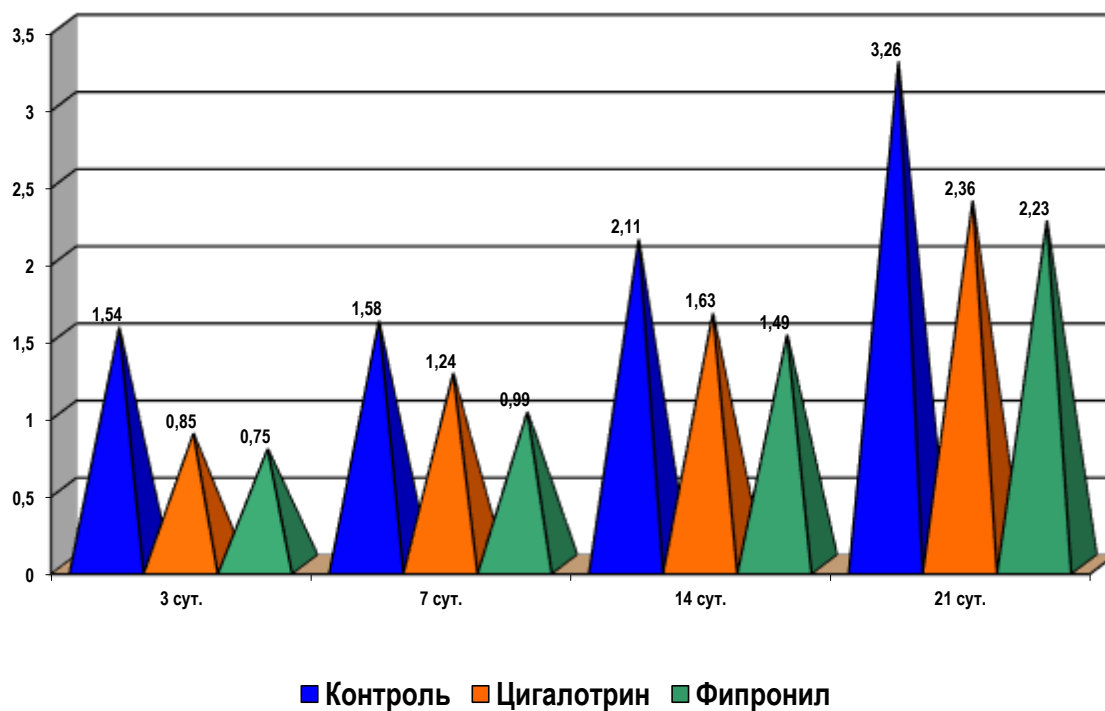


Рис 5.27. Динамика показателей клубочковой зоны надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе

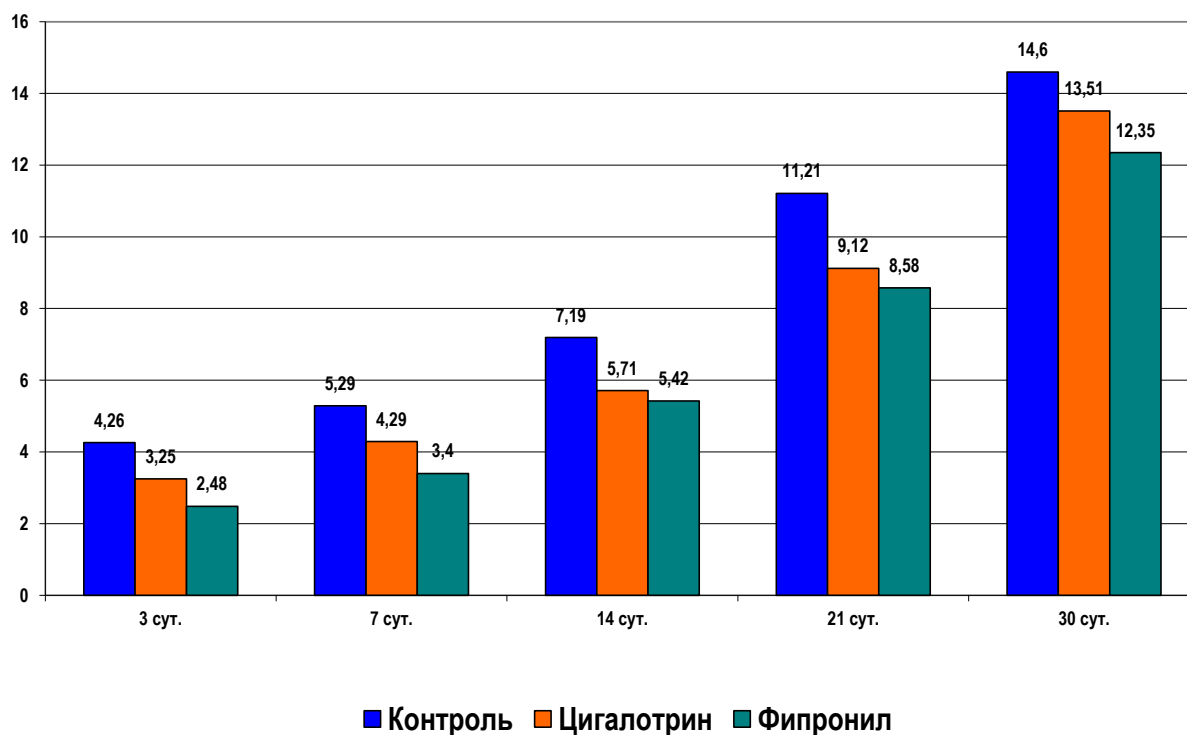


Рис. 5.28. Динамика показателей пучковой зоны надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе.

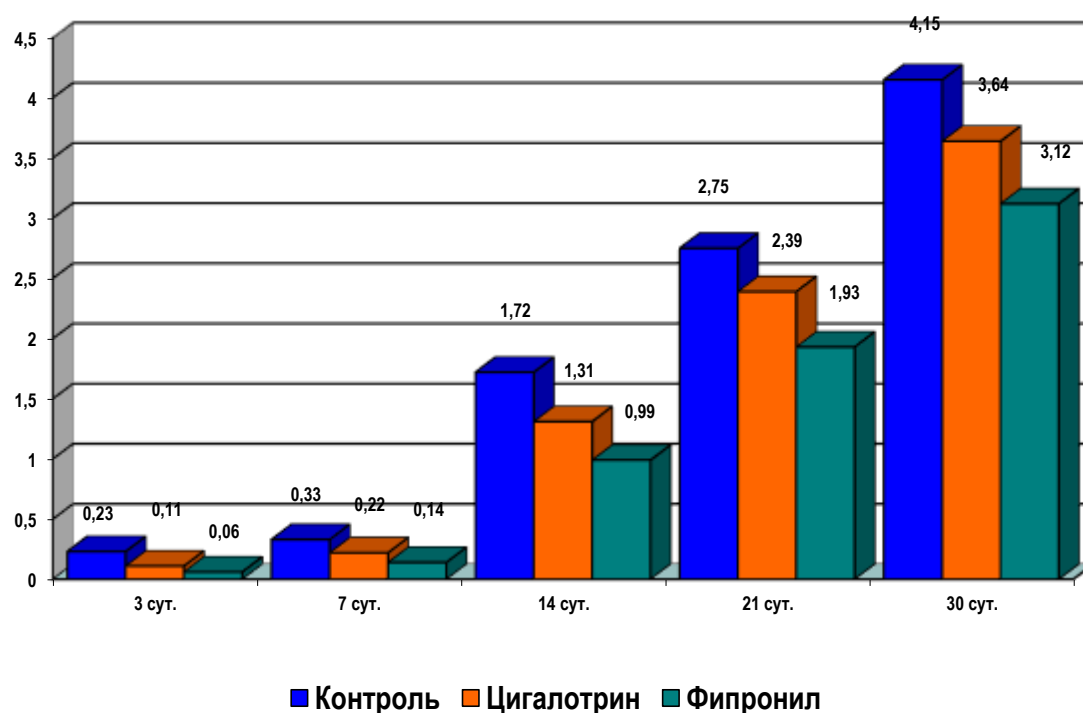


Рис. 5.29. Динамика показателей сетчатой зоны надпочечников потомства крыс в раннем постнатальном онтогенезе

Площадь мозгового вещества в ранние сроки (3 сутки) снижается, однако, начиная с 14 суток, проявляет тенденцию к увеличению (рис.5.25). Одновременно с этим происходит закономерное уменьшение площади коркового вещества надпочечников (рис.5.26). Снижение площади коркового вещества обуславливается соответствующим снижением площадей пучковой, клубочковой, и в меньшей степени сетчатой зон (рис. 5.27; 5.28 и 5.29).

Таким образом, в условиях хронического воздействия пестицидов через организм матери существенно замедляются темпы роста и формирования структурно-функциональных зон коры надпочечников потомства. При этом темпы прироста площади коркового вещества надпочечников при воздействии лямбда-цигалотрина (ЛСТ) на 15-30% , а при воздействии фипронила (ФПН) – на 23-40% отстают от показателей контроля. Уменьшение площади коркового вещества обуславливалось в основном за счет отставания роста пучковой и клубочковой зон, соответственно на 10-25% при воздействии ЛСТ, и на 20-40% при воздействии ФПН. Известно, что постнатальный рост органов и тканей осуществляется пролиферацией клеток. В физиологических условиях существует определенное равновесие между процессами пролиферации и апоптоза клеток. Для изучения состояния этих процессов мы в наших опытах использовали метод иммуногистохимии, результаты которых приведены ниже.

#### **§5.4. Иммуногистохимическое определение апоптоза и пролиферации клеток коры надпочечников**

Для выявления маркерных субстратов пролиферирующих клеток использовали моноклональные кроличьи антитела ki-67, а апоптозные клетки выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител cas-3 и p-53 (ThermoScientific, USA). Выявление пролиферирующих и апоптозных клеток проводили на парафиновых срезах с помощью комплекса UltraVision (Thermo Scientific, USA).

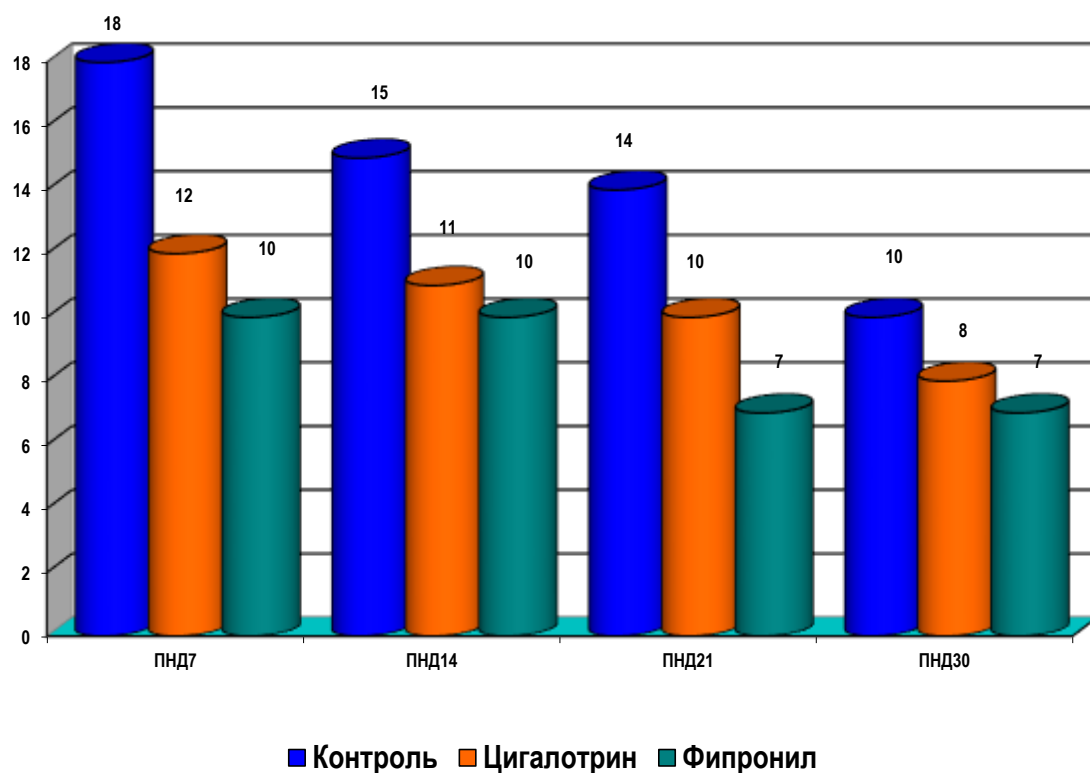


Рис. 5.30. Индекс пролиферации клеток коры надпочечников (кортикостероцитов) в динамике постнатального развития.  
ПНД – постнатальные дни

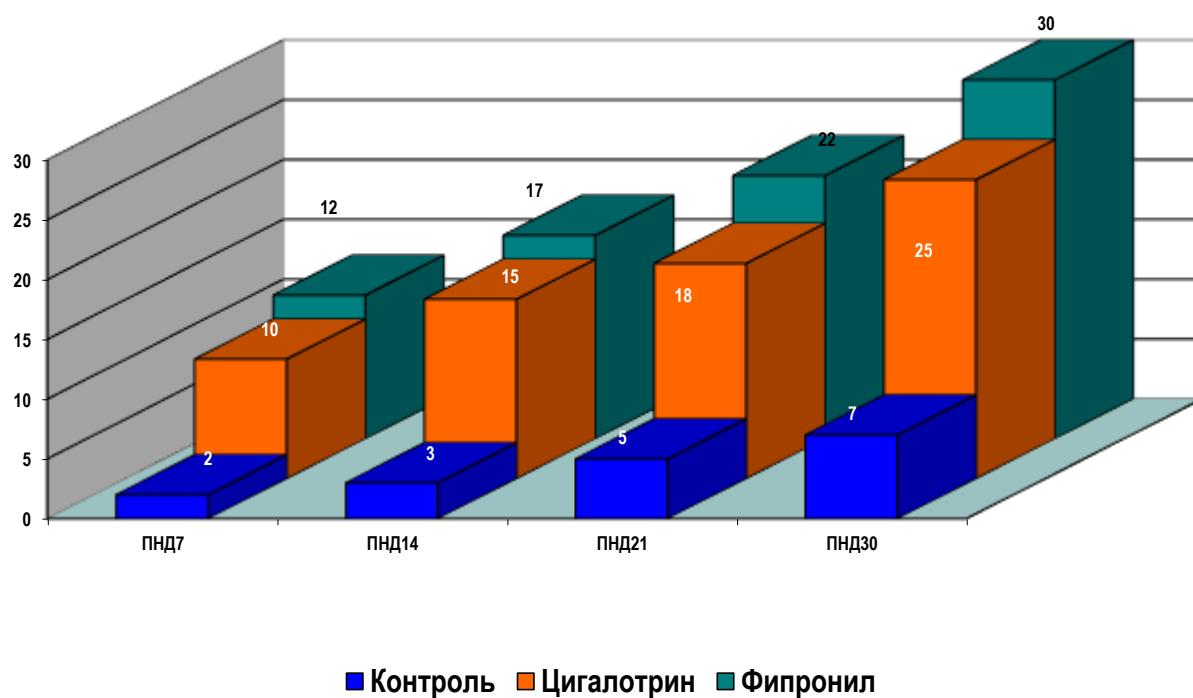


Рис. 5.31. Индекс апоптоза клеток коры надпочечников (кортикостероцитов) в динамике постнатального развития.

Срезы докрашивали метиленовым синим или нейтральным красным. При этом продукт реакции в клетках выявлялся в виде коричневых отложений (см. главу III). Далее подсчитывали индексы пролиферации и апоптоза на 1000 клеток коры надпочечников (кортикостероцитов) и выражали в промиллях. Результаты исследований приведены в таблицах 5.18 и 5.19 (см. «Приложения») и в рисунках 5.30 и 5.31.

При подсчете числа пролиферирующих клеток в коре надпочечных желез у опытных крыс установлено достоверное снижение их средних значений во все сроки исследования, вплоть до 30 суток (рис. 5.30). В то же время количество апоптозных клеток коры надпочечников достоверно превышало показатели контроля на всем протяжении опытов (рис. 5.31). При сравнительном анализе установлено, что наибольшая степень апоптоза и деструкции клеток, также как и низкая пролиферативная их активность, обнаружены в пучковой зоне коры надпочечников.

Таким образом, иммуногистохимические исследования показали, что замедление темпов формирования структурно-функциональных зон коры надпочечников обусловлено дисбалансом между процессами пролиферации и апоптоза клеток. Снижение пролиферативной активности клеток коры надпочечников в обеих опытных группах было наиболее выражено на 7-21 сутки постнатального периода. В эти сроки наблюдения индекс пролиферации при воздействии фипронилом (ФПН) снижается на 24-28% от контроля, тогда как воздействие ламбда-цигалотрином (ЛСТ) уменьшает индекс пролиферации на 10-13% по сравнению с контролем. Одновременно с этим у опытных животных наблюдалось значительное увеличение индекса апоптоза клеток. Наибольшее повышение индекса апоптоза наблюдалось на 14-21 сутки после рождения. В этот период индекс апоптоза при воздействии ЛСТ в 3,7-5,4 раза, а при воздействии ФПН в 6,4-10,3 раза превышал контрольные показатели.

## §5.5. Уровень гормонов гипофизарно-адреналовой системы

Результаты исследований концентрации кортизола (Кор) и адренокортикотропного гормона (АКТГ) приведены в таблицах 5.20-5.25 (см. «Приложения») и в рисунках 5.32-5.35.

Из приведенных данных видно, что как у опытных самок крыс, так и у их потомства концентрация кортизола в сыворотке крови повышается. Максимальное повышение уровня кортизола на 25-30% при воздействии ЛСТ и на 35-45% при воздействии ФПН по сравнению с контролем было обнаружено у крыс самок на 21 день беременности и на 7-14 дни лактации (рис.5.32). Аналогичное достоверное увеличение концентрации кортизола наблюдалось также и у потомства опытных крыс на 7-21 дни после рождения (рис.5.34). Следует отметить, что увеличение уровня кортизола во всех случаях сопровождалось соответствующим повышением концентрации адренокортикотропного гормона (АКТГ) гипофиза (рис.5.33 и 5.35).

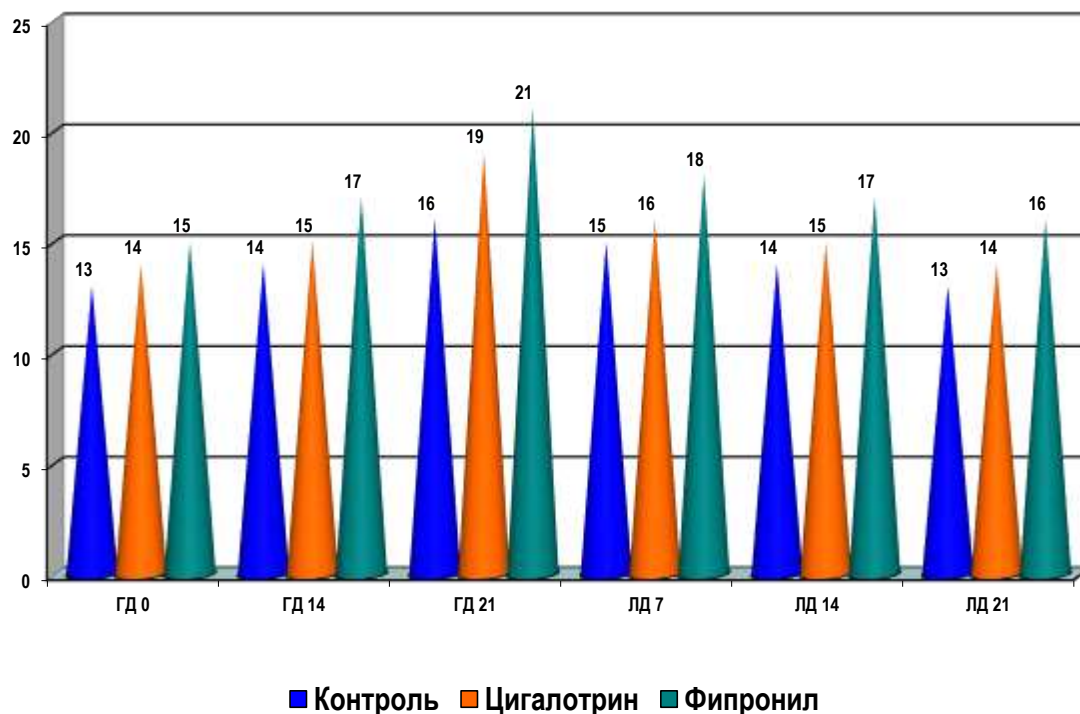


Рис.5.32. Концентрация кортизола (Кор) самок при беременности и лактации в условиях хронической интоксикации пестицидами (в нг/мл)

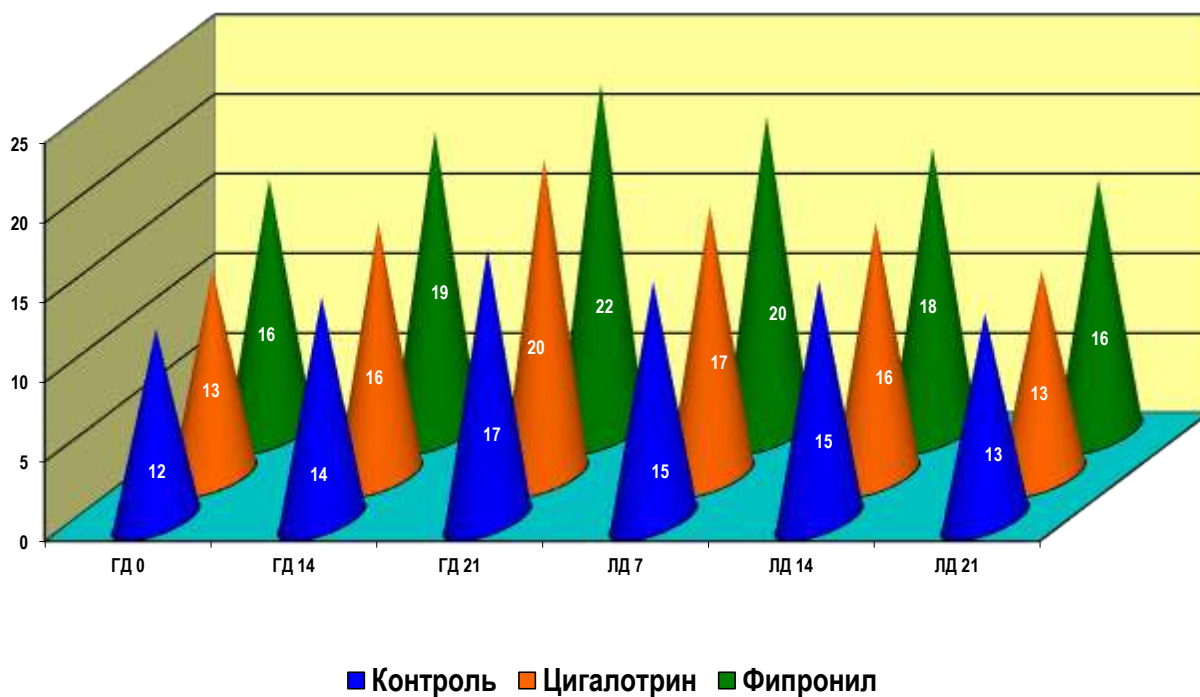


Рис.5.33. Концентрация адренокортикотропного гормона (АКТГ) самок при беременности и лактации в условиях хронической интоксикации пестицидами (в пг/мл)

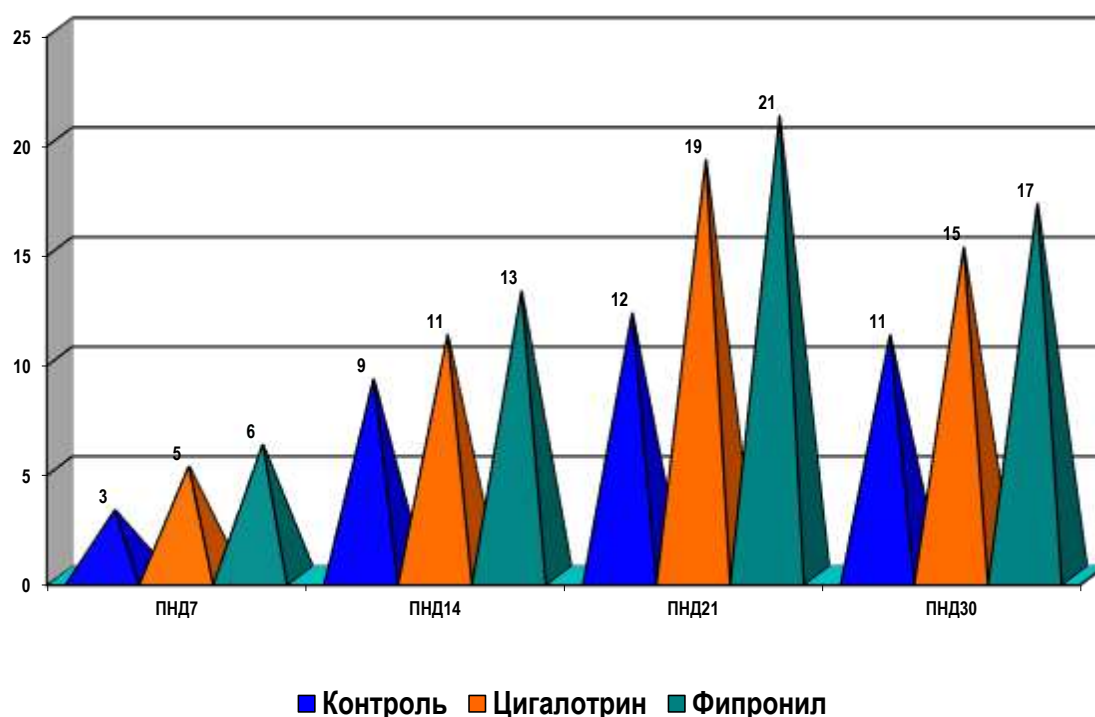


Рис. 5.34. Концентрация кортизола (Кор) потомства в динамике постнатального развития в условиях хронической интоксикации пестицидами (в нг/мл). ПНД – постнатальные дни



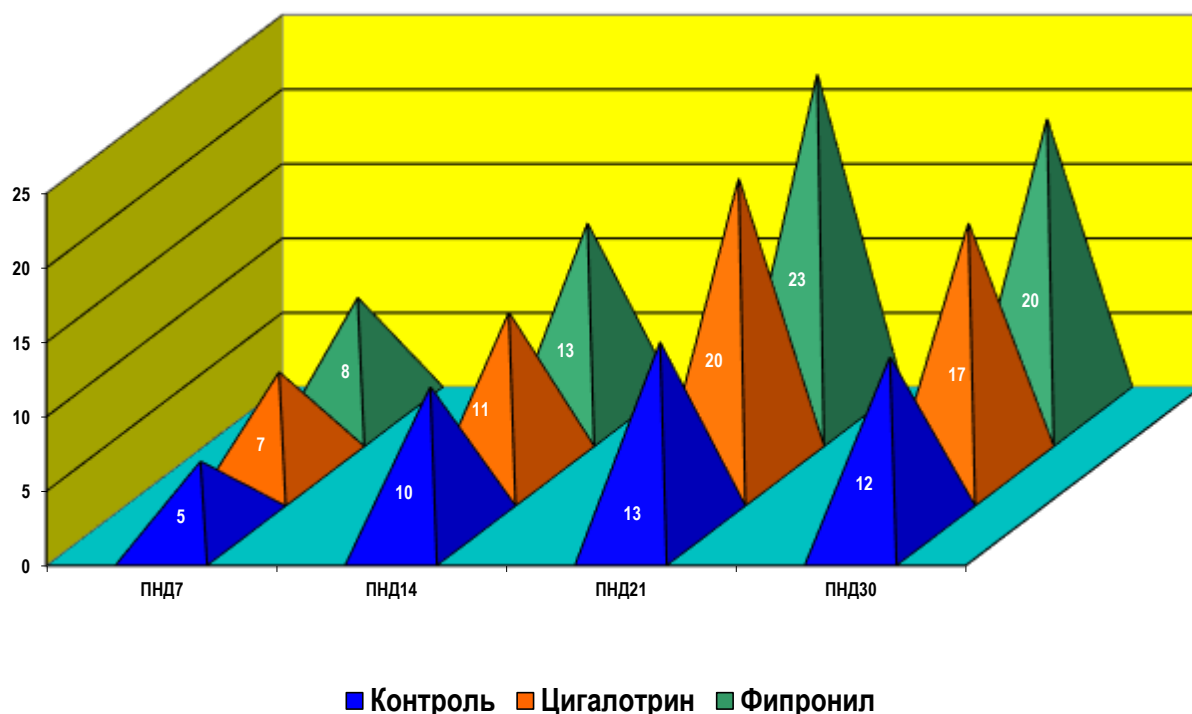


Рис. 5.35. Концентрация адренотропного гормона (АКТГ) потомства в динамике постнатального развития в условиях хронической интоксикации пестицидами (в пг/мл)

Известно, что повышение уровня кортизола является универсальной ответной реакцией коры надпочечников на стресс, в том числе на токсическое воздействие. По нашему мнению, повышение концентрации кортизола также является ответной реакцией на стресс, вызванный токсическим воздействием пестицидов. Эта реакция обусловлена усилением выработки АКТГ гипофиза и функциональным напряжением клеток коры надпочечников потомства.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Охрана экологического здоровья населения является актуальной проблемой глобального масштаба. Все большее внедрение в нашу жизнь достижений химии, широкомасштабное использование химических веществ приводило к прогрессирующему загрязнению ими окружающей среды. Преобладающую часть загрязнителей окружающей среды представляют собой пестициды, без использования которых невозможно дальнейшее развитие аграрной промышленности. В нашей республике в настоящее время используется более 250 пестицидов новых поколений, значительная часть которых относится к группам пиретроидов и пиразоловых препаратов. Несмотря на невысокую токсичность этих пестицидов, применение их сопряжено загрязнением ими воды, воздуха, пищевых продуктов. Это создает опасность длительного воздействия на людей малых доз пестицидов. Выяснилось, что малые дозы пестицидов могут оказывать такие эффекты, которые совершенно не предсказуемы при использовании высоких доз. Одним из таких эффектов является нарушение в эндокринной системе со всеми вытекающими отсюда негативными последствиями. Дело в том, что за последние годы выявлена большая группа химикатов, оказывающих токсическое действие преимущественно на эндокринную систему. Эти вещества, обозначенные как «эндокрин-разрушающие химикаты окружающей среды» (ЭРХ, англ. Environmental endocrine-disrupting chemicals), неблагоприятно влияют на различные этапы синтеза, транспорта и функции гормонов на клетки-мишени. К ним относятся и ряд пестицидов, в том числе и новых поколений, промышленные пластмассы, некоторые лекарственные препараты и другие, которые тем или иным путем попадают в организм и вызывают в нем определенный гормональный дисбаланс. Клиническими и экспериментальными исследованиями доказана несомненная роль ЭРХ в патогенезе ряда заболеваний (ожирение, атеросклероз, гипертоническая и ишемическая болезни, нарушения фертильности и другие), которые связаны с нарушением метаболизма и гормонального гомеостаза.

Показано, что многие пестициды класса пиретроидов и пиразоловых соединений (циперметрин, ламбда-цигалотрин, фипронил и др.), являются потенциальными эндокрин-разрушающими веществами и оказывают отрицательное влияние на репродуктивную и иммунную систему животных и человека. Однако, эндокрин-разрушающее действие пестицидов новых поколений стало выявляться сравнительно недавно и сообщения об этом относительно немногочисленны. Если эндокрин-разрушающее действие пестицидов нового поколения на репродуктивную систему можно считать доказанным, то их действие на гипоталамическую, гипофизарно-тиреоидную и гипофизарно-адреналовую системы остается не до конца ясным. Следует отметить, что все исследования действия пестицидов на функцию щитовидной или надпочечных желез были проведены на взрослых особях и с использованием относительно высоких доз препаратов. Вместе с тем известно, что организм животных и человека обладает наибольшей чувствительностью к действию пестицидов в эмбриональном и раннем постнатальном периодах жизни. Причем, отрицательное влияние этого воздействия может проявляться не сразу, а спустя долгие годы, уже во взрослом организме. Все больше появляется доказательств того, что воздействие эндокрин-разрушающих химикатов во внутриутробном или раннем детском периоде играет большую роль в патогенезе ожирения, атеросклероза, гипертонической и ишемической болезни, рака, репродуктивной патологии и другие. Кроме того, в реальной жизни организм, в том числе беременных женщин и детей, чаще всего подвергается длительному воздействию малых доз пестицидов или их метаболитов. К сожалению, эндокрин-разрушающий эффект пестицидов новых поколений при воздействии во внутриутробном и в раннем постнатальном периоде оставался практически невыясненным. Выявление механизмов эффекта пестицидов через организм матери на становление эндокринной системы потомства позволило бы разрабатывать методы профилактики, ранней диагностики и прогноза возможных негативных последствий у подрастающего поколения. Все это определило цель нашей

работы - выявление морфологических и функциональных особенностей постнатального развития гипофизарно-тироидной и гипофизарно-адреналовой систем потомства, в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери.

Для достижения цели мы использовали комплексные методы исследования, позволяющие получить максимальную информацию о морфологии и функции изученных органов. Эти методы включали в себе световую и электронную микроскопию, морфометрию, иммуногистохимию и определение концентрации маркерных гормонов гипофиза, щитовидной железы и коры надпочечников. Мы исходили из того, что только комплексное исследование позволит не просто констатировать те или иные факты, а выявить более тонкие механизмы действия пестицидов. Это очень важно для практики, так как дает возможность прогнозировать и разработать меры ранней диагностики и лечения неблагоприятных эффектов пестицидов.

Результаты показали, что гипофиз к моменту рождения имеет малые размеры, однако, достаточно сформирован. На 3 сутки в гипофизе как контрольных, так и опытных крыс довольно четко определяются передние, средние и задние доли. В динамике постнатального периода происходило увеличение размеров гипофиза в целом. Постепенно увеличивалось число базофильных и оксифильных клеток. Однако, на уровне обычной световой микроскопии каких-либо существенных различий между контрольной и опытной групп животных нам не удалось выявить. Более информативные данные мы получили при изучении некоторых гормонов передней доли гипофиза, которые участвуют в регуляции гипофизо-тироидной и гипофизо-адреналовой системы.

Аналогичным образом обычная световая микроскопия не дала существенной информации об особенностях развития щитовидной и надпочечной железы потомства в условиях воздействия пестицидов. Щитовидная железа крыс на 3 сутки после рождения окружена тонкой соединительно-тканной капсулой и

обычно состоит из одной дольки. На некоторых срезах можно увидеть парашитовидную железу, окруженную общей капсулой щитовидной железой. Паренхима щитовидной железы состоит из сформированных фолликулов различных размеров. По периферии железы фолликулы достаточно крупные, содержат то или иное количество коллоида. В центре железы преимущественно выявляются мелкие формирующиеся фолликулы и межфолликулярные эпителиальные островки. Аналогичная морфологическая картина щитовидной железы наблюдалась и в обеих опытных группах потомства. Дальнейшая динамика роста и становления щитовидной железы имела однотипный характер во всех группах исследованных животных. Она проявлялась в увеличении размеров железы в целом, возрастании числа средних и крупных фолликулов, уменьшении числа и размеров межфолликулярных эпителиальных островков. Характер динамики был однотипный как в контрольных, так и в опытных группах потомства. Однако, только на уровне обычной световой микроскопии было трудно судить о тех или иных нарушениях динамики роста и становления щитовидной железы в условиях воздействия пестицидов. Эти доказательства были получены нами при морфометрических исследованиях. Выявлено, что площадь дольки в динамике постнатального онтогенеза прогрессивно увеличивается как у контрольных, так и у опытных животных. Одновременно увеличивается число и размеры фолликулов, возрастает площадь тироцитов, и естественно, площадь коллоида. Это естественный процесс дальнейшего постнатального формирования щитовидной железы – как важнейшего органа эндокринной системы. Однако сравнительный анализ показал, что темпы прироста щитовидной железы у животных при воздействии пестицидов, практически во все сроки наблюдения существенно отстают от контроля. Замедление темпов роста и становления структурно-функциональной единицы щитовидной железы – фолликул, наиболее выражено при воздействии фипронила, по сравнению с воздействием ламбда-цигалотрина.

Нарушение процессов формирования и функционирования фолликул щитовидной железы наглядно отражалась на ультраструктуре клеток. Наши электронно-микроскопические исследования показали наличие определенных субмикроскопических изменений, в целом свидетельствующих о нарушениях тех или иных фаз секреторного цикла тироцитов. У опытных животных в стенке фолликулов часто обнаруживались клетки с выраженными признаками дезорганизации профилей зернистой эндоплазматической сети в виде их чрезмерного расширения и снижения плотности внутреннего содержимого. Иногда цитоплазма отдельных тироцитов выглядела как гигантская вакуоль, со светлым содержимым, ядро и немногочисленные органеллы были оттеснены на периферию клетки. Нередко обнаруживались тироциты с выраженным набуханием митохондрий с просветлением их матрикса и дезорганизацией крист. И наконец, у потомства от опытных животных значительно чаще, по сравнению с контролем, определялись тироциты с явными признаками апоптоза и деструкции цитоплазматических органелл. Тироцитам в обычных физиологических условиях характерно наличие развитых органелл, ответственных за синтез тироглобулина. Прежде всего, это относится к зернистой эндоплазматической сети, которая у интактных животных также была достаточно сильно развита. Однако, дезорганизация и тотальное расширение цистерн зернистой эндоплазматической сети с уменьшением плотности их содержимого были обнаружены только у потомства от опытных животных. Подобные ультраструктурные изменения тироцитов обнаружены рядом исследователей при токсических воздействиях на тироциты и рассматриваются как признаки нарушения синтеза тироглобулина и/или его транспорта в просвет фолликулов. Выявленные нами субмикроскопические изменения тироцитов, очевидно, являются показателем нарушения синтетической и секреторной деятельности клеток щитовидной железы. Более того, наши морфометрические данные убедительно показали, что хроническая интоксикация материнского организма обуславливает замедление темпов постнатального формирования и ро-



ста основной структурно-функциональной единицы щитовидной железы – секреторных фолликулов. На основании данных электронной микроскопии можно заключить, что в процессе роста и становления щитовидной железы в условиях хронической интоксикации, наряду со снижением пролиферации тироцитов, имеет место глубокое нарушение процесса их дифференцировки. На это указывают субмикроскопические признаки деструкции органелл, ответственных за синтез, транспорт и расщепление тироглобулина. Все это в конечном итоге приводит к дисфункции щитовидной железы и нарушению обменных процессов у развивающегося потомства. Причем, по степени угнетающего действия на щитовидную железу фипронил относительно превосходит аналогичный эффект ламбда-цигалотрина.

Рост и развитие организма после рождения обуславливается пролиферацией клеток. Одновременно с пролиферацией протекает апоптоз – процесс естественной гибели клеток. В физиологических условиях в растущем организме уровень пролиферации обычно высокая, а степень апоптоза – низкий. Для выявления состояния этих двух процессов мы использовали метод иммуногистохимии. Количественный подсчет результатов реакции показал, что во всех группах потомства индекс пролиферации в тироцитах постепенно повышается, достигая максимума на 21 день после рождения. К 30 дню индекс пролиферации несколько снижается, что связано с практическим завершением роста органа. Сравнительный анализ показал, что воздействие пестицидом приводит к уменьшению индекса пролиферации по сравнению с контролем. Причем, наиболее выраженное и достоверное уменьшение пролиферации отмечено при воздействии фипронила по сравнению с ламбда-цигалотрином. Противоположные данные получены при изучении процесса апоптоза. У опытных животных индекс апоптоза значительно превышает показатели контроля. Наибольшее повышение индекса апоптоза наблюдалось на 21 день после рождения. Аналогично другим показателям, наиболее выраженное и достоверное повышение индекса апоптоза отмечено при воздействии фипронила по сравнению с ламбда-цигалотрином.

Таким образом, внутриутробное и раннее постнатальное воздействие даже малых доз современных пестицидов оказывает неблагоприятный эффект на гипофизарно-тироидную систему. Этот эффект проявляется в виде замедления темпов роста и становления щитовидной железы, формирования и функционирования ее секреторных фолликул. В основе замедления темпов роста органа лежит дисбаланс между процессами пролиферации и апоптоза, который более выражен при воздействии фипронила по сравнению с ламбда-цигалотрином. На наш взгляд, все эти изменения составляют морфологический субстрат дисфункции щитовидной железы, возникающей в постнатальном онтогенезе органа в условиях воздействия пестицидами.

Для оценки степени тироидной дисфункции мы определяли концентрацию маркерных гормонов передней доли гипофиза и щитовидной железы у матерей и в динамике у потомства в условиях воздействия пестицидов. Результаты показали, что у небеременных самок, получавших в течение 30 дней до зачатия ламбда-цигалотрин (ЛСТ) и фипронил (ФПН), концентрация тироксина ( $T_4$ ) и трийодтиронина ( $T_3$ ) снижалась незначительно. По мере развития беременности у опытных групп самок развился отчетливый гипотиреоз. На 14 и 21 дни беременности концентрация  $T_4$  и  $T_3$  была достоверно более низкая по сравнению с контролем. Наиболее выраженный гипотиреоз у опытных самок обнаружен на 21 день беременности, а также на 14 дня лактации, когда концентрация  $T_4$  и  $T_3$  в 1,3 – 1,5 раза снижалась по сравнению с контролем. В то же время, концентрация тиротропного гормона (ТТГ) в обеих группах опытных крыс прогрессивно повышалась в процессе беременности и лактации, что является закономерным результатом зависимости уровня ТТГ от тироидных гормонов.

Воздействие ЛСТ и ФПН во внутриутробном периоде и через грудное молоко приводило к значительному нарушению функции щитовидной железы у потомства. Концентрация  $T_4$  и  $T_3$  во все сроки исследования у новорожденных

отопытных крыс была достоверно снижена по сравнению с контролем. Определение концентрации ТТГ показало прогрессивное его увеличение во все дни исследования.

Полученные данные показали, что длительное воздействие малых доз пестицидов приводит к нарушению функции щитовидной железы у беременных самок крыс и их потомства. При этом, несмотря на повышенный уровень тиротропного гормона, гипотиреоз у новорожденных крысят сохранялся вплоть до окончания экспериментов. Сравнительная оценка токсического эффекта исследуемых пестицидов показала, что фипронил, как более токсичный препарат ( $LD_{50}$  – 360 мг/кг) оказывал более выраженное отрицательное воздействие на функцию щитовидной железы, чем ламбда-цигалотрин ( $LD_{50}$  - 820 мг/кг), как у крыс-самок, так и у их потомства.

Таким образом, полученные данные указывают на неоднозначность механизмов развития тиреоидной дисфункции у потомства в условиях воздействия пестицидов через материнский организм. Здесь, несомненно участие, по крайней мере, двух звеньев данного механизма. Первое - это непосредственное токсическое воздействие пестицида или его метаболитов на щитовидную железу потомства, с последующей ее дисфункцией и гипотиреозом. Второе - «тиреоид-разрушающий» эффект пестицида на щитовидную железу матери, который приводит к гипотиреозу и дефициту тиреоидных гормонов для плода и новорожденного. Так или иначе, в механизме токсического эффекта изученных пестицидов главной мишенью является щитовидная железа. Мониторинг деятельности железы у беременных женщин и новорожденных будет способствовать раннему выявлению, прогнозированию и своевременному лечению неблагоприятных последствий воздействия современных пестицидов.

Следующая часть нашей работы была посвящена изучению морфологических, морфометрических, иммуногистохимических и функциональных исследований гипофизарно-адреналовой системы потомства в условиях внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов. Результаты показали,

что у всех групп крыс на 3 сутки после рождения надпочечники достаточно сформированы, окружены тонкой соединительнотканной капсулой. Четко различались кора и мозговое вещество надпочечника. Паренхима коры железы состояла из недостаточно сформированных клубочковых, пучковых и сетчатых зон. Наиболее развита клубочковая и тесно прилегающая к ней камбиальная зона. Сетчатая зона дифференцировалась с трудом. Дальнейшая динамика роста и становления надпочечной железы имела однотипный характер во всех группах исследованных животных. Эта динамика проявлялась в увеличении размеров железы в целом, увеличении размеров пучковых и сетчатых зон. У животных опытных групп формирование структурных зон коры надпочечников и дифференцировка их клеток, в отличие от контроля, происходило значительно медленнее. При этом к 14 суткам относительно четко разграничена была лишь клубочковая зона, а пучковая и сетчатая зоны не имели четких границ. Лишь к 21-30 суткам у опытных животных удавалось различить все три зоны коры. Электронно-микроскопические исследования клеток пучковой зоны в эти сроки показали значительное замедление темпов дифференцировки клеток. Клетки данной зоны характеризовались выраженной ультраструктурной гетерогенностью. Наряду с клетками, содержащими крупное ядро с ядрышками, встречались клетки с уплотненными ядрами небольших размеров. Развитый комплекс Гольджи с характерными цистернами и везикулярными структурами обнаруживался в единичных клетках. Большинство клеток содержало лишь небольшое количество липидных включений, что сочеталось с выраженным уменьшением числа и размеров митохондрий, а также редукцией профилей гладкой эндоплазматической сети. У опытных животных большинство клеток пучковой зоны содержало набухшие митохондрии с лизисом крист и просветлением митохондриального матрикса. Во многих клетках обнаруживались крупные светлые вакуоли, которые равномерно распределялись по всей цитоплазме. Следует также отметить, что у опытных животных значительно чаще встречались железистые клетки с теми или

иными признаками деструкции цитоплазматических органелл, которые нередко формировали крупные аутофагосомы.

Все это указывало на то, что наряду с замедлением дифференцировки клеток пучковой зоны, имеет место их высокая функциональная напряженность. Очевидно, это связано с реакцией клеток на стрессовые факторы, каковым является воздействие пестицидов, что подтверждалось результатами гормональных исследований. Выявлено, что у опытных животных концентрация кортизола, как у крыс самок, так и у потомства повышается, что является ответной реакцией на стресс, вызванный токсическим воздействием. Эта реакция обуславливается повышением выработки адренокортикотропного гормона (АКТГ) гипофиза и функциональным напряжением клеток коры надпочечников потомства. Как и в щитовидной железе, в коре надпочечников определяется дисбаланс между процессами пролиферации и апоптоза, выражающийся в усилении апоптоза при подавлении пролиферации клеток коры надпочечников.

Таким образом, результаты исследований гипофизарно-адреналовой системы потомства в условиях внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов показали определенные изменения, обусловленные главным образом стрессовой реакцией на воздействие. Они проявляются в виде замедления темпов роста и формирования структурно-функциональных зон коры надпочечников, особенно, пучковой и сетчатой зон, субмикроскопических изменений клеток пучковой зоны, указывающих на функциональную напряженность клеток стероидогенеза. При этом усиление апоптоза клеток при снижении их пролиферативной активности является одним из механизмов замедления темпов роста и формирования коры надпочечников. На наш взгляд, в индукции апоптоза и по-

давлении пролиферации клеток в коре надпочечников важную роль играют гипотиреоз и окислительный стресс, возникающие в результате воздействия пестицидов.



Рис. 5.36. Схематическое изображение патогенеза эндокрин-разрушающего

эффекта малых доз пестицидов на потомство при внутриутробном и раннем постнатальном воздействии через организм матери

Таким образом, проведенные нами исследования способствовали раскрытию некоторых структурно-функциональных механизмов внутриутробного и



раннего постнатального воздействия малых доз пестицидов на становление эндокринной системы потомства. На основании полученных данных нами создана оригинальная схема, отражающая основные моменты патогенеза воздействия пестицидов на мать и потомство (рис 5. 36). Как видно из схемы, пестициды, поступающие в организм матери, могут оказать как непосредственный токсический эффект на формирование эндокринной системы плода, так и опосредованный эффект через дисфункции щитовидной и надпочечных желез. Эти эффекты приводят к нарушению развития эндокринной системы потомства, результатом которого является вторичный гипотиреоз и индукция стрессовых факторов у потомства. Они в свою очередь, приводят к дисбалансу между процессами пролиферации и апоптоза клеток, что лежит в основе замедления темпов роста и становления эндокринных органов и нарушения гормонального гомеостаза у потомства. Гормональный дисбаланс у потомства может вовлечь за собой непредсказуемые изменения естественного течения процессов постнатального роста и становления других органов и тканей организма.

## ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований на тему: «Постнатальное становление гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери» представлены следующие выводы:

1. Хроническое воздействие малых доз пестицидов на материнский организм в период беременности и лактации приводит к «эндокрин-разрушающему» эффекту у потомства в раннем постнатальном периоде.

2. Морфологические, морфометрические и ультраструктурные исследования позволили установить структурные механизмы нарушений в гипофизарно-тироидной системе потомства в условиях воздействия пестицидов:

- выявлено замедление темпов роста и формирования фолликулов щитовидной железы;

- установлены субмикроскопические изменения органелл тироцитов, указывающие на нарушение их секреторной деятельности.

3. Иммуногистохимическое исследование выявило наличие дисбаланса между процессами пролиферации и апоптоза клеток щитовидной железы потомства в условиях воздействия пестицидов:

- наблюдалось достоверное увеличение индекса апоптоза при уменьшении показателей пролиферации клеток;

- усиление апоптоза клеток при снижении их пролиферативной активности является одним из механизмов замедления темпов роста и формирования щитовидной железы;

- индукция апоптоза клеток в щитовидной железе обусловлена, прежде всего, гипотиреозом и окислительным стрессом, возникающим в результате воздействия пестицидов.

4. Хроническое воздействие малых доз пестицидов на материнский организм в период беременности и лактации приводит к функциональным нарушениям в гипофизарно-тироидной системе матери и потомства:

- наиболее выраженный гипотиреоз у опытных самок обнаружен на 21 день беременности, а также на 14 день лактации, при этом концентрация  $T_4$  и  $T_3$  в 1,3 – 1,5 раза снижалась по сравнению с контролем;

- выраженный неонатальный гипотиреоз с достоверным снижением концентрации  $T_4$  и  $T_3$  наблюдался у потомства во все сроки наблюдения, достигая своего максимума на 21 сутки после рождения;

- снижение уровня  $T_4$  и  $T_3$  у матерей и потомства сопровождалось соответствующим повышением концентрации тиротропного гормона (ТТГ) гипофиза;

- в механизме развития тироидной дисфункции у потомства важную роль играет дисбаланс между процессами пролиферации и апоптоза тироцитов, способствующий замедлению темпов формирования фолликулов щитовидной железы, а также субмикроскопические изменения тироцитов, указывающие на нарушение их секреторной деятельности.

5. Морфологические, морфометрические и ультраструктурные исследования позволили установить структурные механизмы нарушений в гипофизарно-надпочечниковой системе потомства в условиях воздействия малых доз пестицидов:

- выявлено замедление темпов роста и формирования структурно-функциональных зон коры надпочечников, особенно, пучковой и сетчатой зон;

- установлены субмикроскопические изменения клеток пучковой зоны, указывающие на функциональную напряженность клеток стероидогенеза.

6. Выявлен дисбаланс между процессами пролиферации и апоптоза клеток коры надпочечников в условиях воздействия пестицидов:

- индекс апоптоза достоверно увеличен при уменьшении показателей пролиферации клеток;

-усиление апоптоза клеток при снижении их пролиферативной активности способствует замедлению темпов роста и формирования коры надпочечников;

7. Хроническое воздействие пестицидов на материнский организм в период беременности и лактации приводит к функциональным нарушениям в гипофизарно-надпочечниковой системе матери и потомства:

- определено достоверное повышение концентрации кортизола у матерей и потомства во все сроки наблюдения, причем, максимальное повышение уровня гормона у крыс - самок отмечено на 21 день беременности, а у их потомства – на 21 день после рождения;

- повышение уровня кортизола у всех животных сочеталось с высокой концентрацией адренокортикотропного гормона (АКТГ) гипофиза;

- повышение концентрации кортизола является ответной реакцией на стресс, вызванный токсическим воздействием, и она обусловлена усилением выработки адренокортикотропного гормона (АКТГ) гипофиза и функциональным напряжением клеток коры надпочечников потомства.

8. Сравнительный анализ пестицидов показал значительно более выраженную «эндокрин-разрушающую» токсичность пестицида пиразолового ряда фипронила по сравнению с пиретроидным пестицидом – ламбда-цигалотрином:

- структурно-функциональные изменения в гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системе потомства в условиях воздействия разных пестицидов носят однотипный характер, различаясь лишь по степени выраженности;

- это предопределяет эффективность общих способов предупреждения, ранней диагностики и терапии эндокринных расстройств в условиях воздействия пестицидов различных классов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – Москва: Медицина, 1990. – 384 с.
- 2 Вайнтрауба Б. Д. Молекулярная эндокринология. Фундаментальные исследования и их отражение в клинике. – М., Медицина, 2003. – 496 с.
- 3 Галяутдинова Г.Г., Тремасов М.Я. О токсичности пиретроидов// Материалы Международной научно-практической конференции//Состояние и проблемы санитарии, гигиены и экологии в животноводстве. – Чебоксары, –2004. – С. 278-281.
- 4 Гриффина Дж., С. Охеда. Физиология эндокринной системы // Лаборатория знаний. –2010. – С. 496.
- 5 Зокирова Н.Б. Токсикологическая характеристика инсектицида Титан // Журнал теоретической и клинической медицины. – Ташкент. – 2012. – №5. – С. 24-26.
- 6 Зокирова Н.Б. Токсичность и опасность нового инсектицида Вигор. // Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. – Ташкент. –2009.- №2.– С. 69-71.
- 7 Искандаров Т.И. Пестицидларнинг узок келажакда аҳолининг репродуктив фаолиятига таъсири муаммолари ва инсон саломатлигини муҳофаза этиш чора – тадбирлари: научное издание // Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2008. - №1. – С. 65-67.
- 8 Искандарова Г.Т. Оценка кумулятивных свойств препарата Суми – альфа: научное издание // Актуал. пробл. гигиены, санитарии и экологии: Матер.науч. – практ. конф., посвящ. 70-летию НИИ санитарии, гигиены и профзаболеваний. – Т., 2004, - С. 121-122.
- 9 Йулдошев З.О, Циперметрин пестицидини газ-суюқлик хроматографияси усулида таҳлил қилиш // Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2005. – №1. – С. 18-19.

10 Камалов З.С. Иммунокоррекция функциональной активности естественных киллеров и продукции интерлейкинов при пестицидной интоксикации у мышей // Журн. теоретич. и клинич. мед. – Ташкент, 2003. - №4. – С. 21-25.

11 Магдеев Р.Р. Влияние пестицида «Суми-альфа» на функциональное состояние монооксигеназной системы печени: эксперим. Мед. Патология. – Ташкент, 2002. - №2. – С. 17-18.

12 Магомедов М.Г. Влияние малых доз пестицидов на фоне дефицита йода и минеральных веществ в рационе на антиоксидантную способность жизненно важных органов в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. – Тула, 2007. - №3. – С. 24-26.

13 Махмудов К.А. Сравнительная оценка разных методов детоксикации при пестицидной интоксикации организма : научное издание // Токсикологический вестник. – М., 2004.-№2. – С. 9-12

14 Поллак Дж. М., Блум С.Р. Пептидергическая иннервация желудочно-кишечного тракта // Желудочно-кишечные гормоны и патология пищеварительной системы. - М.: Медицина, 1981. – С. 31-53.

15 Сагатов Т.А. Аллоксанли диабет шароитида вояга етган оқ каламушларнинг йўғон ичак гемоциркулятор ўзанига «неорон» пестициднинг таъсири // Патология. –Т., 2006. - №1. – С. 29-31.

16 Сагатов Т.А. Влияние препарата Т-50 на морфологические характеристики тонкой кишки крыс при остром интоксикации пестицидами на фоне аллоксанового диабета // Фармацевтический вестник. Узбекистана. –Ташкент, 2005. -№2. –С. 21-23.

17 Солиев К.К. Хронической миксинтоксикации пестицидами и показатели системы эритронов у крыс в эксперименте // Журнал теоретической и клинической медицины. – Т., 2006. -№5. –С. 179-180

18 Ташходжаев П.И. Изучение отдаленных последствий воздействия пестицида «Заллек» на гонадотропическую функцию экспериментальных белых крыс // Узбекский биологический журнал –Ташкент, 2006. -№5. –С. 84-86.



- 19 Тен С.А. Морфологические изменения сосудов внутренних органов крысы при воздействии пестицидов: научное издание // Морфология. – СПб., 2006. - №4. – С. 123
- 20 Тен С.А. Структурные изменения пищевода крысы при действии кинмикса. // Морфология. – СПб., 2004. - №4. – С. 120-121
- 21 Тешаев Ш.Ж. Реактивные изменения семенников крыс при воздействии которана и хлората магния: научное издание // Морфология. – СПб., 2004. - №4. – С. 121
- 22 Турсунов Э.А. Цитофункциональные критерии оценки периодов адаптации гепатобилиарной системы на воздействия пестицидов // Журнал теоретической и клинической медицины. – Т., 2006. - №5. – С. 181
- 23 Турсунов Э.А., Дустматов А.Т., Муротов О.У., Назаров Т.А. Цитофункциональные критерии оценки стадии адаптации гепатобилиарной системы при хронических воздействиях пестицидов: научное издание // Морфология. – СПб., 2006. № 3. – С. 126.
- 24 Фузаилова Ш.Ш. Даргит акарициддан захарланган тажриба хайвонларидаги айрим курсаткичларнинг бузилиши: научное издание // Мед.журнал Узбекистана. – Т., 2005. - №2. – С. 137-138.
- 25 Хамракулова М. А. Клинические проявления у больных с хронической интоксикацией пестицидами, лечение путем коррекции метаболических нарушений // Теоретическая и клиническая медицина. – 2014. – № 1. – С. 67–70.
- 26 Хамракулова М. А. Особенности течения углеводно-энергетического обмена у лабораторных животных при воздействии пестицида Циперфос // Теоретическая и клиническая медицина – 2013. – № 6. – С. 66–68.
- 27 Хмельницкий О. К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. – СПб: Медицина, 2002. – С. 1-120.
- 28 Юкина Г. Ю., Неворотин А. И., Быков В. Л. Ультраструктурные и метаболические характеристики тироцитов при действии циклофосфана. // Морфология. – 2004. – Том 125, №1. – С. 66–71.

29 Яглова Н.В., Яглов В.В. Эндокринные дизрапторы — новое направление исследований в эндокринологии. //Вестн. Росс. Акад. Мед. Наук.— 2012.—№3. —С. 56-61.

30 Яглов В.В. Актуальные проблемы биологии диффузной эндокринной системы. //Арх. Анат.Гистол. эмбриол.—1989.—№ 1.—С.14-29.

31 Akhtar N, Kayani SA, Ahmad MM, Shahab M. Insecticide-induced changes in secretory activity of the thyroid gland in rats. J. Appl. //Toxicol. —1996. — Vol.16. —P. 397–400.

32 Alavanja MC, Samanic C, Dosemeci M, Lubin J, Tarone R, Lynch CF, Knott C, Thomas K, Hoppin JA, Barker J, Coble J, Sandler DP, Blair A. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort.// Am. J. Epidemiol. —2003. —Vol.157. —P.800–814.

33 Alavanja MC, Sandler DP, Lynch CF, Knott C, Lubin JH, Tarone R, Thomas K, Dosemeci M, Barker J, Hoppin JA, et al. Cancer incidence in the agricultural health study. //Scand. J. Work Environ. Health. —2005. —Vol.31. —P.39–45.

34 Altenburger R, Greco WR. Extrapolation concepts for dealing with multiple contamination in environmental risk assessment.// Integr. Environ. Assess. Manage. —2009; —Vol.5. —P.62–68.

35 Alvarez, L., Hernandez, S., Martinez-de-Mena, R., Kolliker-Frers, R., Obregon, M.J., Kleiman de Pisarev, D.L. The role of type I and type II 50 deiodinases on hexachlorobenzene-induced alteration of the hormonal thyroid status. //Toxicology—2005. — Vol.207. —P. 349–362.

36 Andersen HR, Cook SJ, Waldbillig D. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity *in vitro*. //Toxicol. Appl. Pharmacol. —2002. —Vol.179. —P.1–12.

37 Anderson H, Wolff MS. Environmental contaminants in human milk. //J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol. —2000. —Vol.10, —P.755–760.

38 Andrews, M.H., Matthews, S.G. Regulation of glucocorticoid receptor mRNA and heat shock protein 70 mRNA in the developing sheep brain. //Brain. Res.

–2000. –Vol.878. –P. 174-182.

39 Auso, E., Lavado-Autric, R., Cuevas, E., Del Rey, F.E., Morreale, dE, Berbel, P. A moderate and transient deficiency of maternal thyroid function at the beginning of fetal neocortico-genesis alters neuronal migration //Endocrinology. –2004. –Vol.145. –P.4037–4047.

40 Beard J. Australian rural health research collaboration. DDT and human health. //Sci. Total Environ. –2006. –Vol.355. –P.78–89.

41 Beard, A.P., Bartlewski, P.M., Chandolia, R.K., Honaramooz, A., Rawlings, N.C. Reproductive and endocrine function in rams exposed to the organochlorine pesticides lindane and pentachlorophenol from conception. //J. Reprod. Fertil. – 1999. –Vol.115. –P. 303–314.

42 Bell EM, Hertz-Picciotto I, Beaumont JJ. A case-control study of pesticides and fetal death due to congenital anomalies. //Epidemiology. –2001. –Vol.12. –P.148–156.

43 Berbel P., Mestre J.L., Santamaria A., Palazon I., Franco A., Graells M., Gonzalez- Torga A., de Escobar G.M. Delayed neurobehavioral development in children born to pregnant women with mild hypothyroxinemia during the first month of gestation: the importance of early iodine supplementation. //Thyroid. –2009. –Vol.19. –P.511–519.

44 Bian Q., Xu L., Wang S., Xia Y., Tan L., Chen J., Song L., Chang, H., and Wang X. Study on the relation between occupational fenvalerate exposure and spermatozoa DNA damage of pesticide factory workers.//Occup. Environ. Med., –2004. –Vol.61, N 12. –P 999-1005.

45 Birkhoj M, Nellemann C, Jarfelt K, Jacobsen H, Andersen HR, Dalgaard M, Vinggaard AM. The combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides. //Toxicol. Appl. Pharmacol. –2004. –Vol.201. –P.10–20.

46 Birnbaum LS, Fenton SE. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors.// Environ. Health Perspect. – 2003. –Vol.111.–P.389–394.

- 47 Bishop CA, Brooks RJ, Carey JH, Norstrom PNRJ, Lean DRS. The case for a cause-effect linkage between environmental contamination and development in egg of the common snapping turtle (*chelydra serpentina*) from Ontario. Canada. //J. Toxicol. Environ. Health. – 1991. –Vol.33. –P.521–547.
- 48 Bishop CA, Lean DRS, Brooks RJ, Carey JH, Norstrom PNRJ. Chlorinated hydrocarbons in early life stages of the common snapping turtle (*chelydra serpentina serpentina*) from a coastal wetland on lake Ontario.// Canada. Environ. Toxicol. Chem. –1995; –Vol.14. –P.421–426.
- 49 Blair RM, Fang H, Branham WS, Hass BS, Dial SL, Moland CL, Tong W, Shi L, Perkins R, Sheehan DM. The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: Structural diversity of ligands.// Toxicol. Sci. – 2000. –Vol.54. –P.138–153.
- 50 Bloom M.S., Weiner J.M., Vena J.E., Beehler G.P. Exploring associations between serum levels of select organochlorines and thyroxine in a sample of New York state sportsmen.//Environ.Res.–2003. –Vol.93. –P.52–66.
- 51 Boas M, Main KM, Feldt-Rasmussen U.Environmental chemicals and thyroid function: an update.Boas M, Main KM, Feldt-Rasmussen U.// Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. –2009.–Vol.5. –P.385–391.
- 52 Boas M., Feldt-Rasmussen U., Skakkebaek N., Main K. Environmental chemicals and thyroid function. //J. Endocrinol. –2006. –Vol.154. –P.599-611.
- 53 Bonmatin JM, Giorio C, Girolami V, Goulson D, Kreutzweiser DP, Krupke C, Liess M, Long E, Marzaro M,Mitchell EA, Noome DA, Simon-Delso N, Tapparo A. Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. //Environ Sci Pollut Res Int. –2015. –Vol.22, N 1. – P.35-67.
- 54 Briggs J. Green revolution.// Int Encycl Hum Geogr. – 2009. – P.634–638.
- 55 Bryan GW, Gibbs PE, Hummerstone LG, Burt GR. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England: Evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints.// J. Mar. Biol. Assoc. UK. –1986. –Vol.66. – P.611–640.

- 56 Carbone P, Giordano F, Nori F, Mantovani A, Taruscio D, Lauria L, Figà-Talamanca I. Cryptorchidism and hypospadias in the Sicilian district of Ragusa and the use of pesticides. //Reprod. Toxicol. –2006. –Vol.22. – P.8–12.
- 57 Carson R. Silent Spring. Houghton Mifflin; //Boston, MA, USA– 1962. – P.215
- 58 Chinthapalli, K. Cortisol levels predict depression in teenage boys, study shows. //Br. Med. J. – 2014.–Vol.348.–P.1654.
- 59 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. Saúde Pública. –2002. –Vol.18. – P.379–402.
- 60 Cohn BA. Developmental and environmental origins of breast cancer: DDT as a case study. Reprod. Toxicol. –2011. –Vol.31. – P.302–311.
- 61 Cooper J, Dobson H. The benefits of pesticides to mankind and the environment. Crop Prot. –2007.Vol.26. – P.1337–1348.
- 62 Crain DA, Guillette LJ, Pickford DB, Rooney A. Alterations in steroidogenesis in alligators (*alligator mississippiensis*) exposed naturally and experimentally to environmental contaminants. Environ. Health Perspect. –1997; –Vol.105. – P.528–533.
- 63 Crisp TM, Clegg ED, Cooper RL, Wood WP, Anderson DG, Baetcke KP, Hoffmann JL, Morrow MS, Rodier DJ, Schaeffer JE, et al. Environmental endocrine disruption: An effects assessment and analysis [Review] Environ. Health Perspect. – 1998. –Vol.106. – P.11–56.
- 64 Cupul-Uicab L.A., Skjaerven R., Haug K., Melve K.K., Engel S.M., Longnecker M.P. Inutero exposure to maternal tobacco smoke and subsequent obesity hypertension and gestational diabetes among women in the MoBa cohort. //Environ. Health. Perspect. –2011. –Vol.120. –P. 355– 360.

- 65 Scollon E.J., Carr J.A., Cobb G.P. The effect of flight, fasting and DDT on thyroid hormones and corticosterone in Gambel's white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambelli*. //Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. – 2004. – Vol.137. – P.179–189.
- 66 Damgaard IN, Skakkebaek NE, Toppari J, Virtanen HE, Shen H, Schramm KW, Petersen JH, Jensen TK, Main KM. Persistent pesticides in human breast milk and cryptorchidism. //Environ. Health Perspect. –2006. –Vol.114. – P.1133–1138.
- 67 Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, Woodruff T, Hoel DG, Anton-Culver H. Hypothesis, xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. //Environ. Health Perspect. –1993.–Vol.101. – P.372–377.
- 68 Den Besten C., Bennik M.H., Bruggeman I., Schielen P., Kuper F., Brouwer A., Koeman J.H., Vos J.G., van Bladeren, P.J. The role of oxidative metabolism in hexachlorobenzene-induced porphyria and thyroid hormone homeostasis: a comparison with pentachlorobenzene in a 13-week feeding study. //Toxicol. Appl. Pharmacol. – 1993.– Vol.119. –P. 181–194.
- 69 Devillers J, Bro E, Millot F. Prediction of the endocrine disruption profile of pesticides. SAR QSAR.//Environ Res. –2015. –Vol.10. –P.831.
- 70 Dewailly E, Nantel A, Weber JP, Meyer F. High levels of PCBs in breast of Inuit women from arctic Quebec.// Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 1989.–Vol.4.– P.641–646.
- 71 Diamanti-Kandarakis E., Bourguignon J., Giudice L., Hauser, R., Prins G., Soto A., Zoeller R., Gore A. Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement.//Endocr. Rev. –2009.–Vol.30, N4. –P.293-342.
- 72 Dich J, Wiklund K. Prostate cancer in pesticide applicators in Swedish agriculture.//Prostate. –1998. –Vol.34. – P.100–112.
- 73 Drake A.J., Raubenheimer P.J., Kerrigan D., McInnes K.J., Seckl J.R., Walker B.R. Prenatal dexamethasone programs expression of genes in liver and adipose



tissue and increased hepatic lipid accumulation but not obesity on a high-fat diet. *Endocrinology* –2010. – Vol.151.–P.1581-1587.

74 Du G., Shen O., Sun H., Fei J., Lu C., Song L., Xia Y., Wang S., Wang X. Assessing hormone receptor activities of pyrethroid insecticides and their metabolites in reporter gene assays.//*Toxicol. Sci.* –2010. –Vol. 116, N1. –P.58-66.

75 Elhalwagy ME, Abd-Alrahman SH, Nahas AA, Ziada RM, Mohamady AH. Hepatopancreatic intoxication of lambda cyhalothrin insecticide on albino rats.//*Int J Clin Exp Med.* –2015. –Vol.8, N 5.–P.7297-7305.

76 Ellis DV, Pattisina LA. Widespread neogastropod imposex; a biological indicator of TBT contamination. //*Mar. Pollut. Bull.* –1990. –Vol.21. – P.248–253.

77 Ensminger M.P., Kevin R.B., Kelley C, Kean S. Pesticide occurrence and aquatic benchmark exceedances in urban surface waters and sediments in three urban areas of California, USA, 2008–2011. //*Environmental Monitoring and Assessment*, –2013. –Vol. 185. –P. 3697-3710.

78 Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, Fenster L, Johnson C, Barr DB. In utero exposure to dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and neurodevelopment among young Mexican American children.// *Pediatrics*. –2006. –Vol.118. – P.233–241.

79 Facemire CF, Gross TS, Guillette LJ. Reproductive impairment in the Florida panther: Nature or nurture? *Environ. Health Perspect.* –1995. –Vol.103. – P.79–86.

80 Falck F, Ricci A, Wolff MS, Godbold J, Deckers P. Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. //*Arch. Environ. Health.* –1992. –Vol.47. – P.143–146.

81 Feldt-Rasmussen, U., Hyltoft, P.P., Blaabjerg, O., Horder, M. Long-term variability in serum thyroglobulin and thyroid related hormones in healthy subjects.//*Acta Endocrinol. (Copenh).* –1980. –Vol.95. –P.328–334.

82 Ferrari S.M., Fallahi P., Antonelli A., Benvenga S. Environmental issues in thyroid diseases.//*Front Endocrinol Lausanne.* – 2017. – Vol. 20. –P.50-61.

- 83 Ferreira M., Patrícia R. DeO., Sandra E. D., Gervásio H. B., Maria I. C., Mathias. Fipronil active ingredient of acaricide frontline acting on the mice thyroid //Microscopy Research and Technique. –2012. – Vol. 75, N3. – P. 265-270
- 84 Foster W.G., Pentick J.A., McMahon A., Lecavalier P.R. Body distribution and endocrine toxicity of hexachlorobenzene (HCB) in the female rat. //J. Appl. Toxicol. –1993. –Vol.13. –P. 79–83.
- 85 Fry DM, Toone CK, Speich SM, Peard RJ. Sex ratio skew and breeding patterns of gulls, demographic and toxicological considerations. Stud. Avian Biol. – 1987. –Vol.10.– P.26-43.
- 86 Fry DM, Toone CK. DDT-induced feminization of gull embryos.//Science. –1981. –Vol.213.– P.922–924.
- 87 Gillman M.W. Developmental origins of health and disease. N. Engl. //J. Med. – 2005. –Vol. 353.–P.1848–1850.
- 88 Goldman L, Falk H, Landrigan PJ, Balk SJ, Reigart R, Etzel RA. Environmental pediatrics and its impact on government health policy.//Pediatrics. 2004. – Vol.113. – P.1146–1157.
- 89 Goldstein J.M., Handa R.J., Tobet S.A. Disruption of fetal hormonal programming (prenatal stress) implicates shared risk for sex differences in depression and cardiovascular disease. //Front Neuroendocrinol. –2014.–Vol.35. – P.140–158.
- 90 Gooding MP, Wilson VS, Folmar LC, Marcovich DT, LeBlanc GA. The biocide tributyltin reduces the accumulation of testosterone as fatty acid esters in the mud snail (*Ilyanassa obsoleta*) Environ.//Health Perspect. –2003. –Vol.111. – P.426–430.
- 91 Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT.Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals.//Endocr Rev. –2015. –Vol.28. – P.1093.

- 92 Gragnoli C. Hypothesis of the neuroendocrine cortisol pathway gene role in the comorbidity of depression type 2 diabetes and metabolic syndrome. //Appl. Clin. Genet. – 2014. –Vol.7. –P. 43–53.
- 93 Guillette LJ, Brock JW, Rooney AA, Woodward AR. Serum concentration of various environmental contaminants and their relationship to sex steroid concentration and phallus size in juvenile American alligators. //Arch. Environ. Contam. Toxicol. –1999. –Vol.36. – P.447–455.
- 94 Cooper R, Stoker TE, Tyrey L, Goldman JM, McElroy WK. Atrazine disrupts the hypothalamic control of pituitary-ovarian function. //Toxicol. Sci. –2000. – Vol.36. – P.297–307.
- 95 Guillette LJ, Pickford DB, Crain DA, Rooney AA, Percival HF. Reduction in penis size and plasma testosterone concentrations in juvenile alligators living in a contaminated environment. //Gen. Comp. Endocrinol. –1996. –Vol.101. – P.32–42.
- 96 Hardell L, Bavel B, Lindström G, Eriksson M, Carlberg M. In utero exposure to persistent organic pollutants in relation to testicular cancer risk. //Int. J. Androl. –2006. –Vol.29. – P.228–234.
- 97 Harris A., Seckl J. Glucocorticoids: prenatal stress and the programming of disease. //Horm. Behav. –2011. –Vol.59. –P. 279-289.
- 98 Harvey PW, Everett DJ, Springall CJ. Adrenal toxicology: a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis// J Appl Toxicol. – 2007. – Vol. 27, N2. – P. 103-115.
- 99 Harvey PW. Adrenocortical endocrine disruption// J Steroid Biochem Mol Biol. – 2016. – Vol. 155 (Pt B). – P. 199-206.
- 100 Heidrich DD, Steckelbroeck S, Klingmuller D. Inhibition of human cytochrome P450 aromatase activity by butyltins.// Steroids.–2001. –Vol.66. – P.763–769.
- 101 Hellemans, K.G., Verma, P., Yoon, E., Yu, W.K., Young, A.H., Weinberg, J. Prenatal alcohol exposure and chronic mild stress differentially alter depressive- and anxiety-like behaviors in male and female offspring. //Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2010.–Vol.34. –P. 633–645.

102 Hinson JP, Raven PW. Effects of endocrine-disrupting chemicals on adrenal function// Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. – 2006. – Vol. 20. N1. – P. 111-120.

103 Honein M.A., Rasmussen S.A., Reefhuis J., Romitti P.A., Lammer E.J., Sun L., Correa A. Maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure and the risk of orofacial clefts.// Epidemiology. –2007. – Vol. 18. –P. 226-233.

104 Hotchkiss K. C., Rider C. V., Blystone C. R., Wilson V. S., Hartig P. C., Ankley G. T., Foster P. M., Gray C. L., Gray L. E. 'Fifteen Years after "Wingspread"—Environmental Endocrine Disruptors and Human and Wildlife Health: Where We are Today and Where We Need to Go'.//Toxicological Sciences. –2008. –Vol.105. –P.235-259.

105 Hurley P.M. Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents.//Environmental Health Perspectives. – 1998, –Vol. 106. –P.437-445.

106 Jacobson JL, Jacobson SW. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero.//N. Engl. J. Med. –1996. –Vol.335. – P. 783–789.

107 Kelce WR, Monosson E, Gamcsik MP, Law SC, Gray LE. Environmental hormone disruptors, evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites.//Toxicol. Appl. Pharmacol. –1994.–Vol.126. – P. 276–285.

108 Khan M.A., Davis C.A., Foley G.L. et al. Changes in thyroid gland morphology after acute acrylamide exposure. //Toxicologic Sciences. – 1999. –Vol. 47. – P.151-157.

109 Kim HJ, Park YI, Dong MS. Effects of 2,4-D and DCP on the DHT-induced androgenic action in human prostate cancer cells.//Toxicol. Sci. – 2005.– Vol.88.– P. 52–59.

110 Kojima H, Katsura E, Takeuchi S, Niiyama K, Kobayashi K. Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by *in vitro* reporter gene

assays using Chinese hamster ovary cells. //Environ. Health Perspect. –2004. – Vol.112. – P. 524–531.

111 Kolpin DW, Thurman EM, Linhart SM. Finding minimal herbicide concentrations in ground water? Try looking for their degradates. //Sci. Total Environ. – 2000. –Vol.248. – P. 115–122.

112 Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, Rivera M, Vogelmann J, Orentreich N. Breast cancer and serum organochlorines, a prospective study among white; black; and Asian women. J. Natl. Cancer Inst. –1994. –Vol.86, – P. 589–599.

113 Kristensen P, Irgens LM, Andersen A, Bye AS, Sundheim L. Birth defects among offspring of Norwegian farmers; – 1967–1991.//Epidemiology. – 1997. –Vol.8. – P. 537–544.

114 Kudo Y., Yamauchi K. In vitro and in vivo analysis of the thyroid disrupting activities of phenolic and phenol compounds in *Xenopus laevis*. //Toxicol. Sci. – 2005. – Vol.84. –P. 29–37.

115 Kunugi H., Hori H., Numakawa T., Ota M. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and depressive disorder: recent progress. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi.– 2012.– Vol.32.–P.203–209.

116 Kuster E, Altenburger R. Suborganismic and organismic effects of aldicarb and its metabolite aldicarb-sulfoxide to the zebrafish embryo (*Danio rerio*)// Chemosphere. –2007. –Vol.68. – P. 751–760.

117 Larsen JC, Binderup ML, Dalgaard M, Dragsted LO, Hossaini A, Ladefoged O, Lam HR, Madsen C, Meyer O, Rasmussen ES, et al. Combined Actions and Interactions of Chemicals in Mixtures. //In: Larsen JC, editor. Danish Veterinary and Food Administration. Sborg, Denmark: –2003. – P.12.

118 Lavado-Autric R., Auso E., Garcia-Velasco J.V., Arufe M.C., Escobar dR, Berbel P, Morreale dE. Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny.//J. Clin. Invest. – 2003.–Vol.111. –P.1073–1082.

119 Lebaili, N., Saadi, L., Mosbah, R., Mechri, N. Exploration of the cytotoxic effects of an insecticide, lambda cyhalothrine, on sexual exocrine function in the white rat.//Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. –2008. –Vol. 73, N4. –P.883-889.

120 Lee S, Martinez-Arguelles DB, Campioli E, Papadopoulos V. Fetal Exposure to Low Levels of the Plasticizer DEHP Predisposes the Adult Male Adrenal Gland to Endocrine Disruption.//Endocrinology.– 2017.–Vol.158, N2. – P.304-318.

121 Leghait J, Gayrard V, Picard-Hagen N, Camp M, Perdu E, Toutain PL, Viguié C. Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes.//Toxicology. –2009. – Vol.255. –P. 38–44.

122 Larsen JC, Binderup ML, Dalgaard M, Dragsted LO, Hossaini A, Ladefoged O, Lam HR, Madsen C, Meyer O, Rasmussen ES. Combined Actions and Interactions of Chemicals in Mixtures. In: Larsen JC, editor. Danish Veterinary and Food Administration; Denmark.//The Toxicological Effects of Exposure to Mixtures of Industrial and Environmental Chemicals. –2003. – P.12.

123 Leghait J., Gayrard V., Toutain P.L., Picard-Hagen N., Viguié C. Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep.//Toxicology Letters.–2010, –Vol. 194.–P.51-57.

124 Lemaire G, Mnif W, Mauvais P, Balaguer P, Rahmani R. Activation of alpha- and beta- estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines.// Life Sci. –2006.– Vol.79, – P.1160–1169.

125 Lemaire G, Mnif W, Pascussi JM, Pillon A, Rabenoelina F, Fenet H, Gomez E, Casellas C, Nicolas JC, Cavailles V, et al. Identification of new human PXR ligands among pesticides using a stable reporter cell system. //Toxicol. Sci. –2006. – Vol.91. – P.501–509.

126 Liu, L., Liu, F., Kou, H., Zhang, B.J., Xu, D., Chen, B., Chen, L.B., Magdalou, J., Wang, H. Prenatal nicotine exposure induced a hypothalamic-pituitary-adrenal axis-associated neuroendocrine metabolic programmed alteration in intrauterine growth retardation offspring rats. //Toxicol. Lett. –2012. – Vol.214. –P. 307-313.

- 127 Malendowicz LK, Trejter M, Rebuffat P, Ziolkowska A, Nussdorfer GG, Majchrzak M. Effects of some endocrine disruptors on the secretory and proliferative activity of the regenerating rat adrenal cortex// *Int J Mol Med.* – 2006. – Vol. 18, N 1. – P. 197-200.
- 128 Manenschijn, L., Schaap, L., van Schoor, N.M., van der Pas, S., Peeters, G.M., Lips, P., Koper, J.W., van Rossum, E.F. High long-term cortisol levels, measured in scalp hair, are associated with a history of cardiovascular disease.// *J. Clin. Endocrinol. Metab.* –2013.–Vol.98.–P.2078–2083.
- 129 Martinez-Arguelles DB, Papadopoulos V. Mechanisms mediating environmental chemical-induced endocrine disruption in the adrenal gland// *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2015. – Vol. 6. – P. 29-30.
- 130 McCormick, S.D., O'dea, M.F., Moeckel, A.M., Lerner, D.T., Bjornsson B.T. Endocrine disruption of parr-smolt transformation and seawater tolerance of Atlantic salmon by 4-nonylphenol and 17-beta-estradiol. //*Gen. Comp. Endocrinol.*–2005.–Vol.142. –P. 280–288.
- 131 Meeker JD. Exposure to environmental endocrine disrupting compounds and men's health.// *Maturitas.* –2010.– Vol.66. – P.236–241.
- 132 Mellanby K. The DDT Story. British Crop Protection Council; Hampshire, UK: –1992.–P.1.
- 133 Mnif W, Pillon A, Balaguer P, Bartegi A. Endocrine xenoestrogens disruptors, molecular mechanisms and detection methods.//*Therapie.* –2007. –Vol.62. – P.369–386.
- 134 Mnif W., Hassine A., Bouaziz A., Bartegi A., Thomas O., Roig B. Effect of endocrine disruptor pesticides: A Review. //*Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2011, –Vol. 8, N 6. –P.2265-2303.
- 135 Moisiadis V.G., Matthews S.G. Glucocorticoids and fetal programming part1: outcomes. //*Nat. Rev. Endocrinol.* –2014. – Vol.10.–P. 391-402.



- 136 Mojibyan M., Karimi M., Bidaki R., Rafiee P., Zare A. Exposure to second-hand smoke during pregnancy and preterm delivery. //Int. J. High Risk Behav. Addict. –2013. – Vol.1, –P. 149-153.
- 137 Munkittrick KR, Port CB, Van Der Kraak GJ, Smith IR, Rokosh DA. Impact of bleach kraft mill effluent on population characteristics; liver MFO activity; and serum steroid levels of a Lake Superior white sucker (*Catostomus commersoni*) Can. //J. Fish Aquat. Sci. –1991. –Vol.48. –P.1371–1380.
- 138 Ndong JR, Blanchet P, Multigner L. Pesticides et cancer de la prostate: données épidémiologiques. //Bull. Cancer. – 2009. –Vol.96.–P.171–180.
- 139 Nicholson J.L., Altman J. The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of rat cerebellar cortex. I. Cell proliferation and differentiation.//Brain Res. –1972. –Vol.44. –P.13–23.
- 140 Nilsson EE, Skinner MK. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease susceptibility.//Transl Res. –2015. –Vol.165, N1. – P.12-7.
- 141 Norstrom RJ, Muir DC. Chlorinated hydrocarbon contaminants in arctic marine mammals. //Sci. Total Environ. –1994. –Vol.154. –P.107–128.
- 142 Ohi M. Reproductive adverse effects of fipronil in Wistar rats //Toxicology Letters. – 2004. – Vol. 146(2). – P.121-127
- 143 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. –Vol.119. –P.794-800.
- 144 Oskam IC, Ropstad E, Dahl E, Lie E, Derocher AE, Wiig O, Larsen S, Wiger R, Skaare JU. Organochlorines affect the major androgenic hormone; testosterone; in male polar bears (*Ursus maritimus*) at Svalbard. //J. Toxicol. Environ. Health A. –2003. –Vol.66. –P.2119–2139.
- 145 Palma P, Palma VL, Matos C, Fernandes RM, Bohn A, Soares AMVM, Barbosa IR. Effects of atrazine and endosulfan sulphate on the ecdysteroid system of *Daphnia magna*. //Chemosphere. –2009. –Vol.74. –P.676–681.

- 146 Palma P, Palma VL, Matos C, Fernandes RM, Bohn A, Soares AMVM, Barbosa IR. Assessment of the pesticides atrazine; endosulfan sulphate and chlorpyrifos for juvenoid-related endocrine activity using *Daphnia magna*. //Chemosphere. 2009. –Vol.76. –P.335–340.
- 147 Parron T, Alarcon R, Requena MDM, Hernandez A. Increased breast cancer risk in women with environmental exposure to pesticides. //Toxicol. Lett. – 2010. –Vol.196. –P.180.
- 148 Pine M., Hiney J., Lee B., Dees W. The pyrethroid pesticide fenvalerate suppresses the afternoon rise of luteinizing hormone and delays puberty in female rats. //Environ. Health Perspect. –2008. –Vol.116, N 9. –P.1243-1247.
- 149 Pop, V.J., Brouwers, E.P., Vader, H.L., Vulsma, T., van Baar, A.L., de Vijlder, J.J. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3-year follow-up study.//Clin. Endocrinol. (Oxf).– 2003.–Vol.59. –P. 282–288.
- 150 Prins GS. Endocrine disruptors and prostate cancer risk.//Endocr. Relat. Cancer. – 2008. –Vol.15. –P.649–656.
- 151 Przyrembel H, Heinrich-Hirsch B, Vieth B. Exposition to and health effects of residues in human milk. //Adv. Exp. Med. Biol. – 2000. –Vol.478. –P.307–325.
- 152 Purdom CE, Hardiman PA, Bye VJ, Eno NC, Tyler CR, Sumpter JP. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. //Chem. Ecol. – 1994. –Vol.8. –P.275–285.
- 153 Rawlings, N.C., Cook, S.J., Waldbillig, D., 1998. Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2, 4-D, and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes.//J. Toxicol. Environ. Health A. –1998. –Vol.54. –P. 21–36.
- 154 Refstrup TK, Larsen JC, Meyer O. Risk assessment of mixtures of pesticides. Current approaches and future strategies.//Regul. Toxicol. Pharmacol. – 2010. –Vol.56. –P.174–192.

- 155 Reijnders PJ. Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. //Nature. – 1986. –Vol.324. –P.456–457.
- 156 Reynolds P, Von Behren J, Gunier RB, Goldberg DE, Hertz A, Harnly ME. Childhood cancer and agricultural pesticide use, an ecologic study in California. Environ.//Health Perspect. – 2002. –Vol.110. –P.319–324.
- 157 Reynolds R.M., Walker B.R., Syddall H.E., Andrew R., Wood P.J., Whorwood C.B., Phillips D.I. Altered control of cortisol secretion in adult men with low birth weight and cardiovascular risk factors. J. Clin. //Endocrinol. Metab. –2001. –Vol.86. –P. 245-250.
- 158 Ribas-Fito N, Cardo E, Sala M, Eulalia de Muga M, Mazon C, Verdu A, Kogevinas M, Grimalt JO, Sunyer J. Breastfeeding exposure to organochlorine compounds and neurodevelopment in infants.//Pediatrics. – 2003. –Vol.111. –P.580–585.
- 159 Roeleveld N, Bretveld R. The impact of pesticides on male fertility. //Curr. Opin. Obstet. Gynecol. – 2008. –Vol.20. –P.229–233.
- 160 Roques B. B., Lacroix M. Z., Puel S., Gayrard V., Picard-Hagen N., Jouanin I., Perdu E., Martin P. G., Viguie C. CYP450-Dependent Biotransformation of the Insecticide Fipronil into Fipronil Sulfone Can Mediate Fipronil-Induced Thyroid Disruption in Rats.//Toxicological Sciences. –2012. –Vol.127. –P.29-41.
- 161 Rozman K., Gorski J.R., Rozman P., Parkinson A. Reduced serum thyroid hormone levels in hexachlorobenzene-induced porphyria.// Toxicol. Lett. –1986.–Vol.30, –P. 71–78.
- 162 Rundle J.C., Forsyth B.N. The treatment and eradication of sheep lice and ked with cyhalothrin—a new synthetic pyrethroid. //J.Aust.Vet. –1984. –Vol.61, №12. –P.396-399.
- 163 Sala M., Sunyer J., Herrero C., To-Figueras J., Grimalt J. Association between serum concentrations of hexachlorobenzene and polychlorobiphenyls with thyroid hormone and liver enzymes in a sample of the general population.// Occup. Environ. Med. –2001. –Vol.58. –P. 172–177.

- 164 Salazar-Arredondo E, Solis-Heredia M, Rojas-Garcia E, Hernandez-Ochoa I, Quintanilla-Vega B. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methylparathion; chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa. // *Reprod. Toxicol.* – 2008. – Vol.25. – P.455–460.
- 165 Saravanan, R., Revathi, K., Murthy, P. Lambda cyhalothrin induced alterations in *Clarias batrachus*. // *J. Environ. Biol.* – 2009. – Vol.30, N2. – P.265-270.
- 166 Schatzberg, A.F., Keller, J., Tennakoon, L., Lembke, A., Williams, G., Kraemer, F.B., Sarginson, J.E., Lazzeroni, L.C., Murphy, G.M. HPA axis genetic variation: cortisol and psychosis in major depression. // *Mol. Psychiatry* – 2014. – Vol.19. – P.220-222.
- 167 Schmutzler C., Hamann I., Hofmann P.J., Kovacs G., Stemmler L., Mentrup B. et al. Endocrine active compounds affect thyrotropin and thyroid hormone levels in serum as well as endpoints of thyroid hormone action in liver, heart and kidney. // *Toxicology* – 2004. – Vol.205. – P. 95–102.
- 168 Settimi L, Masina A, Andrion A, Axelson O. Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. // *Int. J. Cancer.* – 2003. – Vol.104. – P.458–461.
- 169 Sharpe RRM. Pathways of endocrine disruption during male sexual differentiation and masculinisation. // *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol.20. – P.91–110.
- 170 Shen L., Liu Z., Gong J., Zhang L., Wang L., Magdalou J., Chen L., Wang H. Prenatal ethanol exposure programs an increased susceptibility of non-alcoholic fatty liver disease in female adult offspring rats. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 274. – P. 263-273.
- 171 Short JW, Rice SD, Brodersen CC, Stickle WB. Occurrence of tri-N-butyltin caused imposex in the north pacific marine snail *Nucella limax* in Auke Bay; // *Alaska. Mar. Biol.* – 1989. – Vol.102. – P.291–297.
- 172 Simon-Delso N1, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM et al. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. // *Environ Sci Pollut Res Int.* – 2015. – Vol.22, N1. – P.5-34.

- 173 Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome, an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. //Hum. Reprod. –2001. –Vol.16, –P.972–978.
- 174 Skakkebaek NN. Endocrine disrupters and testicular dysgenesis syndrome.//Horm. Res. – 2002. –P.57-63.
- 175 Srivastava, A., Peshin, S., Kaleekal, T., Gupta, S. An epidemiological study of poisoning cases reported to the National Poisons Information Centre.// All India Institute of Medical Sciences, New Delhi. Hum. Exp.Toxicol.–2005.–Vol.24, N 6.–P.279-285.
- 176 Sugiyama S, Shimada N, Miyoshi H, Yamauchi K. Detection of thyroid systemdisrupting chemicals using *in vitro* and *in vivo* screening assays in *Xenopus laevis*. //Toxicol. Sci. – 2005. –Vol.88. –P.367–374.
- 177 Sultan C, Balaguer P, Terouanne B, Georget V, Paris F, Jeandel C, Lumbroso S, Nicolas J. Environmental xenoestrogens; antiandrogens and disorders of male sexual differentiation.//Mol. Cell. Endocrinol. – 2001. –Vol.178. –P.99–105.
- 178 Tabb MM, Blumberg B. New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. //Mol. Endocrinol. – 2006.–Vol.20. –P.475–482.
- 179 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. –Vol.542. –P.876-885.
- 180 Tukhtaev K.R., Tulemetov S.Kh., Zokirova N.B., Tukhtaev N.K., Tillabaev M.R., Amirullaev O.K., Otajonova A.N., Yarieva O.O. Prolonged exposure of low doses of Fipronil causes oxidative stress in pregnant rats and their offspring. // The Internet Journal of Toxicology. <http://ispub.com/> 2013. –P.145-149.
- 181 Tukhtaev K.R., Zokirova N.B., Tulemetov S.Kh., Tukhtaev N.K. Effect of prolonged exposure of low doses of lambda-cyhalothrin on the thyroid of the pregnant rats and their offspring. // Medical and Health Science Journal. –Praha. 2012, –Vol.13, № 2. –P.86-92.
- 182 Tukhtaev K.R., Zokirova N.B., Tulemetov S.Kh., Tukhtaev N.K.,

Tillabaev M.R., Amirullaev O.K., Otajonova A.N., Yarieva O.O. Effect of prolonged exposure of low doses of Fipronil on thyroid function of pregnant rats their offspring. //The Internet Journal of Toxicology. <http://ispub.com/> 2013.–P.14550.

183 Tukhtaev K.R., Tulemetov S.Kh., Zokirova N.B., Tukhtaev N.K. Effect of long term exposure of low doses of lambda-cyhalothrin on the level of lipid peroxidation and antioxidant enzymes of the pregnant rats and their offspring. // Medical and Health Science Journal. –Praha. 2012. –Vol.13, № 2. –P. 93-98.

184 Tyler CR, Jobling S, Sumpter JP. Endocrine disruption in wildlife, a critical review of the evidence//Crit. Rev. Toxicol. –1998.–Vol.28.–P.319–361.

185 Valsamakis, G., Kanaka-Gantenbein, C., Malamitsi-Puchner, A., Mastorakos, G. Causes of intrauterine growth restriction and the postnatal development of the metabolic syndrome. //Ann. N. Y. Acad. Sci. –2006. –Vol. 1092. –P. 138-147.

186 Van Raaij, J.A., Kaptein, E., Visser, T.J., Van den Berg, K.J. Increased glucuronidation of thyroid hormone in hexachlorobenzene-treated rats. Biochem. Pharmacol. –1993. –Vol.45. –P.627–631.

187 Vinggaard AM, Hnida C, Breinholt V, Larsen JC. Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity *in vitro*. Toxicol. In Vitro. –2000. –Vol.14. –P.227–234.

188 Vos JG, Dybing E, Greim HA, Ladefoged O, Lambré C, Tarazona JV, Brandt I, Vethaak AD. Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife; with special reference to the European situation.//Crit. Rev. Toxicol. –2000. –Vol.30. –P.71–133.

189 Waffarn, F., Davis, E.P. Effects of antenatal corticosteroids on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis of the fetus and newborn: experimental findings and clinical considerations.// Am. J. Obstet. Gynecol. – 2012. –Vol. 207. – P. 446-454.

190 Waliszewski S, Aguirre AA, Infanzón RM, Siliceo J. Carry-over of persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus. Salud.// Publica Mex. –2000. –Vol.42, –P.384–390.

- 191 Wang H., Ping J., Peng R.X., Yue J., Xia X.Y., Li Q.X., Kong R., Hong J.Y. Changes of multiple biotransformation phase I and phase II enzyme activities in human fetal adrenals during fetal development. //Acta. Pharmacol. Sin. –2008. –Vol. 29. –P. 231-238.
- 192 Wang L., Shen L., PingJ., Zhang L., Liu Z., Wu Y., Liu Y., Huang H., Chen, L., Wang,H. Intrauterine metabolic programming alteration increased susceptibility to non-alcoholic adult fatty liver disease in prenatal caffeine-exposed ratoffspring. //Toxicol. Lett. –2014.– Vol.224. –P. 311-318.
- 193 Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers.//Environ. Health Perspect. –1998.– Vol.106. – P.793–796. WHO.Our Planet, Our Health. WHO; Geneva, Switzerland// Report of the Commission on Health and Environment –2014.– P.5.
- 194 Wilson VS, Lambright CR, Furr JR, Howdeshell KL, Gray LE., Jr The Herbicide Linuron Reduces Testosterone Production from the Fetal Rat Testis During Both In Utero and *In Vitro* Exposures.//Toxicol. Lett. –2009.– Vol.186, – P.73–77.
- 195 Xiang H, Nuckols JR, Stallones L. A geographic information assessment of birth weight and crop production patterns around mother's residence. //Environ. Res. A. –2000.– Vol.82, – P.160–167.
- 196 Xu D., Chen M., Pan X.L., Xia L.P., Wang H. Dexamethasone induces fetaldevelopmental toxicity through affecting the placental glucocorticoid barrierand depressing fetal adrenal function. Environ. Toxicol. Pharmacol. 2011. – Vol. 32. – P.356-363.
- 197 Xu D., Liang G., Yan Y.E., He W.W., Liu Y.S., Chen L.B., Magdalou J., Wang H. Nicotine-induced over-exposure to maternal glucocorticoid andactivated glucocorticoid metabolism causes hypothalamic-pituitary-adrenalaxis-associated neuroendocrine metabolic alterations in fetal rats.// Toxicol. Lett.–2012. – Vol.209.–P.282-290.



- 198 Xu D., Wu Y., Liu F., Liu Y.S., Shen L., Lei Y.Y., Liu J., Ping J., Qin J., Zhang C., Chen L., Magdalou J., Wang H. A hypothalamic-pituitary-adrenalaxis-associated neuroendocrine metabolic programmed alteration in offspringrats of IUGR induced by prenatal caffeine ingestion.//Toxicol. Appl. Pharmacol. –2012.– Vol.264. – P. 395-403.
- 199 Xu D., Xia L.P., Shen L., Lei Y.Y., Liu L., Zhang L., Magdalou J., Wang H. Prenatal nicotine exposure enhances the susceptibility to metabolic syndromein adult offspring rats fed high-fat diet via alteration of HPA axis-associatedneuroendocrine metabolic programming.// Acta Pharmacol. Sin. –2013.– Vol.34. –P.1526-1534.
- 200 Xu D., Zhang, B., Liang, G., Ping, J., Kou, H., Li, X., Xiong, J., Hu, D., Chen, L., Magdalou,J., Wang, H. Caffeine-induced activated glucocorticoid metabolism in thehippocampus causes hypothalamic-pituitary-adrenal axis inhibition in fetalrats.// PLoS One–2011.– Vol.7.–P.44497.
- 201 Yamauchi, K., Ishihara, A., Fukazawa, H., Terao, Y. Competitive interactions of chlorinated phenol compounds with 3,30,5-triiodothyronine binding to transthyretin: detection of possible thyroid-disrupting chemicals in environmental waste water //Toxicol. Appl. Pharmacol. –2003. – Vol.2187. –P. 110–117.
- 202 Yang O, Kim HL, Weon JI, Seo YR. Endocrine-disrupting Chemicals: Review of Toxicological Mechanisms Using Molecular Pathway Analysis.//J Cancer Prev. –2015. –Vol.20, N1. –P.12-24.
- 203 Yousef M.I. Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits//Food Chem. Toxicol. – 2010.–Vol.48. – P .1152-1159.
- 204 Zetler G. The peptidiergic neuron — a working hepothesis.// Biochem. Pharmacol. – 1978. –Vol.25. – P.1817-1818.
- 205 Zhang J, Zhang J, Liu R, Gan J1, Liu J, Liu W. Endocrine- DisruptingEffects of Pesticides through Interference with Human Glucocorticoid Receptor. //Environ Sci Technol.–2016. –Vol.50, N1. –P.–435-43.

206 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. –Vol. 27.– P. 1194-1200.

207 Zhou S., Rosenthal D.G., Sherman S., Zelikoff J., Gordon T., Weitzman M. Physical, Behavioral, and Cognitive Effects of Prenatal Tobacco and Postnatal //Secondhand Smoke Exposure. Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care –2014– Vol.44. –P.219-241.

208 Ziolkowska A, Belloni AS, Nussdorfer GG, Nowak M, Malendowicz LK. Endocrine disruptors and rat adrenocortical function: studies on freshly dispersed and cultured cells// Int J Mol Med. – 2006. – Vol. 18, N 6. – P. 1165-1168.

209 Zoeller TR. Environmental chemicals targeting thyroid //Hormones (Athens). – 2010. –Vol. 9, N1. –P.28-40.

**ЗОКИРОВА НАРГИЗА БАХОДИРОВА**

**ПОСТНАТАЛЬНОЕ СТАНОВЛЕНИЕ ГИПОФИЗАРНО-  
ТИРОИДНО- НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ  
ПОТОМСТВА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО  
ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЕСТИЦИДОВ НА ОРГАНИЗМ МАТЕРИ**

**МОНОГРАФИЯ**

**«ALFRAGANUS UNIVERSITY»  
NODAVLAT OLIY TA'LIM TASHKILOTI**

**Manzil: Toshkent shahar, Yunusobod tumani,  
Qoraqamish ko'chasi, 2A-uy.**

**Bosishga ruxsat etildi 07.07.2025-yil.  
Bichimi 60x84 1/16. Ofset qog'ozi.  
“Times New Roman” garniturası.  
Hisob-nashr tabog'i. 9,5. Adadi 50 dona.  
Buyurtma № 47. Bahosi kelishilgan narxda.**

**“DAVR MAXSIMUM MEDIA”  
МЧЖ матбаа корхонасида чоп этилди.  
Корхона манзили: Тошкент шаҳар  
Олмазор тумани Шифокорлар шаҳарчаси, 15 уй**