ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc27.06.2017.Tib.30.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

ЗОКИРОВА НАРГИЗА БАХОДИРОВНА

ОНА ОРГАНИЗМИГА ПЕСТИЦИДЛАР СУРУНКАЛИ ТАЪСИРИ ШАРОИТИДА ТУҒИЛГАН АВЛОДДА ГИПОФИЗАР-ТИРОИД-АДРЕНАЛ ТИЗИМНИНГ ПОСТНАТАЛ ШАКЛЛАНИШИ

14.00.02 - Морфология

ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2017

УДК:616.314.18-002.4-036.12:618.173-616.71-007.234

Докторлик (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата докторской (DSc) диссертации

Content of the Doctoral (DSc) abstract

Зокирова Наргиза Баходировна
Она организмига пестицидлар сурункали таъсири шароитида туғилган авлодда гипофизар-тироид-адренал тизимнинг постнатал шаклланиши..... 3

Зокирова Наргиза Баходировна
Постнатальное становление гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери..... 27

Zokirova Nargiza Bakhodirovna
Postnatal formation of the pituitary-thyroid-adrenal system of posterity in conditions of chronic pesticide exposure on the maternal organism…….. 53

Эълон қилинган ишлар рўйхати
Список опубликованных работ
List of published works 58

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc27.06.2017.Tib.30.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

ЗОКИРОВА НАРГИЗА БАХОДИРОВНА

ОНА ОРГАНИЗМИГА ПЕСТИЦИДЛАР СУРУНКАЛИ ТАЪСИРИ ШАРОИТИДА ТУҒИЛГАН АВЛОДДА ГИПОФИЗАР-ТИРОИД-АДРЕНАЛ ТИЗИМНИНГ ПОСТНАТАЛ ШАКЛЛАНИШИ

14.00.02 - Морфология

ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2017

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2017.2.DSc/Tib142 рақами билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси (DSc) Тошкент тиббиёт академиясида бажарилган.

Диссертация автореферати икки тилда (ўзбек, рус) Илмий Кенгаш веб-саҳифасида (www.tma.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим портали (www.zionet.uz) манзилларига жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:	**Тўхтаев Қодир Рахимович** тиббиёт фанлари доктори, профессор
Расмий оппонентлар:	**Блинова Софья Анатольевна** тиббиёт фанлари доктори, профессор
	Исроилов Ражаббой тиббиёт фанлари доктори, профессор
	Мавлян-Ходжаев Равшан Шухратович тиббиёт фанлари доктори, профессор
Етакчи ташкилот:	**Бухоро давлат тиббиёт институти**

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги 27.06.2017.Tib.30.03рақамли илмий кенгаш асосидаги бир марталик Илмий кенгашнинг 2017 йил «____» _____ соат _____даги мажлисида бўлиб ўтади. Манзил: 100109, Тошкент ш., Фаробий кўчаси, 2-уй, Тошкент тиббиёт академиясининг 1-ўқув биноси мажлислар зали. Тел./Факс: (+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru.

Докторлик диссертация (DSc) билан Тошкент тиббиёт академиясининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (___рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100109, Тошкент ш., Фаробий кўчаси,2-уй, Тошкент тиббиёт академиясининг 2-ўқув биноси, «Б» қанот, 1-қават, 7-хона. Тел./Факс: (+99871) 150-78-14.

Диссертация автореферати 2017 йил «____»_____ да тарқатилди.
(2017 йил«___»_____даги_____ рақамли реестр баённомаси).

Г. И. Шайхова
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш раиси, т.ф.д., профессор

Н.Ж.Эрматов
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш илмий котиби, т.ф.д., доцент

У.М.Миршарапов
Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш қошидаги илмий семинар раиси,т.ф.д., профессор

КИРИШ (Докторлик диссертациясининг аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Ҳозирги кунда аҳолининг экологик саломатлигини муҳофаза қилиш жаҳон миқёсидаги долзарб масалалардан бири ҳисобланади. Атроф-муҳитни заҳарловчи моддаларнинг аксарият қисмини пестицидлар ташкил этади, шу билан бирга уларсиз қишлоқ хўжалигининг истиқболли ривожланишини тасаввур қилиб бўлмайди. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти (ЖССТ) маълумотларига кўра, дунёда йилига пестицидлардан 500 мингдан 2 миллионгача одамлар заҳарланса, уларнинг 40 минг нафаригачаси ўлим билан тугаши қайд этилган[1]. Фосфорорганик ва хлорорганик пестицидларнинг ишлатилиши таъқиқланиб ёки чекланиб, улар пиретроидлар, пиразоллар ва бошқа синфларга мансуб бўлган пестицидлар билан алмаштирилмоқда. Уларнинг афзаллиги одам ва ҳайвонлар учун нисбатан паст заҳарлилиги, ҳамда кичик дозаларда қўлланилганда ҳам зараркунандаларга қарши юқори самарадорлиги ҳисобланади. Дунё қишлоқ хўжалигида ҳосилдорликни оширишда пестицидлар ишлатилганда, улар келтириб чиқарадиган салбий асоратларнинг олдини олишга қаратилган чора-тадбирларни ишлаб чиқиш энг асосий муаммолардан бири бўлиб қолмоқда.

Жаҳонда она организмига пестицидлар сурункали таъсири шароитида туғилган авлодда кузатиладиган салбий асоратларниг олдини олишни такомиллаштиришга қаратилган чора-тадбирларнинг самарадорлигига эришиш мақсадида қатор илмий-тадқиқотлар амалга оширилмоқда. Бу борада, пестицидларнинг биологик таъсир механизми хусусиятларини асослаш; биосфера объектларида пестицидлар билан заҳарланишни эрта ташхислаш, даволаш ва патогенетик профилактикасини ишлаб чиқиш; заҳарланишларнинг адаптацион-мослашиш жараёнларини самарадорлигини баҳолаш усулларини такомиллаштириш; пестицидлар кам миқдорда қўлланилганда эндокрин-бузувчи таъсир механизмини аниқлаш; ҳомиланинг постнатал ривожланишида пестицидларнинг зарарли таъсирини олдини олиш ва уларнинг асоратларини камайтиришга қаратилган самарадор ташхислаш ва даволаш механизмини тадбиқ қилиш муҳим аҳамият касб этади.

Мустақиллик йилларида мамлакатимизда соғлиқни сақлаш тизими тубдан янгиланди, атроф-муҳитни ифлослантирувчи манбалар орқали келиб чиқадиган касалликларни эрта ташхислаш ва асоратларини камайтиришга алоҳида эътибор қаратилди. Бу борада кенг қамровли дастурий тадбирлар амалга оширилди. Пестицидлар таъсирида заҳарланишлар, ушбу шароитда юзага келган «ҳомиладорлик ва туғилгандан кейинги ҳавф омилларини аниқлаш, эрта ташхислаш ва даволаш натижасида охирги ўн йилликда оналар ўлимини 3,2 мартага, чақалоқлар ўлимини эса 3,1 баробар камайтиришга эришилди»[2]. Шунга қарамай, ҳозиргача замонавий пестицидларнинг она организми орқали ҳомила ва чақалоққа кўрсатадиган эндокрин-бузувчи таъсири етарлича ўрганилмаганлиги туфайли, салбий

[1] ЖССТ Европа регионида асосий саломатлик кўрсаткичлари.ЖССТ, 2014 йил.
[2] Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш вазирлигининг ҳисоботлари.

таъсир оқибатида келиб чиқадиган турли касалликлар ва заҳарланишларни олдини олиш ва камайтириш борасида анчагина муаммолар мавжуд. Шу боисдан, 2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши стратегиясига мувофиқ «аҳолига тиббий ва ижтимоий-тиббий хизмат кўрсатиш қулайлиги ҳамда сифатини оширишга, аҳоли ўртасида соғлом турмуш тарзини шакллантиришга йўналтирган ҳолда соғлиқни сақлаш соҳасини ислоҳ қилиш»[3], пестицидларнинг она организми орқали авлод гипофизар-тироид-адренал тизимига кўрсатадиган таъсир механизмларини очиб бериш, ҳамда шу орқали салбий асоратларни олдини олиш, эрта ташхислаш ва самарали даволаш усулларини ишлаб чиқиш тиббиётнинг долзарб муаммоларидан бири ҳисобланади.

Ўзбекистон Республикаси «Атмосфера ҳавосини муҳофаза қилиш», «Фуқаролар соғлиғини сақлаш», «Озиқ-овқат маҳсулотларининг сифати ва хавфсизлиги», «Аҳолининг санитария-эпидемиологик осойишталиги тўғрисида»ги қонунлари, Ўзбекистон Республикаси Президентининг «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси»да, 2014 йил 1 августдаги ПҚ–2221-сон «2014-2018 йилларда Ўзбекистонда аҳолининг репродуктив саломатлигини янада мустаҳкамлаш, оналар, болалар ва ўсмирлар соғлигини муҳофаза қилиш борасидаги давлат дастури тўғрисида»ги Қарорлари, ҳамда ушбу фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда мазкур диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишлари доирасида бажарилган.

Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи[4]. Пестицидларнинг салбий таъсирлари жуда хилма-хил бўлиб, ушбу глобал муаммони ҳал қилиш устида кўплаб илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бу изланишлар дунёнинг қатор етакчи университетлари ва илмий марказларида, шу жумладан: National Institute of Environmental Health Sciences, University of Maryland, New York University, University of Illinois at Chicago, Colorado State University, University of Rochester, University of California, Harvard University, Emory University (АҚШ), University of Milan (Италия), Universitat de València (Испания), University of Turku (Финляндия), Ghent University(Бельгия), Imperial College London (Буюк Британия), University of Edinburgh (Англия), University of Pavia (Италия), University of Murcia (Испания), Pukong National University (Корея), Punjab Agricultural University (Ҳиндистон), Россия фанлари академияси, Байкал Миллий Университети (Россия Федерацияси), Санитария гигиена ва касб

[3] 2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришниг бешта устувор йўналишлари бўйича Ҳаракатлар стратегияси.

[4]Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи ww.ncbi.nlm.gov/pubmed;http://www.rsl.ru; http://www.biomedcentral.com ва бошқа сайтлар асосида ишлаб чиқилган.

касалликлари илмий тадқиқот институти, Тошкент тиббиёт академиясида (Ўзбекистон) кенг қамровли илмий тадқиқот лойиҳалари доирасида олиб борилмоқда.

Пестицидларнинг таъсири оқибатида келиб чиқувчи салбий асоратларни камайтириш ва қишлоқ хўжалигида юқори ҳосилдорликни таъминлаш самарадорлигини ошириш юзасидан олиб борилган илмий тадқиқотлар натижасида кейинги йилларда жаҳонда қатор илмий натижалар олинган, жумладан: пестицидлар таъсирида келиб чиқувчи ўткир ва сурункали заҳарланишларни камайтиришни аниқлаш усуллари ишлаб чиқилган (University of Murcia, Испания); улардан 250 тасининг фойдаланишга хавфсизлиги исботланган (Colorado State University, University of Rochester, University of California, Harvard University, Emory University, АҚШ); экологик ифлослантирувчи моддаларнинг ирсият орқали ўтувчи ва турли касалликларга мойилликни ортишига кўмаклашувчи эпигенетик бузилишларни келтириб чиқариш хусусияти ёритиб берилган (University of Milan, Италия, Universitat de València, Испания, University of Illinois at Chicago, АҚШ, University of Turku, Финляндия, Ghent University, Бельгия); пестицидларни қатор аъзоларнинг метаболик жараёнларини ўзгартиришини аниқлашнинг замонавий усуллари ишлаб чиқилган (Байкал Миллий Университети, Россия Федерацияси); кенг қўлланиладиган ва эндокрин бузувчи таъсирга эга хлор- ва фосфорорганик пестицидлар (ДДТ, хлорпирифос ва бошқалар), пиразол, неоникотиноид, пиретроидлар ва карбаматлар синфига мансуб 100 дан ортиқ пестицидларнинг эндокрин-бузувчи таъсири аниқланган (Imperial College London, Англия, National Centre for Environmental Toxicology, Буюк Британия, Federal Environment Agency, Германия, Centre de Biophysique Moléculaire, Франция); эндокрин-бузувчи пестицидлар ва улар метаболитларининг қолдиқ дозаларини аниқлаш имконини берувчи токсикологик тестлар услублари ишлаб чиқилган (National Centre for Environmental Toxicology, Буюк Британия); сув, тупроқ ва озиқ-овқат маҳсулотларида пестицидларнинг жуда кам миқдорда сақланиши ҳам одам ва ҳайвон саломатлиги учун жиддий хавф туғдириши исботланган (Centre National de la Recherche Scientifique, Франция); иссиқ иқлим шароитида пестицидларнинг сув, тупроқ ва ҳаво муҳитида РЭМ миқдорига тузатишлар киритиш ва коэффициентлари ишлаб чиқилган (Санитария гигиена ва касб касалликлари илмий тадқиқот институти, Ўзбекистон); пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврда эндокрин-бузувчи таъсир механизмлари ўрганилган (Тошкент тиббиёт академияси, Ўзбекистон).

Бугунги кунда дунёда пестицидларни ҳомиладорлик ва илк постнатал даврда кўрсатаган таъсирини аниқлаш бўйича қуйидаги устувор йўналишларда илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда, жумладан: пестицидларнинг постнатал даврида эндокрин-бузувчи таъсир механизмини олдини олиш усулларини ишлаб чиқиш; пестицидларнинг туғилган авлодда буйрак усти бези пўстлоғида ҳужайранинг пролиферативф фаоллиги ва апоптоз даражасини, гипофизнинг олдинги бўлаги ва қалқонсимон без маркер гормонлар концентрациясини, буйрак усти бези пўстлоғининг

морфологик хусусиятларини асослаш; пестицидларнинг постнатал даврдаги ривожланишига ўта кам миқдорда қўлланилишидаги таъсир механизмларни асослаш; аҳолининг турли қатламлари орасида ҳаёт сифатини оширишда илмий асосланган ташхислаш, профилактика ва патогенетик даволаш чора-тадбирларига услубий ёндошувни эътиборга олган ҳолда такомиллаштириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Яқин (Яглова Н. В., Яглов В. В., 2012) ва узоқ (Pine M. D. et al., 2008; Mnif W. et al., 2011; Gore A. C.et al., 2015) хориждаги олимларнинг тадқиқотлари эндокрин-бузувчи замонавий пестицидларнинг турли касалликлар, жумладан, семизлик, атеросклероз, хавфли ўсмалар, бепуштлик ва бошқа касалликлар патогенезида муҳим аҳамиятга эга эканлигини кўрсатди. Шулардан пиретроид пестицидлар жаҳон пестицидлар бозорининг тахминан чорак улушини ташкил этади ва қишлоқ хўжалиги, ҳамда жамоат соғлиғини сақлаш соҳасида кенг қўлланилиб келмоқда (Elhalwagy M. E. et al., 2015). Қатор пиретроид пестицидларнинг (ламбда-цигалотрин, дельтаметрин) репродуктив тизимнинг гормонал бошқарилишини издан чиқарувчи антиандроген таъсирга эга эканлиги кўрсатиб берилган (Du G. et al., 2010; Orton F. et al., 2011). Ламбда-цигалотриннинг эндокрин-бузувчи таъсири сезиларли даражада унинг стероид гормонларнинг глюкокортикоид рецепторларига нисбатан антагонизми билан боғлиқ деб ҳисобланади (Zhang J.et al., 2016). Ламбда-цигалотриннинг гипофизар-тироид тизимга эндокрин-бузувчи таъсири кам ёритилган бўлиб, қонда тиреоид гормонлар миқдорининг камайиши билан ифодаланади (Saravanan R. et al., 2009; Tu W. et al., 2016). Энг кўп тарқалган пестицидлардан яна бири бензопиразоллар синфига мансуб фипронилдир. У кам миқдорда ҳам юқори инсектицид фаолликка эга бўлиб, жаҳон миқёсида кенг қўлланилади (Bonmatin J.M. et al., 2015). Фипронилнинг эндокрин-бузувчи таъсири кўпроқ қалқонсимон без фаолиятини бузилиши ва метаболитларини токсик таъсири билан боғлиқ (Leghait J. et al., 2009, 2010; Roques B., et al. 2012; Ensminger M. P. et al., 2013; Simon-Delso N. et al., 2015).

Замонавий пестицидларининг эндокрин-бузувчи таъсири Ўзбекистон Республикасида камроқ ўрганилган. Профессор Қ.Р.Тўхтаевнинг (2012, 2014) ишларида пестицидларнинг қалқонсимон без ва буйрак усти бези пўстлоқ моддасининг функционал ҳолатларига таъсири кўрсатиб берилган. Профессорлар П.И.Ташходжаев (1993), Т.И.Искандаров (1990, 2002), Г.Т.Искандарова (1998) ва т.ф.д. М.А.Ҳамроқулова (2016) тадқиқотлари эса пиретроид пестицидлар билан ўткир ва сурункали заҳарланганда кузатиладиган токсикологик ва биокимёвий ўзгаришларга бағишланган. Шуни алоҳида таъкидлаш лозимки, замонавий пестицидларнинг эндокрин тизимга таъсир механизмларини ўрганиш бўйича тадқиқотларнинг аксарият қисми балоғатга етган ҳайвонлар ва катта ёшли одамларда ўтказилган. Шу билан бирга, айнан ҳомила ва илк постнатал даврлар бўлажак авлодда пестицидлар таъсирида узоқ муддатли оғир асоратлар ривожланиш эҳтимоли жуда юқори бўлган энг хавфли даврлардан ҳисобланади.

Кенг тарқалган замонавий пестицидларнинг эндокрин безларнинг ўсиши ва шаклланишига таъсирини ўрганиш ҳомила ва илк болалик даврда

пестицидларнинг таъсири сабабли юзага келадиган қатор касалликлар патогенези ҳақида янги маълумотлар олиш имконини беради. Афсуски, шубҳасиз илмий-амалий аҳамиятга эга бўлган ушбу муаммо ҳанузгача ўз ечимини топгани йўқ.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация Тошкент тиббиёт академиясиниг «Постнатал онтогенезда экотоксик омиллар таъсири остида иммун, эндокрин, ҳазм ва айирув тизимларининг адаптацион сезгирлигининг морфологик асосларини ўрганиш» (2013-2016 йй) мавзуси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади она организмига пестицидлар сурункали таъсир эттирилган шароитда туғилган авлодда илк постнатал даврларда гипофизар-тироид ва гипофизар-адренал тизим шаклланишининг структур-функционал хусусиятларини очиб беришдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

она организмига пестицидларнинг сурункали таъсир этиши шароитида туғилган авлодда қалқонсимон безни морфологик, морфометрик ва ултраструктуравий хусусиятларини аниқлаш;

она организмига пестицидларнинг сурункали таъсир этиши шароитида туғилган авлод қалқонсимон безида ҳужайралар пролиферативфаоллигини ва апоптоз даражасини иммуногистокимёвий усул ёрдамида баҳолаш;

она организмига пестицидларнинг сурункали таъсир эттирилишида онада ва авлод динамикасида гипофизнинг олдинги бўлаги (ТТГ) ва қалқонсимон без маркер гормонлари (T_4, T_3) концентрациясини аниқлаш;

она организмига пестицидларнинг сурункали таъсир этиши шароитида туғилган авлодда буйрак усти бези пўстлоғининг морфологик, морфометрик ва ултраструктуравий хусусиятларини аниқлаш;

она организмига пестицидларнинг сурункали таъсир этиши шароитида туғилган авлодда буйрак усти бези пўстлоғида ҳужайралар пролиферативфаоллиги ва апоптоз даражасини баҳолаш;

она организмига пестицидларнинг сурункали таъсир эттирилишида онада ва авлод динамикасида гипофизнинг олдинги бўлаги (АКТГ) ва буйрак усти бези пўстлоқ қаватида (кортизол) маркер гормонлар концентрациясини аниқлаш;

она организмига кичик дозадаги пестицидларнинг сурункали таъсир этиши натижасида авлодда кузатиладиган «эндокрин–бузувчи» эффект патогенези концепциясини ишлаб чиқиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида тана вазни 150-180 грамм бўлган, оқ, жинсий етилган, туғмаган Вистар урғочи каламушлари ва улардан туғилган авлод хизмат қилди. Тажриба учун олинган урғочи каламушлар гуруҳига ҳар куни, то тажриба якунигача, ламбда-цигалотрин (титан) пестициди 8 мг/кг, ёки фипронил (вигор) пестициди 3,6 мг/кг ҳисобда юборилиб турилди. Барча гуруҳлардан туғилган авлоддан 3, 7, 14, 21 ва 30 кунларда тадқиқот учун материал олинди. Онада ва авлод динамикасида гипофизнинг олдинги

бўлаги, қалқонсимон без ва буйрак усти бези пўстлоғи, ҳамда қон зардоби ўрганилди.

Тадқиқотнинг предмети: кичик дозадаги пестицидларнинг она организми орқали таъсир этиш шароитларида туғилган авлодда гипофизар-тироид ва гипофизар-адренал тизимларнинг илк постнатал шаклланиш хусусиятларини мажмуавий таҳлили; ҳомиладорлик ва илк постнатал даврларда пестицидларнинг сурункали таъсир эттирилишида ривожланадиган токсик эффектнинг структур-функционал механизмлари.

Тадқиқотнинг усуллари. Қўйилган вазифаларни бажариш мақсадида ёруғлик микроскопияси, морфометрик, трансмиссион электрон микроскопия, иммуногистокимёвий, иммунофермент ва статистик таҳлил усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

она организмига пестицидлар таъсир этиши шароитида туғилган авлодда гипофизар-тиреоид-адренал тизимнинг эндокрин безларини постнатал структур-функционал шаклланиш динамикаси асосланган;

кам миқдордаги пестицидларнинг она қорнида ва илк постнатал даврда таъсир эттирилган шароитда туғилган авлодда «эндокрин-бузувчи» самаранинг ривожланиш концепцияси исботланган;

пестицидлар (пиретроид пестицид ламбда-цигалотрин ва бензопиразол пестицид фипронил)нинг она қорнида ва лактацион даврлардаги таъсири авлодда эндокрин тизим ривожланишига бир хил салбий таъсир этиши баҳоланиб, фипронил (вигор)нинг салбий таъсири, ламбда-цигалотрин (титан) таъсирига нисбатан анча яққолроқ ифодаланганлиги исботланган;

гипотиреоз ҳамда оксидловчи стресс авлод қалқонсимон ва буйрак усти безлари ҳужайраларида апоптознинг кучайишига олиб келиши, ўз навбатида ушбу аъзоларда ҳужайралар пролиферацияси ва нобуд бўлиши жараёнлари орасидаги мувозанат бузилганлигини ва уларда постнатал шаклланиш суръатлари пасайишининг асосий сабаб эканлиги асосланган;

пестицидлар таъсирида қалқонсимон ва буйрак усти безларининг постнатал шаклланишидаги аниқланган структур-функционал механизмлар атроф-муҳитнинг пестицидлар билан ифлосланиш хавфи юқори бўлган шароитларда ҳомиладорлар ва чақалоқларда яширин заҳарли таъсирларнинг олдини олиш, ташхислаш ва даволашнинг патогенетик тартиби такомиллаштирилган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси. 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 ташхислаш ва прогнозлаш усуллари ишлаб чиқилган;

интоксикациянинг клиник симптомлари мавжуд бўлмаганда кичик дозадаги пестицидлар таъсир этишининг яширин токсик самарасини аниқлаш бўйича мониторинг тадқиқотлар ўтказиш зарурияти асосланган;

она организми орқали пестицидларнинг сурункали таъсир этиши шароитида туғилган авлодда гипофизар-тироид-адренал тизимининг постнатал

ўсиши ва шаклланиши бузилишида структур-функционал механизмларнинг аниқланиши эҳтимолий асоратларни олдини олиш ва даволашнинг у ёки бу патогенетик усулларини ишлаб чиқиш учун асос бўлган;

ҳомиладорлар ва чақалоқларда гипотиреоз ва оксидловчи стрессни эрта аниқлаш, ҳамда экзоген тиреоид гормонлар ва антиоксидант терапия ёрдамида фармакологик коррекциялаш усули асослаб берилган;

одам ва ҳайвон организмига ташқи муҳитни ифлослантирувчи моддалар таъсирининг салбий асоратларини башоратлаш борасидаги янги далиллар фундаментал-амалий аҳамиятга эгалиги исботланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги қўлланилган замонавий, бир бирини тўлдирувчи морфологик, морфометрик электрон-микроскопик, иммуногистокимёвий, иммунофермент усулларининг услубий жиҳатдан тўғрилиги, тажриба ҳайвонлари сонининг етарлилиги, шунингдек, аналитик ва статистик усуллар ёрдамида ишлов берилганлиги ва олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти замонавий пестицидларнинг токсик таъсирини аниқлашга бўлган янги ёндошув, хусусан, кам дозадаги пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврларда авлоднинг эндокрин тизимини шаклланишига таъсир этишининг структур-функционал механизмларини очиб бериш билан изоҳланган.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, пестицидларнинг сурункали таъсири шароитларида авлоднинг постнатал ўсиши ва гипофизар-тироид-адренал тизими шаклланиши жараёнида аниқланган бузилишларнинг структур-функционал механизмлари токсик таъсирнинг эҳтимолий салбий оқибатларини олдини олиш ва даволашнинг у ёки бу патогенетик усулларини тайинлашга асос бўлган. Пестицидларнинг «эндокрин-бузувчи» таъсири механизмида она ва авлод организмида ривожланадиган гипотиреоз ва оксидатив стресс етакчи ўрин тутади. Бу эса, ўз навбатида, қуйидагилар: атроф-муҳитнинг замонавий пестицидлар билан зарарланиш хавфи юқори бўлган шароитларда ҳомиладор аёлларда ва ёш болаларда қалқонсимон без фаолиятини, ҳамда липидларнинг перекисли оксидланиши жараёнини мунтазам равишда мониторинг қилиш; ҳомиладор аёлларда ва гўдакларда яширин токсик самараларни, авваламбор, гипотиреоз ва оксидатив стрессни эрта аниқлашга ва уларни фармакологик усулда (экзоген тиреоид гормонлар ва антиоксидантлар ёрдамида) бартараф қилишга йўналтирилган патогенетик профилактика ва даволаш усулларини ишлаб чиқиш билан изоҳланган.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши:

Она организмига пестицидлар сурункали таъсири шароитида туғилган авлодда гипофизар-тироид-адренал тизимнинг постнатал шаклланиши бўйича олинган натижалар асосида:

«Қалқонсимон без фаолиятига пестицидларнинг кам миқдорини токсик таъсирини самарадорлигини баҳолаш» услубий қўлланмаси тасдиқланган

(Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2015 йил 23 апрелдаги 8Н-р/34-сон маълумотномаси). Мазкур услубий қўлланма қалқонсимон без фаолиятига пестицидларнинг таъсирини аниқлаш ва уларнинг салбий таъсирининг олдини олиш ва профилактик чора-тадбирларини ишлаб чиқиш имконини берган;

«Оксидатив стресс ҳолатига пестицидларнинг кам миқдордаги токсик таъсирини баҳолаш» услубий қўлланмаси ишлаб чиқилган ва соғлиқни сақлаш амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2015 йил 23 апрелдаги 8Н-р/34-сон маълумотномаси). Мазкур услубий қўлланма оксидатив стресс ҳолатининг келиб чиқишида пестицидлар таъсирини аниқлаш ва ташхислаш ҳужайралардаги ўзгаришларни олдини олиш ва даволаш механизмларини ишлаб чиқиш имконини берган;

она организмига пестицидлар сурункали таъсири шароитида туғилган авлодда гипофизар-тироид-адренал тизимнинг постнатал такомилини баҳолаш бўйича олинган илмий натижалар соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан Тошкент тиббиёт академияси институтлараро марказий илмий тадқиқот лабораторияси ва клиник амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2017 йил 28 сентябрдаги 8Н-3/21-сон маълумотномаси). Олинган илмий натижаларнинг амалиётга жорий қилиниши ҳаётнинг илк даврида пестицидларнинг токсик таъсирини эрта ташхислаш ва прогнозлаш усулларини ишлаб чиқишга имкон яратган. Бу ўз навбатида, пестицидлар билан заҳарланишнинг илк таъсирларини олдини олиш ва даволаш самардорлигини ошириш, ногиронликка олиб келишини 25–35% қисқариши ва даволанишга кетадиган харажатларни камайтиради ҳамда ҳомиладорлик ёки илк болалик даврида пестицидлар таъсири шароитида бўлган болаларда туғилгандан кейинги узоқ даврда юзага келадиган касалликларни олдини олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари, жумладан 6 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича 43 та илмий иш, шундан 13 та мақола Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда, жумладан, 9 таси республика ва 4 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 180 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати асослаб берилган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объекти ва предметлари баён этилган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Атроф-муҳитнинг эндокрин-бузувчи моддалари ва уларнинг одам ва ҳайвон организмига таъсири**» деб номланган биринчи бобида атроф-муҳитни ифлослантирувчиларнинг ҳайвон организмига, шу жумладан одам организмига эндокрин-бузувчи таъсир этишига доир жаҳон адабиётида келтирилган маълумотларнинг таҳлили бўйича натижалар берилган. Таҳлил якунида замонавий пестицидларнинг «эндокрин-бузувчи» таъсири механизмлари ва асоратларини ўрганишга доир тадқиқотларнинг аксарияти жинсий етилган ҳайвонлар ёки катта ёшдаги одамларда ўтказилганлиги ҳақида қисқа хулоса келтирилган. Реал ҳаётда кўпинча организм, шу жумладан ҳомиладор аёллар ва ёш болалар организми айнан кичик дозалардаги пестицидлар ва уларнинг метаболитлари таъсирига дуч келади. Шу билан бирга, ҳомиладорлик ва илк постнатал даврлар пестицидлар таъсирининг оғир асоратлари ривожланиши учун ҳаётнинг энг хавфли босқичлари ҳисобланади. Ҳозиргача замонавий пестицидларнинг она организми орқали ҳомила ва чақалоққа кўрсатадиган эндокрин-бузувчи таъсири етарлича тўлиқ аниқланмаганлиги ва ушбу муаммонинг ечимини топиш борасидаги илмий-тадқиқотларни давом эттириш зарурлиги асослаб берилган.

Диссертациянинг «**Қўлланилган пестицидларнинг токсик-кимёвий тавсифи»** деб номланган иккинчи бобида ишда қўлланилган пестицидларнинг токсикологик хоссаларини ўрганиш натижалари келтирилган. Ишда республикамизда ва бутун дунёда кенг қўлланиладиган юқори самарали пестицидларнинг икки вакилидан фойдаланилди. Булар «титан» (таъсир этувчи моддаси пиретроидлар синфига мансуб ламбда-цигалотрин) ва «вигор» (бензопиразол ҳосиласи фипронил) инсектицидларидир. Титан ёки ламбда-цигалотрин (ЛСТ) 10%, вигор ёки фипронил (ФПН) – 4% эмульсия концентрати кўринишида «Euro-Team» Ўзбек-Германия қўшма компаниясидан олинди. Ўтказилган токсикологик тадқиқотлар асосида олинган препаратларнинг турли ҳайвонлар (сичқонлар, оқ каламушлар ва қуёнлар) учун $ЛД_{50}$ дозалари ишлаб чиқилди, пестицидларнинг заҳарлилик синфларга мансублиги аниқланди ва кейинги тажрибалар учун ишлатиладиган дозалар асослаб берилди. Препаратлар танлови, уларнинг дозалари ва юбориш усуллари катта илмий ходим И.Б.Бойко тавсиялари бўйича бажарилди, шу боисдан уларга чуқур миннатдорчилик билдирамиз.

Диссертациянинг **«Пестицидлар эндокрин бузувчи таъсирини ўрганиш методологияси»** деб номланган учинчи бобида экспериментал материал ва ўтказилган тажрибалар ҳақидаги маълумотлар, шунингдек асосий микроскопик, морфометрик, электрон микроскопик, иммуногистокимёвий, иммунофермент ва статистик тадқиқот усуллари ҳақида маълумотлар баён этилган. Тажрибалар тана вазни 150-180 г бўлган, оқ, жинсий етилган, туғмаган, Вистар урғочи каламушларида ўтказилди, жинсий етилган эркак каламушлардан фақат уруғлантиришда фойдаланилди. Барча каламушлар бошқариладиган ҳарорат (22±3 °С) ва намлик шароитларида 12 соатлик кун ва тун циклида сақланди. Каламушлар тажрибадан олдин бир ҳафта мобайнида иқлимга мослаштирилди. Сўнг урғочи каламушлар ҳар бирида 45 та каламушдан иборат учта гуруҳга ажратилди. Биринчи гуруҳдаги каламушларга (I тажриба гуруҳи) зонддан фойдаланиб, физиологик эритмада аралаштирилган ламбда-цигалотрин (ЛСТ) 8мг/кг/ҳар куни оғиз орқали юборилди. Бу препарат $ЛД_{50}$ининг 1/100 қисмига мос келади. Каламушларнинг иккинчи гуруҳига (II тажриба гуруҳи) худди шу усулда 3,6 мг/кг/ҳар куни ҳисобидан фипронил (ФПН) юборилди, бу препарат $ЛД_{50}$ининг 1/100 қисмига мос келади. Каламушларнинг учинчи гуруҳи (назорат гуруҳи) стерил физиологик эритманинг тенг ҳажмини олди. Препаратларни юбориш тажрибалар якунига қадар тўхтатилмади. Тажрибаларнинг 31 кунида барча гуруҳдаги урғочи каламушлар уруғлантириш учун соғлом эркак каламушларга қўшилди. Ҳомиладор-ликнинг бошланиши қин суртмаларида сперматозоидлар мавжуд-лигига қараб назорат қилинди. Ҳомиладорлик бошланганидан кейин урғочи каламушлар эркак каламушлардан ажратилди ва кейинги тадқиқотлар учун алоҳида қафасларга жойлаштирилди. Таъкидлаш жоизки, ЛСТ ва ФПНларнинг кам миқдорда узоқ муддат юборилиши тажриба учун олинган урғочи каламушларда заҳарланишнинг яққол аломатлари пайдо бўлишига олиб келмади. Назорат ва тажриба гуруҳларидаги ҳайвонларнинг тана вазни тажриба давомида сезиларли ўзгармади. Фақат айрим ҳайвонлардагина енгил тормозланиш ва ҳаракатланиш фаоллигининг озгина сусайиши қайд этилди. Гормонлар концентрацияси ва оксидланиш стресси даражасини баҳолаш учун урғочи каламушларнинг маълум қисми енгил эфир наркози остида ҳомиладорликнинг 14 ва 21 кунларида (гестация кунлари, ГК 14 ва ГК 21) ва туғруқдан кейин эмизикли даврнинг 7, 14 ва 21 кунларида (лактация кунлари, ЛК 7, ЛК 14 ва ЛК 21) жонсизлантирилди. ЛСТ ва ФПН таъсир эттирилган каламушлардан туғилган авлод тана массаси ва ўлчамлари билан сезиларли фарқланмади. Назорат гуруҳига нисбатан кўзларнинг ва қулоқларнинг бир мунча кеч очилиши қайд этилди. Барча гуруҳдан олинган авлод туғилганидан кейинги 3, 7, 14, 21 ва 30 кунларда енгил эфирли анестезия остида жонсизлантирилди. Фойдаланилган урғочи каламушларнинг умумий сони 180 тани ташкил этди, шундан 5 та каламуш пестицидларнинг сурункали таъсири билан боғлиқ бўлмаган сабабларга кўра экспериментдан олиб ташланди. Тажриба ва назорат гуруҳларидаги ҳайвонлардан олинган авлоднинг умумий сони 148 тани ташкил этди. Барча тажриба ҳайвонларини

сақлаш ва жонсизлантириш Ўзбекистон Республикаси этика қўмитаси рухсатномасига мувофиқ ва талаблари бўйича қатъий тарзда бажарилди.

Ҳайвонларни жонсизлантириш тегишли муддатларда, эрталабки соатларда, оч қоринга, енгил эфирли наркоз остида бажарилди. Қалқонсимон без, буйрак усти бези ва гипофиз массаси ўлчангандан сўнг 10% ли нейтрал формалин ёки Карнуа ва Буэн суюқликларида фиксацияланди, тегишли амаллардан сўнг парафинга солинди. Депарафинланган кесмалар гематоксилин ва эозин бўёғи билан бўялди. Ярим юпқа кесмалар тайёрлаш учун органлардан олинган бўлакчалар 1,25 % ли глютар альдегид эритмасида фиксацияланди ва аралдит-эпон аралашмасига қуйилди. Ярим юпқа кесмалар (1мкм) метилен кўки ва асосий фуксин бўёқлари билан бўялди.

Электрон-микроскопик текширувлар учун органлардан олинган кесмалар изчил равишда 1,25% ли глютар альдегиди ва 1% ли осмий кислотасининг фосфат буфердаги (pH-7,3) эритмасида фиксацияланди. Сувсизлантирилгандан кейин материал аралдит-эпон аралашмасига солинди. Ултраюпқа кесмалар «Ultratome – V» (LKB, Sweden)да тайёрланди ва изчил равишда уранил-ацетат, қўрғошин цитрати билан контрастланди, сўнгра «JEM-100SX» (JEOL, Japan) электрон микроскопида кўрилди.

Морфометрик текширувлар парафинли ва ярим юпқа кесмаларда Автандилов (Автандилов Г.Г., 1990) тўри ёрдамида ўтказилди. Айрим ҳолатларда «Carl Zeiss Jena» (Germany) фирмасининг «Морфология-4» компьютер дастуридан фойдаланилди. Қалқонсимон безда фолликулларнинг ташқи ва ички диаметри, коллоид, эпителий майдони, тироцитлар баландлиги, 1 фолликулдаги тироцитлар сони, фолликуллараро эпителий ва бириктирувчи тўқимали строма майдонлари аниқланди. Буйрак усти безида бириктирувчи тўқима, пўстлоқ ва мия моддаси майдонлари, шунингдек буйрак усти бези пўстлоқ қаватининг коптокчали, тутамли ва тўрли соҳалари майдонлари аниқланди.

Эндокрин безларда ҳужайралар пролиферация даражаси ва апоптоз миқдорини баҳолаш учун иммуногистокимёвий усулдан фойдаланилди. Пролиферацияланувчи ҳужайраларнинг маркер субстратлари Ki-67 га нисбатан моноклонал қуён антитаналари, апоптоз ҳужайралари эса cas-3 ва p-53га нисбатан моноклонал қуён антитаналари (Thermo Scientific, USA) ёрдамида аниқланди. Пролиферацияланувчи ва апоптоз ҳужайраларни аниқлаш қалқонсимон без ва буйрак усти безидан олинган парафинли кесмаларда UltraVision (Thermo Scientific, USA) комплекси ёрдамида бажарилди. Кесмалар метилен кўки ёки нейтрал қизил билан бўялди. Кейин пролиферация ва апоптоз индекслари 1000та қалқонсимон без ҳужайралари (тироцитлар)да, ҳамда 1000та буйрак усти бези пўстлоқ қавати ҳужайралари (кортикостероцитлар)да санаб чиқилди ва промилларда ифодаланди.

Гипофиз, қалқонсимон без ва буйрак усти бези пўстлоғидаги маркер гормонларни аниқлаш ҳайвонлар қон зардобида бажарилди. Ҳайвонлар жонсизлантирилгандан кейин қон қуруқ стерил пробиркаларга солинди ва олинган қон зардобидан гормонлар концентрациясини аниқлашда фойдаланилди. Қон зардобида тироксин (T_4), трийодтиронин (T_3), кортизол (Кор),

тиротроп (ТТГ) ва адренокортикотроп гормон (АКТГ) иммуноферментаҳлил усули ёрдамида «Human» (Germany) компаниясининг махсус тўплами ва «Singl» (Germany) спектрофотометридан фойдаланиб аниқланди. Тироксин (T_4), трийодтиронин (T_3) ва кортизол нг/мл да, тиреотроп (ТТГ) ва адренокортикотроп гормон (АКТГ) эса МЕ/л да ифодаланди.

Барча рақамли маълумотларга вариацион статистика усулида ишлов берилди. Ҳисоб-китоб ва статистик таҳлил Window`s дастурий статистик пакетидан фойдаланган ҳолда ўтказилди. Барча маълумотлар ўртача ± стандарт оғиш (SD) сифатида келтирилди. Назорат ва тажриба гуруҳлари ўртасидаги статистик фарқ Стьюдент тестидан фойдаланган ҳолда таққосланди ва фарқлар $P<0,05$ да ишончли деб топилди.

Диссертациянинг «**Авлод гипофизар-тироид тизими ўсиши ва ривожланишига пестицидлар сурункали таъсири самараси**» деб номланган тўртинчи бобида пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврларидаги таъсири шароитида туғилган авлод гипофизар-тироид тизимини морфологик, ультраструктуравий, морфометрик, иммунгистокимёвий ва функционал текширувлари натижалари баён этилган. Натижалар авлоднинг гипофизар-тироид тизими туғилиш давригача етарлича шаклланганлигини кўрсатди. Туғилгандан кейинги 3-кунда назорат гуруҳи каламушларида ҳам, тажриба гуруҳлари каламушларида ҳам гипофизнинг олди, ўрта ва орқа бўлаклари аниқ чегараланди. Олдинги бўлакда хромофоб ҳужайралар устунлик қилди, улар орасида оксифил ва базофил ҳужайралар кузатилди. Постнатал давр динамикасида гипофиз ўлчамларининг катталашуви содир бўлди. Базофил ва оксифил ҳужайралар сони мунтазам равишда ортиб борди, ҳужайраларнинг тиротропоцитлар, гонадотропоцитлар, соматотропоцитлар, кортикотропоцитлар ва лактотропоцитларга дифференциалланиши кузатилди. Шундай бўлсада, ёруғлик ва электрон микроскопия даражасида назорат ва тажриба гуруҳларидаги авлод гипофизи постнатал давр динамикасида сезиларли ўзгаришлар аниқланмади. Кўпроқ маълумот берувчи натижалар гипофизар-тироид-адренал тизимни бошқаришда иштирок этувчи гипофизнинг олди бўлагида ишланувчи тиротроп (ТТГ) ва адренокортикотроп (АКТГ) гормонларини ўрганишда олинди.

Чақалоқларда қалқонсимон без етарлича шаклланган ва юпқа бўйинча билан бириккан иккита бўлакдан иборат. Туғилгандан кейинги 1-3 кунда без юпқа бириктирувчи тўқимали капсула билан ўралган бўлади. Баъзида кесмаларда иккала без учун умумий бўлган, ягона капсула билан ўралган бир жуфт қалқонсимон олди безини кўриш мумкин. Қалқонсимон без паренхимаси турли ўлчамдаги шаклланган фолликуллардан иборат. Без периферияси бўйлаб фолликуллар анча йирик, турли миқдордаги коллоид модда тутади. Без марказида асосан майда, энди шаклланаётган фолликуллар ва фолликуллараро эпителиал оролчалар аниқланди. Қалқонсимон безга хос бўлган бундай морфологик манзара назорат гуруҳидаги каламушлар учун ҳам, тажриба гуруҳидаги каламушлар учун ҳам хос бўлди. Қалқонсимон без ўсиши ва шаклланишининг кейинги динамикаси тажрибадаги ҳайвонларнинг барча

гуруҳлари учун бир хил характерга эга бўлди. Бу без ўлчамининг умуман катталашуви, ўртача ва йирик фолликуллар сонининг ортиши, фолликуллараро эпителиал оролчаларнинг сони ва ўлчамининг камайишида намоён бўлди. Туғилгандан кейинги 21 ва 30 кунда қалқонсимон без тўлиқ шаклланганлиги аниқланди. Без паренхимаси асосан майда, ўртача ва йирик ўлчамдаги фолликуллардан иборат фолликуляр комплекслардан тузилган. Бунда йирик ва ўртача фолликуллар қалқонсимон безнинг асосан периферияси бўйлаб, орган марказида эса асосан майда фолликуллар ва фолликуллараро оролчалар кузатилди.

Шундай қилиб, туғилгандан кейин қалқонсимон безнинг ўсиши ва шаклланишининг динамикаси назорат ва тажриба гуруҳларидаги авлод учун бир хил характерга эга бўлди. Аммо морфометрик тадқиқотлар пестицидлар таъсири шароитида туғилган авлодда қалқонсимон безнинг ўсиш ва шаклланиш динамикасида у ёки бу бузилишлар мавжудлигидан далолат берувчи маълумотлар олиш имконини берди. ЛСТ таъсирида фолликуллар эпителийси умумий майдонининг ўсиш суръати 10-17% га, ФПН таъсирида эса–15-30% га назорат гуруҳи кўрсаткичларидан ортда қолганлиги аниқланди (P_1, P_2<0,05). Коллоид эгаллаган майдон мос равишда 15-25% ва 20-40% га камайганлиги, ва аксинча, фолликуллараро эпителиал оролчаларнинг умумий майдони кўрсаткичлари ЛСТ таъсирида 15-45% га, ФПН таъсирида эса –20-60% га назорат гуруҳидан юқорилиги аниқланди (P_1, P_2<0,05). Маълумки, фолликуллараро эпителиал оролчалар органнинг камбиал соҳаси саналади, фолликулларнинг янгиланиши ушбу соҳа ҳисобига содир бўлади. Тажрибадаги каламушларда ушбу соҳа майдонининг катталашуви, шубҳасиз, янги фолликуллар шаклланиши суръатининг сусайиши натижаси ҳисобланади. Қалқонсимон безнинг структур-функционал бирлиги–фолликулларнинг ўсиш ва шаклланиш суръатларининг сусайиши ламбда-цигалотрин таъсирига нисбатан фипронил таъсирида яққол ифодаланган. Аммо, пестицидларнинг салбий таъсири янги фолликуллар ҳосил бўлишининг сусайиши билангина чегараланмайди. Пестицидлар таъсири фолликул ва тироцит эпителийси майдонларининг кичиклашуви ҳисобига фолликуллар умумий майдонининг камайишига олиб келиши аниқланди. Тироцит баландлиги ва ўртача майдонининг ўсиш суръатлари ЛСТ таъсирида 10-20% га, ФПН таъсирида эса – 15-30% га назорат гуруҳи кўрсаткичларидан орқада қолиши топилди (P_1, P_2<0,05).

Шундай қилиб, морфометрик тадқиқотлар она организми орқали пестицидларнинг таъсир этиши постнатал онтогенезда авлодда қалқонсимон безнинг ўсиш ва шаклланиш суръатларини сезиларли даражада сусайтиришини яққол кўрсатиб берди. Айниқса, тадқиқотнинг барча муддатларида тироцитларнинг паст солиштирма кўрсаткичларини қайд этиш лозим, чунки бу кўрсаткичлар ҳужайраларнинг секретор фаоллиги сусайишидан далолат беради. Морфометрик маълумотлар электрон-микроскопик текширувлар натижаларида ўзининг тўлиқ тасдиғини топди.

Назорат гуруҳи каламушларида қалқонсимон без фолликулларини электрон-микроскопик тузилиши текширувнинг барча муддатларида бир хил

характерга эга бўлди. Назорат гуруҳидаги ҳайвонларда тироцитлар секретор циклнинг турли босқичларида бўлди ва уларга синтетик ва лизосомал аппаратлардаги юқори фаолликнинг ултраструктуравий белгилари хос бўлди. Алоҳида тироцитлар цитоплазмасида кўп миқдордаги цистерналаридан иборат донадор эндоплазматик тўр (ДЭТ)нинг мавжудлиги аниқланди. Айрим ҳужайраларда ДЭТ профиллари кенгайганлиги кузатилди. Ҳужайралар ядролари марказда ёки тироцитнинг базал қисмига томон бир оз силжиган ҳолда жойлашди. Ҳужайраларнинг апикал юзаси кам сонли қисқа микроворсинкалар кузатилди. Апикал плазмалемма остида 0,2–0,4 мкм ўлчамли лизосомалар жойлашган бўлиб, уларнинг сони тироцитнинг секретор циклига боғлиқ равишда ўзгариб турди. Тажриба ўтказилган ҳайвонлар авлоди қалқонсимон безини электрон-микроскопик текширувлари тироцитлар секретор циклининг у ёки бу фазасидаги бузилишлардан далолат берувчи муайян субмикроскопик ўзгаришлар мавжудлигини кўрсатди. Фолликуллар деворида ДЭТ профилларининг ҳаддан зиёд кенгайиши ва ички суюқлик зичлигининг камайиши кўринишидаги яққол бузилиш белгиларига эга ҳужайралар топилди. Алоҳида тироцитлар цитоплазмаси оқиш гигант вакуол кўринишига эга бўлиши, уларнинг ядро ва кам сонли органеллалари ҳужайра периферияси сиқилган ҳолда жойлашиши кузатилди. Кўпинча митохондриялари яққол шишган тироцитлар учраб, митохондрия матрик-сининг ва кристаларнинг емирилиши (лизиси) кузатилди. Баъзида айрим тироцитларда турли ўлчамлардаги кам сонли липид томчиларининг пайдо бўлиши қайд этилди, бу томчилар назорат гуруҳидаги ҳайвонларда деярли кузатилмади. Ва ниҳоят, назорат гуруҳидагига нисбатан тажриба гуруҳидаги ҳайвонларда апоптоз ва цитоплазматик органеллалар деструкцияси белгилари яққол ифодаланган тироцитлар кўпроқ аниқланди.

Одатда, физиологик шароитларда тироцитларга тиреоглобулин синтезига масъул яхши ривожланган органеллалар мавжудлиги хос ҳисобланади. Энг аввало, бу назорат гуруҳидаги ҳайвонлар тироцитларида етарлича кучли ривожланган ДЭТ структураларига тегишлидир. Аммо, ДЭТ цистерналарининг ҳаддан зиёд кенгайиши ва дезорганизацияланиши, улар ички таркиби зичлигининг камайиши фақатгина тажриба гуруҳидаги каламушлар авлодида аниқланган. Токсик таъсирда тироцитлардаги бундай ултраструктуравий ўзгаришлар бир қатор тадқиқотчилар томонидан баён этилган ва бу тиреоглобулин синтезининг ва унинг фолликуллар бўшлиғига ташилишининг бузилиши белгиси сифатида изоҳланган (Юкина Г.Ю. ва бошқалар, 2004). Шубҳасиз, биз аниқлаган субмикроскопик ўзгаришларни ҳам тироцитларда синтетик ва секретор фаолиятларнинг бузилиш кўрсаткичлари деб ҳисоблаш мумкин.

Олинган морфометрик натижалар пестицидларнинг она организми орқали таъсири авлодда қалқонсимон безнинг асосий структур-функционал бирлиги–секретор фолликулларнинг постнатал ўсиши ва шаклланиши суръатларини сусайишини келтириб чиқаришини кўрсатди. Келтирилган натижалар асосида хулоса қилиш мумкинки, пестицидлар таъсири шароитида туғилган авлоднинг қалқонсимон без тироцитларида дифференцияланиш

жараёнининг чуқур бузилиши содир бўлади. Тиреоглобулин синтези, ташилиши ва парчаланишига масъул органеллаларда деструктив субмикроскопик ўзгаришлар бундан далолат беради. Буларнинг барчаси пировард натижада ўсиб келаётган авлодда қалқонсимон без дисфункцияси ва алмашинув жараёнларининг бузилишига олиб келади.

Ҳужайранинг дастурий ўлими (ҲДЎ) ёки апоптоз организм учун ҳужайралар пролиферациясини назорат қилиш ва тўқималар гомеостазини сақлаб туришда ҳал қилувчи аҳамиятга эга механизм ҳисобланади (Goldar S. et al., 2015; Lin H.Y. et al., 2015). Физиологик шароитларда апоптоз ва ҳужайралар пролиферацияси жараёнлари ўртасида муайян мувозанат мавжуд бўлиб, бу мувозанат тўқима гомеостазини бир мейёрда тутиб туриш имконини беради. Ўсиб келаётган организмда пролиферация даражаси одатда юқори, апоптоз даражаси эса паст бўлади. Бу орган ва тўқималарнинг постнатал онтогенезда физиологик ўсиши ва шаклланишини таъминлайди. Тадқиқотларимизда она организми орқали пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврларда таъсир этиши авлодда постнатал онтогенез динамикасида қалқонсимон безнинг ўсиши ва шаклланишининг бузилишига олиб келиши кўрсатиб берилди. Савол пайдо бўлади – бу бузилишлар механизми асосида нима ётади ва бунда ҳужайралар пролиферацияси ва апоптоз жараёнларининг ҳолати қандай бўлади? Буни аниқлаш мақсадида пролиферация ва апоптоз маркерларига юқори сезгирликка эга бўлган моноклонал антитаналарни қўллаган ҳолда иммунгистокимёвий усулдан фойдаланилди. Натижаларни миқдорий ҳисоблаш пестицидлар таъсирида пролиферация индекси назорат гуруҳига нисбатан тажриба гуруҳларида анчагина пасайганини кўрсатди (1-жадвал).

1-жадвал

Постнатал ривожланиш динамикасида қалқонсимон без ҳужайралари пролиферацияси индекси (промилларда)

Туғилгандан кейинги кунлар	Назорат	Цигалотрин	Фипронил
7 кун	17,5±1,2	11,4±1,1**	10,2±0,9***
14 кун	15,2±,3	10,7±0,8***	9,3±0,9***
21 кун	13,3±1,1	9,6±0,9*	7,3±0,5***
30 кун	9,5±0,8	8,3±0,7	7,8±0,6

Изоҳ: * - фарқлар назорат гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан ишончли
(* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001)

Қалқонсимон без ҳужайралари пролиферативфаоллигининг камайиши иккала тажриба гуруҳида ҳам постнатал даврнинг 7-21 кунларида яққол ифодаланди. Кузатувнинг бу муддатларида пролиферация индекси фипронил таъсирида назорат гуруҳидагига нисбатан 40-45%га пасаяди, ламбда-цигалотрин таъсирида эса 28-30% га камаяди (P_1, P_2<0,05).

Туғилгандан кейинги 30-кунда ҳужайралар пролиферативфаоллигининг умумий пасайиши фонида пролиферация индексининг камайиши назорат гуруҳига нисбатан ламбда-цигалотрин таъсирида 13% ни, фипронил таъсирида – 18% ни ташкил этади (P_1, P_2<0,05).

Буларнинг барчаси пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврларда таъсир этиши шароитида қалқонсимон без ҳужайралари пролиферациясининг сезиларли пасайишини кўрсатади. Пролиферациянинг энг яққол ифодаланган ва асосли пасайиши ламбда-цигалотрин таъсирига қараганда, фипронил таъсирида кўпроқ қайд этилган. Апоптоз жараёнини ўрганишда эса бир оз бошқачароқ натижалар олинди (2-жадвал). Жадвалда кўринганидек, кузатувнинг барча муддатларида апоптоз индекси тажриба гуруҳлари ҳайвонларида назорат гуруҳидагига нисбатан сезиларли даражада юқори бўлди. Апоптоз индексининг энг кўп ортиши туғилгандан кейинги 14-21 кунларда кузатилди, бунда тажриба гуруҳидаги ҳайвонларда апоптоз индекси назорат гуруҳидагига нисбатан 3,2-4,3 марта юқори бўлди. Шу билан бирга, ҳужайралар апоптозининг кучайиши цигалотрин таъсирига қараганда, фипронил таъсирида юқори даражада намоён бўлди.

2-жадвал

Постнатал ривожланиш динамикасида қалқонсимон без ҳужайраларида апоптоз индекси (промилларда)

Туғилгандан кейинги кунлар	Назорат	Цигалотрин	Фипронил
7 кун	0,06±0,002	0,7±0,03***	0,9±0,05***
14 кун	0,09±0,003	1,2±0,15***	1,8±0,20***
21 кун	0,48±0,07	1,6±0,25***	2,3±0,75*
30 кун	0,75±0,09	2,9±0,83*	3,8±0,87**

Изоҳ: * - фарқлар назорат гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан ишончли (* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001)

Шундай қилиб, ҳомиладорлик ва илк постнатал даврларда замонавий пестицидларнинг ҳаттоки кичик дозалардаги таъсири ҳам гипофизар-тироид тизимга салбий таъсир кўрсатади. Бу таъсир самараси қалқонсимон безнинг ўсиши ва шаклланиши суръатларининг сусайиши, қалқонсимон без секретор фолликулларининг шаклланиши ва фаолиятининг пасайишида намоён бўлади. Орган ўсиш суръатларининг сусайиши асосини пролиферация ва апоптоз жараёнлари ўртасидаги мувозанатнинг бузилиши ташкил этади, бу дисбаланс ламбда-цигалотринга қараганда, фипронил таъсирида яққолроқ ифодаланади. Биз юқорида қайд этилган ўзгаришларни пестицидлар таъсири шароитида қалқонсимон без постнатал онтогенезида юзага келувчи дисфункциянинг морфологик субстратини ташкил этади, деб ҳисоблаймиз.

Табиийки, «бу ўзгаришлар қалқонсимон без функциясида қандай акс этади?»- деган савол бизни қизиқтирди. Авлодда қалқонсимон безнинг ўсиши ва шаклланиши суръатларининг сусайиши билан онадаги ушбу орган ҳолати ўртасида ўзаро боғлиқлик мавжудми? Ушбу саволларга жавоб топиш учун пестицидлар таъсири шароитида она каламушларда ва улардан туғилган авлодда динамикада гипофизнинг олд бўлаги ва қалқонсимон бездаги маркер гормонлар концентрацияси ўрганилди. Урғочи каламушлар ва улардан олинган авлодда қалқонсимон без функцияси ҳолатини ўрганиш натижалари

қуйидагиларни кўрсатди.

1-расм. Ҳомиладорлик ва эмизикли даврлар динамикасида урғочи каламушларда тироксин (T_4) миқдори,нг/мл да.(ГК– гестация кунлари, ЛК -лактация кунлари)

Уруғланишга қадар 30 кун мобайнида ЛСТ ва ФПН юборилган, туғмаган урғочи каламушларда T_4 ва T_3 концентрацияси бир оз камайди. Ҳомиладорлик ривожланиши баробарида тажриба гуруҳидаги урғочи каламушларда яққол ифодаланган гипотиреоз ривожланди (1-расм).

Ҳомиладорликнинг 14 ва 21кунида T_4 ва T_3 концентрацияси назорат гуруҳига нисбатан ишончли равишда анча паст бўлди. Яққол ифодаланган гипотиреоз тажриба гуруҳи каламушларида ҳомиладорликнинг 21 кунида, шунингдек эмизикли даврнинг 14 кунида қайд этилди, бунда T_4 ва T_3 концентрацияси назорат гуруҳига нисбатан 1,3 – 1,5 марта камайди. Шу билан бирга тажриба ўтказилаётган каламушларнинг иккала гуруҳида ҳам ТТГ концентрацияси ҳомиладорлик ва эмизиш жараёнларида жадал ошганлиги аниқланди.

2-расм. Постнатал ривожланиш динамикасида каламушлар авлодида тироксин (T_4) миқдори, нг/мл да. Изоҳ: ПНД – постнатал кунлар

ЛСТ ва ФПН нинг ҳомиладорлик ва эмизиклик даврлардаги таъсири авлодда қалқонсимон без функциясининг сезиларли бузилишига олиб келди. Тажриба ўтказилаётган каламушлардан туғилган авлодда T_4 ва T_3 концентрацияси текширишнинг барча муддатларида назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан анча паст бўлди (2-расм)**.** ТТГ концентрациясини аниқлаш текширувнинг барча муддатларида ушбу гормоннинг жадал ошганлигини кўрсатди.

Олинган натижалар асосида хулоса қилиш мумкинки, кичик дозадаги пестицидларнинг узоқ муддат таъсир этиши ҳомиладор каламушлар ва уларнинг авлодида қалқонсимон без фаолиятининг бузилишига олиб келади.

Диссертациянинг «**Авлод гипофизар-адренал тизими ўсиши ва ривожланишига пестицидларнинг сурункали таъсир этиш самараси»** деб номланган бешинчи бобида пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврлардаги таъсири шароитида олинган авлодда гипофизар-адренал тизимни морфологик, ултраструктуравий, морфометрик, иммуногистокимёвий ва функционал текшириш натижалари баён этилган. Назорат гуруҳидаги каламушларда буйрак усти бези туғилгандан кейинги 3 кунда етарлича ривожланганлиги, юпқа бириктирувчи тўқимали капсула билан ўралганлиги аниқланди. Буйрак усти безининг пўстлоғи ва мия моддаси аниқ фарқланади. Без пўстлоқ қаватининг паренхимаси етарлича шаклланмаган коптокчали, тутамли ва тўрсимон соҳалардан ташкил топган. Коптокчали соҳа ва унга жипс туташган камбиал соҳа яхши ривожланган. Тўрсимон соҳа қийинчилик билан фарқланади.

Буйрак усти безининг ўсиши ва шаклланишининг кейинги динамикаси тажриба ўтказилган ҳайвонларнинг барча гуруҳларида бир хил бўлди. Бу динамика без умумий ўлчамларининг, ҳамда тутамли ва тўрсимон соҳа ўлчамларининг катталашувида намоён бўлди.Тажриба гуруҳларидаги ҳайвонларда буйрак усти бези пўстлоғи структур соҳаларининг шаклланиши ва ҳужайраларининг дифференцировкаси назорат гуруҳидагига қараганда, анча секин кечди. Бунда 14 кунга келиб коптокчали соҳагина нисбатан аниқ чегараланди, тутамли ва тўрсимон соҳалар эса аниқ чегараларга эга бўлмади. Фақат 21-30 кунга келиб тажриба гуруҳидаги ҳайвонларда пўстлоқнинг уччала соҳасини ҳам фарқлаш мумкин бўлди. Морфометрик текширувлар пестицидларнинг ҳомиладорлик ва илк постнатал даврлардаги таъсири шароитида олинган авлодда буйрак усти бези пўстлоқ қавати хўжайраларининг ўсиши маълум даражада бузилганлигини кўрсатди. ЛСТ таъсирида пўстлоқ модда умумий майдонининг ўсиш суръати 15-30% га, ФПН таъсирида эса–23-40% га назорат гуруҳи кўрсаткичларидан ортда қолганлиги аниқланди (P_1, P_2<0,05). Пўстлоқ модда майдони ўсиш суръати пасайиши асосан тутамли ва коптокчали соҳалар ўсишининг ортда қолиши ҳисобига юзага келди. Шундай қилиб, она организми орқали берилган пестицидлар, авлодда буйрак усти бези пўстлоқ қавати соҳаларининг ўсиш ва шаклланиш суръатлари сезиларли даражада пасайишига олиб келди.

Иммуногистокимёвий тадқиқотлар буйрак усти бези пўстлоқ қавати структур соҳаларининг шаклланиш суръати пасайиши улардаги ҳужайраларнинг пролиферацияси ва апоптози орасидаги мутаносиблик бузилиши (дисбаланс) натижасида юзага келишини кўрсатди. Буйрак усти бези пўстлоқ қавати ҳужайралари пролиферативфаоллигининг камайиши иккала тажриба гуруҳида ҳам постнатал даврнинг 7-21 кунларида яққол ифодаланди. Кузатувнинг бу муддатларида пролиферация индекси ФПН таъсирида назорат гуруҳидагига нисбатан 24-28% га пасаяди, ламбда-цигалотрин таъсирида эса 10-13% га камаяди (P_1, P_2<0,05). Шу билан бирга тажриба гуруҳ ҳайвонларида ҳужайра апоптози кўрсаткичининг ошиб кетиши кузатилди. Апоптоз индекси постнатал даврнинг 14-21 кунларида ЛСТ таъсирида назорат гуруҳига нисбатан 3,7-5,4 баробар, ФПН таъсирида эса 6,4-10,3 баробар ошиб кетганлиги кузатилди.

Тутамли соҳа ҳужайраларини электрон-микроскопик текширишлар бу муддатларда ҳужайралар дифференцировкаси суръатининг сезиларли даражада пасайишини кўрсатди. Ушбу соҳа ҳужайраларига яққол ифодаланган ултраструктуравий гетерогенлик хос бўлди. Таркибида кичкина ядрочалар ва йирик ядрога эга ҳужайралар билан бир қаторда ўртача ўлчамдаги зич ядроли ҳужайралар ҳам кузатилди. Ўзига хос цистерналарга ва везикуляр структураларга эга ривожланган Гольджи комплекси битта-иккита ҳужайрадагина аниқланди. Аксарият ҳужайралар таркибида кам миқдордаги липидли аралашмалар сақланди, бу митохондрийлар сони ва ўлчамларининг яққол камайиши, шунингдек силлиқ эндоплазматик тўр профиллари редукцияси билан бирга кечди. Кўпгина ҳужайраларда цитоплазма бўйлаб бир текис тарқалган йирик оқиш вакуоллар аниқланди. Буларнинг барчаси тутамли соҳа ҳужайралари дифференциясининг сусайиши билан бир қаторда уларда юқори функционал зўриқиш ҳам муҳим ўрин эгаллашини кўрсатди. Шубҳасиз, бу ҳужайраларнинг стресс омилларига бўлган жавоб реакцияси билан боғлиқдир. Пестицидлар таъсири эса айнаншундай стресс омиллар сирасига киради, бу фикр гормонал тадқиқотлар натижалари билан тасдиқланди. Тажрибадаги урғочи каламушларда ҳам, улардан туғилган авлодда ҳам кортизол концентрацияси ортиб кетиши кузатилди, бу эса барча ҳолларда адренокортикотроп гормони (АКТГ) концентрациясининг ошиб кетиши билан бирга кечди. Маълумки, кортизол миқдорининг ошиб кетиши турли хил стрессга, жумладан, заҳар таъсири сабаблиюзага келган стрессга нисбатан универсал жавоб реакцияси ҳисобланади (Harvey P.W., 2010). Бу реакция авлодда гипофизнинг адренокортикотроп гормони (АКТГ) ишлаб чиқарилишининг ортиши ва буйрак усти бези пўстлоқ қавати ҳужайраларининг функционал зўриқиши сабабли юзага келади. Қалқонсимон безда ҳам, буйрак усти бези пўстлоқ моддасида ҳам пролиферация ва апоптоз жараёнлари ўртасида мувозанатнинг бузилиши аниқланди, бу пролиферация жараёни пасайган бир пайтда апоптознинг кучайишида ифодаланди.

Шундай қилиб, ўтказилган тадқиқотлар она организми орқали кичик дозаларда берилган пестицидларни илк постнатал даврда авлоднинг эндокрин тизими шаклланишига таъсирининг структур-функционал

механизмларини очиб бериш имкониятини яратди. Олинган натижалар асосида пестицидларнинг она ва авлод организмига таъсир патогенезининг асосий босқичларини акс эттирувчи оригинал схема барпо этилди (3-расм).

3-расм. Она организми орқали ҳомиладорлик ва эмизиклик даврларда кичик дозадаги пестицидларнинг сурункали таъсир этиши туфайли авлодда келиб чиққан эндокрин-бузувчи эффект патогенезининг схематик кўриниши

Схемада келтирилганидек, она организмига тушган пестицидлар авлод эндокрин тизимининг шаклланишига бевосита токсик таъсир кўрсатиши, ҳамда қалқонсимон ва буйрак усти безлари фаолиятининг бузилиши (дисфункцияси) орқали билвосита салбий таъсир кўрсатиши мумкин. Бу таъсирлар авлодда эндокрин тизим ривожланишининг бузилишига ва оқибат натижада унда иккиламчи гипотиреоз келиб чиқишига, ҳамда стресс омилларининг пайдо бўлишига олиб келади. Ушбу самаралар ўз навбатида ҳужайралар пролиферацияси ва апоптози орасидаги номутаносибликка (дисбалансга), авлодда эндокрин аъзоларининг ўсиш ва шаклланиш суръатлари пасайишига ва ниҳоят, авлодда гормонал гомеостазнинг бузилишига сабаб бўлади. Авлодда ривожланадиган гормонал дисбаланс эса организмда бошқа тўқима ва аъзолар тараққиётининг фавқулодда ўзгаришларига ва кутилмаган салбий оқибатларга олиб келиши мумкин.

ХУЛОСА

«Она организмига пестицидлар сурункали таъсири шароитида туғилган авлодда гипофизар-тироид-адренал тизимнинг постнатал такомили» мавзусидаги докторлик диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Она организмига, ҳомиладорлик ва эмизиклик даврларида пестицидларнинг сурункали таъсир этиши авлодда илк постнатал даврда «эндокрин – бузувчи» эффектга олиб келади.

2. Морфологик, морфометрик ва ультраструктуравий тадқиқотлар пестицидлар таъсири шароитида туғилган авлоднинг гипофизар-тироид тизимида рўй берадиган бузилишларнинг структур механизмларини аниқлаш имконини берди:

- қалқонсимон без фолликулларининг ўсиш ва шаклланиш суръатининг сусайиши аниқланди;

- тироцитлар органелларида секретор фаолиятнинг пасайишидан далолат берувчи субмикроскопик ўзгаришлар қайд этилди;

3. Иммуногистокимёвий тадқиқотлар пестицидлар таъсири шароитида қалқонсимон без ҳужайраларида пролиферация ва апоптоз жараёнлари орасидаги мувозанат бузилганлигини(дисбаланс) аниқлаб берди;

- апоптоз индексининг ишончли даражада ортиши ва бир вақтнинг ўзида пролиферация кўрсаткичларининг пасайиши кузатилди;

-ҳужайралар пролиферация фаоллигининг пасайиши, апоптознинг эса кучайиши қалқонсимон без фолликулларининг ўсиши ва шаклланиши суръатининг сусайиш механизмларидан бири ҳисобланади;

- қалқонсимон без ҳужайраларидаги апоптоз жараёнининг кучайиши, биринчи навбатда, пестицидлар таъсирида келиб чиқадиган гипотиреоз ва оксидловчи стресс омиллари сабабли юзага келади;

4. Она организмига, ҳомиладорлик ва эмизиклик даврларида пестицидларнинг сурункали таъсир этиши она ва авлоднинг гипофизар-тироид тизимида функционал ўзгаришлар пайдо бўлишига олиб келди:

- яққол ифодаланган гипотиреоз тажриба учун олинган урғочи каламушларда ҳомиладорликнинг 21 кунида, ҳамда эмизишнинг 14 кунида намоён бўлди, бунда T_4 ва T_3 концентрацияси назорат гуруҳидаги кўрсаткичга нисбатан 1,3 – 1,5 марта камайди;

- T_4 ва T_3 гормонларининг ишончли даражада пасайиши билан кечадиган яққол ифодаланувчи неонатал гипотиреоз авлодда барча кузатув муддатларида кузатилди ва унинг максимал кўрсаткичлари постнатал даврнинг 21 кунида қайд этилди;

- она ва авлодда T_4 ва T_3 миқдорининг камайиши гипофизнинг тиротроп гормони(ТТГ) концентрациясининг мос равишда ортиши билан кечди;

- авлодда тироид дисфункцияси ривожланиш механизмида тироцитлар пролиферацияси ва апоптози жараёнлари ўртасидаги дисбаланс, ва натижада қалқонсимон без фолликуллари шаклланишининг сусайиши, ҳамда тироцит-

лар секретор фаоллигининг бузилишидан далолат берувчи субмикроскопик ўзгаришлар муҳим роль ўйнайди.

5. Морфологик, морфометрик ва ултраструктуравий тадқиқотлар пестицидлар таъсири шароитида туғилган авлоднинг гипофизар-адренал-тизимида рўй берадиган бузилишларнинг структуравий механизмларини аниқлаш имконини берди:

- буйрак усти бези пўстлоқ моддасининг структур-функционал соҳалари, айниқса, тутамли ва тўрсимон соҳаларида ўсиш ва шаклланиш суръатларининг сусайиши аниқланди;

- тутамли соҳа ҳужайраларида стероидогенезнинг функционал зўриқишидан далолат берувчи субмикроскопик ўзгаришлар топилди.

6. Пестицидлар таъсири шароитида буйрак усти бези пўстлоқ қавати ҳужайраларида пролиферация ва апоптоз жараёнлари орасидаги мувозанат бузилганлиги(дисбаланс) аниқланди:

- апоптоз индексининг ишончли даражада ортиши ва бир вақтнинг ўзида пролиферация кўрсаткичларининг пасайиши кузатилди;

-ҳужайралар пролиферация фаоллигининг пасайиши, апоптознинг эса кучайиши буйрак усти бези пўстлоғининг ўсиши ва шаклланиши суръатининг сусайишига олиб келди;

7. Она организмига, ҳомиладорлик ва эмизиклик даврларда пестицидларнинг сурункали таъсир этиши она ва авлоднинг гипофизар-адренал тизимида функционал ўзгаришлар пайдо бўлишига олиб келади:

- кузатувнинг барча муддатларида она ва авлодда кортизол концентрациясининг сезиларли ортиши аниқланган, бунда урғочи каламушларда ушбу гормоннинг максимал ортиши ҳомиладорликнинг 21-кунида, авлодда эса постнатал даврнинг 21 кунида қайд этилди;

- барча ҳайвонларда кортизол концентрациясининг ортиши гипофизнинг адренокортикотроп гормони (АКТГ) концентрацияси юқорилиги билан бирга кечди;

- кортизол миқдорининг ортиши заҳар таъсирига жавоб реакцияси сифатида изоҳланади ва бу реакция авлодда гипофизнинг адренокортикотроп гормони (АКТГ) ишлаб чиқарилишинингкучайиши ҳамда буйрак усти бези пўстлоқ қавати ҳужайраларининг функционал зўриқиши сабабли юзага келади.

8. Пестицидларнинг қиёсий таҳлили пиразоллар қаторига кирувчи фипронилнинг «эндокрин-бузувчи» заҳарли таъсири пиретроид пестицид бўлган ламбда-цигалотринга нисбатан анча кучлироқ ифодаланишини кўрсатди:

- шу билан бирга, турли пестицидлар таъсирида авлоднинг гипофизар-тироид-адренал тизимида кузатиладиган структуравий-функционал ўзгаришлар тубдан бир хил характерга эга бўлиб, фақат ифодаланиш даражаси билан фарқланади;

- бу эса турли синфларга мансуб пестицидлар таъсирида келиб чиқадиган эндокрин бузилишларни олдини олиш, эрта ташхислаш ва даволашнинг умумий усуллари самарадор бўлишини белгилаб беради.

НАУЧНЫЙ СОВЕТ 27.06.2017.Tib.30.03 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

ЗОКИРОВА НАРГИЗА БАХОДИРОВНА

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

14.00.02- Морфология

АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ (DSc) ДИССЕРТАЦИИ ПО МЕДИЦИНСКИМ НАУКАМ

ТАШКЕНТ – 2017

Тема докторской диссертации (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за № B2017.2.DSc/Tib142.

Докторская диссертация выполнена в Ташкентской медицинской академии (ТМА).

Автореферат диссертации на двух языках (узбекский и русский) размещён на веб-странице научного совета по адресу www.tma.uz и на информационно-образовательном портале «ZiyoNet» по адресу www. ziyonet.uz.

Научный консультант:	**Тухтаев Кадир Рахимович** доктор медицинских наук, профессор
Официальные оппоненты:	**Блинова Софья Анатольевна** доктор медицинских наук, профессор
	Исроилов Ражаббой доктор медицинских наук, профессор
	Мавлян-Ходжаев Равшан Шухратович доктор медицинских наук, профессор
Ведущая организация:	**Бухарский государственный медицинский институт**

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 года в ____ часов на заседании разового Научного совета 27.06.2017.Tib.30.03 при Ташкентской медицинской академии (Адрес: 100109, г. Ташкент, ул. Фароби, 2. Зал заседания 1-го учебного корпуса Ташкентской медицинской академии. Тел./Факс: (+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru.

С докторской диссертацией (DSc) можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрирована за №____). Адрес: 100109, г. Ташкент, ул. Фаробий, 2. Ташкентская медицинская академия, 2 учебный корпус «Б» крыло, 1 этаж, 7 кабинет. Тел./Факс: (+99871) 150-78-14.

Автореферат диссертации разослан «_____» _____2017 года.
(реестр протокола рассылки № ____ от «_____» _____2017 года).

Г. И. Шайхова
Председатель разового научного совета по присуждению учёных степеней, д.м.н., профессор

Н.Ж.Эрматов
Учёный секретарь разового научного совета по присуждению учёных степеней, д.м.н., доцент

У.М.Миршарапов
Председатель научного семинара при разовом научном совете по присуждению учёных степеней, д.м.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время охрана экологического здоровья населения является актуальной проблемой глобального масштаба. Преобладающую часть загрязнителей окружающей среды составляют пестициды, без использования которых невозможно перспективное развитие сельского хозяйства. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно в мире отравлению пестицидами подвергаются от 500 тысяч до 2 миллионов человек, причем у до 40 тысяч из них отравление завершается смертельным исходом[1]. В настоящее время запрещено или ограничено применение высокотоксичных фосфорорганических или хлорорганических пестицидов, которые замещаются пестицидами, производными пиретроидных, пиразоловыхи других классов. Их преимуществами считаются относительно низкая токсичность для организма животных и человека, высокая эффективность в отношении насекомых при воздействии в сравнительно малых дозах. Использование пестицидов для повышения урожайности в мировом масштабе обуславливает чрезвычайную актуальность проблемы разработки мер по профилактики отрицательных последствий их воздействия на организм человека и животных.

Во всем мире проводится ряд широкомасштабных исследовательских работ, направленных на разработку и совершенствование методов профилактики, ранней диагностики и лечения отрицательных воздействий пестицидов на потомство в условиях внутриутробного и раннего постнатального их воздействия через организм матери. В этом плане особую актуальность приобретают: вопросы раскрытия биологических механизмов развития токсического эффекта; разработка токсикологических тестов, позволяющих определить остаточные количества эндокрин-разрушающих пестицидов и их метаболитов; совершенствование способов определения пестицидов в воде, почве и воздухе в условиях жаркого климата и оценки степени их отрицательных воздействий; выявление механизмов эндокрин-разрушающего действия пестицидов на потомство и разработка способов ранней диагностики скрытых токсических эффектов. Тем не менее, многие вопросы, связанные с эндокрин-разрушающим действием малых доз современных пестицидов, через организм матери на организм плода и ребенка, до настоящего времени остаются недостаточно выясненными.

За годы независимости в нашей стране произошли коренные преобразования в системе здравоохранения, при этом особое внимание было обращено на раннюю диагностику и снижению негативных последствий заболеваний, возникающих через источники загрязнения окружающей среды. В этом плане выполнен ряд широкомасштабных программных мероприятий.

[1] Основные показатели здоровья по европейскому региону. ВОЗ. 2014 год.

В результате разработки мер по выявлению факторов риска у беременных и новорожденных, ранней диагностики и лечения за последние десять лет материнская смертность снизилась в 3,2 раза, а младенческая смертность – в 3,1 раза[2]. Однако, из-за недостаточной изученности механизмов эндокрин-разрушающего действия современных пестицидов на организм плода и ребенка, многие проблемы профилактики, ранней диагностики и снижения отрицательных последствий воздействия пестицидов все еще остаются нерешенными. Согласно стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017-2021 годах «совершенствование системы охраны здоровья граждан на основе повышения качества медицинских и медико-социальных услуг населению и формирования здорового образа жизни»[3], раскрытие механизмов воздействия пестицидов через материнский организм на гипофизарно-тироидно-адреналовую систему потомства, а также разработка на их основе мер профилактики, ранней диагностики и эффективного лечения остается одной из актуальных проблем медицины.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит решению задач, отраженных в Законах Республики Узбекистан «Об охране атмосферного воздуха», «Об охране здоровья граждан», «О качестве и безопасности продуктов питания», «О санитарно-эпидемиологической безопасности населения», в Постановлениях Президента Республики Узбекистан ПП № 1652 «О мерах по дальнейшему углублению реформ здравоохранения» от 28 ноября 2011 года, ПП № 2221 «О Государственной программе по охране здоровья матерей, детей и подростков в Узбекистане на период 2014-2018 годы» от 1 августа 2014 года, в «Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017-2021 годах» и в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Настоящая работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации[4].

Отрицательные эффекты воздействия пестицидов на организм человека чрезвычайно разнообразны, и во всем мире проводятся многочисленные научные изыскания для решения этой глобальной проблемы. Эти работы ведутся в ведущих мировых научных центрах и высших учебных заведениях, в том числе:National Institute of Environmental Health Sciences, University of Maryland, New York University, University of Illinois at Chicago, Colorado State

[2] Отчет министерства здравоохранения Республики Узбекистан.
[3] Стратегия действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017-2021 годах.
[4]Обзор зарубежных исследований по теме диссертации проведен на основании www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed; http://www.rsl.ru; http://www.biomedcentral.com и других сайтов.

University, University of Rochester, University of California, Harvard University, Emory University (США), University of Milan (Италия), Universitat de València (Испания), University of Turku (Финляндия), Ghent University (Бельгия), Imperial College London (Великобритания), University of Edinburgh (Англия), University of Pavia (Италия), University of Murcia (Испания), Pukong National University (Корея), Punjab Agricultural University (Индия), Российская академия наук, Байкалский национальный университет (Российская Федерация), НИИ санитарии, гигиены и профессиональных заболеваний, Ташкентская медицинская академия (Узбекистан), в рамках широкомасштабных научно-исследовательских проектов.

За последние годы, в результате исследований по выявлению и снижению негативных последствий воздействия пестицидовна организм человека и животных, получен ряд важных научных результатов, в том числе: разработаны современные методы для снижения частоты острого и хронического отравления пестицидами (University of Murcia); установлена безопасность применения 250 пестицидов (Colorado State University, University of Rochester Medical Center, University of California, Harvard University, Sinai Medical Center, Department of Environment and Health, Rollins School of Public Health at Emory University, США); разработаны современные методы для изучения токсического действия пестицидов, выявления нарушений метаболических процессов в организме (Baikal Institute of Nature Menagement Siberian branch of the Russian Akademy of sciences, Россия); раскрыты свойства загрязнителей окружающей среды по их передаче через генетические механизмы и увеличению восприимчивости к различным заболеваниям, посредством вызывания тех или иных эпигенетических нарушений (University of Milan, Италия,Universitat de València, Испания, University of Illinois at Chicago, США,University of Turku, Финляндия, Ghent University, Бельгия); обнаружено эндокрин-разрушающее действие у широко распространенных хлор- и фосфорорганических (ДДТ, хлорпирифос и др.) пестицидов,а также у более 100 широко распространенных пестицидов из класса пиразолов, неоникотиноидов, пиретроидов и карбаматов (Imperial College London, National Centrefor Environmental Toxicology, Великобритания; Bundesinstitutfür Risikobewertung, Federal Environment Agency, Германия; Centre Nationaldela Recherche Scientifique, Centrede Biophysique Moléculaire, Франция). Отрицательные эффекты эндокрин-разрушающих пестицидов чрезвычайно разнообразны и во многом еще недостаточно изучены. Разработкой данной глобальной проблемы занимаются ведущие научные центры и университеты различных стран мира, такие как: National Institute of Environmental Health Sciences, National Exposure Research Laboratory, University of California, New York University (США); Institute of Environmental Medicine (Южная Корея); China Medical University, Shenyang (Китай). В них установлены отдельные механизмы развития токсического эффекта, разработаны токсикологические тесты,

позволяющие определить остаточные количества эндокрин-разрушающих пестицидов и их метаболитов (National Centrefor Environmental Toxicology, Великобритания); показано, что сохранение даже ничтожно малых концентраций пестицидов в воде, почве и пищевых продуктах представляет серьезный риск для здоровья человека и животных (Centre Nationaldela Recherche Scientifique, Франция); разработаны способы определения пиретроидных пестицидов в воде, почве и воздухе в условиях жаркого климата и оценки степени их отрицательных воздействий; определены некоторые механизмы эндокрин-разрушающего действия пестицидов на потомство в условиях их внутриутробного и раннего постнатального воздействия через организм матери (НИИ санитарии, гигиены и профессиональных заболеваний, Ташкентская медицинская академия, Узбекистан).

В настоящее время в различных странах мира продолжаются научно-исследовательские работы по следующим приоритетным направлениям выявления токсических эффектов внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов, в том числе: по разработке способов профилактики эндокрин-разрушающего эффекта пестицидов в постнатальном периоде на основе изучения их механизмов; по определению концентрации маркерных гормонов передней доли гипофиза, щитовидной и надпочечных желез; по обоснованию морфологических механизмов токсического воздействия малых доз пестицидов в раннем постнатальном онтогенезе; по выявлению состояния процессов пролиферации и апоптоза клеток в органах и тканях потомства в условиях воздействия пестицидов через организм матери; по повышению качества жизни в различных слоях населения на основе формирования здорового образа жизни и совершенствования научно обоснованных методов профилактики, ранней диагностики и патогенетического лечения негативных последствий внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов.

Степень изученности проблемы. Исследования ученых из ближнего (Яглова Н. В., Яглов В. В., 2012) и дальнего зарубежья (Pine M. D. et al., 2008; Mnif W. et al., 2011; Gore A. C.et al., 2015) показали важное значение воздействия эндокрин-разрушающих современных пестицидов в патогенезе ожирения, атеросклероза, гипертонической и ишемической болезни. злокачественных новообразований, нарушений фертильности и других. Из них пиретроидные пестициды составляют примерно одну четверть всего мирового рынка инсектицидов и широко используются в сельском хозяйстве и общественном здравоохранении (Elhalwagy M. et al., 2015). Показано, что ряд пиретроидных пестицидов (ламбда-цигалотрин, дельтаметрин), обладает антиандрогенным действием, нарушая гормональную регуляцию репродуктивной функции (Du G. et al., 2010; Orton F., et al., 2011). Появились данные, что эндокрин-разрушающее действие ламбда-цигалотрина в значительной мере обусловлено его антагонизмом к глюкокортикоидным

рецепторам стероидных гормонов (Zhang J. et al., 2016). Эндокрин-разрушающее действие ламбда-цигалотрина на гипофизарно-тироидную ось недостаточно изучено и проявляется в основном в виде снижения уровня тиреоидных гормонов в крови (Saravanan R., et al., 2009; Tu W., et al., 2016). Другим, наиболее распространенным пестицидом из класса пиразолов, является фипронил. Он обладает высокой инсектицидной активностью при низких дозах и широко используется во всем мире (Bonmatin J. M. et al., 2015). Эндокрин-разрушающий эффект фипронила преимущественно проявляется в виде дисфункции щитовидной железы и в основном связан с токсическим действием его метаболитов (Leghait J. et al.,2009, 2010; Roques B. et al., 2012; Ensminger M. P. et al., 2013; Simon-Delso N. et al., 2015).

Эндокрин-разрушающее действие современных пестицидов в Республике Узбекистан изучено сравнительно мало. В работах профессора К.Р. Тухтаева (2012, 2014) показано влияние пестицидов на функциональное состояние щитовидной железы и коры надпочечных желез. Работы профессоров П.И. Ташходжаева (1993), Т.И. Искандарова (1999, 2002), Г.Т. Искандаровой (1998) и д.м.н. М.А. Хамракуловой (2016) посвящены токсикологическим и биохимическим изменениям при острых и хронических отравлениях пиретроидными пестицидами. Следует особо подчеркнуть, что подавляющее большинство исследований по изучению механизмов и последствий воздействия современных пестицидов на эндокринную систему проведено на половозрелых особях животных или у взрослых людей. Тем не менее, именно плодный и ранний постнатальный периоды являются наиболее критическими этапами жизни в плане развития тяжелых последствий воздействия пестицидов.

Изучение влияния широко распространенных современных пестицидов на рост и становление эндокринных желез позволило бы получить новые данные о патогенезе ряда заболеваний, обусловленных действием пестицидов во внутриутробном или раннем детском периоде жизни. К сожалению, данная проблема, представляющая несомненный научно-прикладной интерес, все еще остается нерешенной.

Связь диссертационной работы с планами научно-исследовательских работ учреждения, где проводятся исследования. Научные исследования по диссертационной работе проводились в Ташкентской медицинской академии в рамках темы: «Изучение морфологических основ адаптивных реакций органов иммунной, эндокринной, пищеварительной и выделительной системы в постнатальном онтогенезе при действии экотоксических факторов» (2013-2016 гг.).

Целью исследования явилось выявление структурно-функциональных особенностей раннего постнатального становления гипофизарно-тироидной и гипофизарно-адреналовой систем потомства, полученного в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери.

Поставленная цель исследования предопределила необходимость решения **следующих задач:**

изучить морфологические, морфометрические и ультраструктурные особенности щитовидной железы в динамике развития потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери;

иммуногистохимически оценить пролиферативную активность и степень апоптоза клеток в щитовидной железе потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери;

определить концентрацию маркерных гормонов передней доли гипофиза (ТТГ) и щитовидной железы (T_4, T_3) у матерей и в динамике развития потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери;

установить морфологические, морфометрические и ультраструктурные особенности коры надпочечников в динамике развития потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери;

оценить пролиферативную активность и степень апоптоза клеток в коре надпочечников потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери;

определить концентрацию маркерных гормонов передней доли гипофиза (АКТГ) и коры надпочечников (кортизол) у матерей и в динамике развития потомства в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери;

разработать концепцию патогенеза эндокрин-разрушающего эффекта действия малых доз пестицидов на потомство в условиях их внутриутробного и раннего постнатального воздействия через организм матери.

Объектом исследования явились белые половозрелые нерожавшие крысы самки Вистар массой тела 150-180 г, а также полученное от них потомство. Опытные группы крыс самок ежедневно, вплоть до окончания опытов, получали пестициды ламбда-цигалотрин (титан) из расчета 8 мг/кг, или фипронил (вигор) из расчета 3,6 мг/кг. Материал для исследований отпотомства всех групп животных получен на 3, 7, 14, 21 и 30 дни после рождения. Изучались гипофиз, щитовидная и надпочечная железа, а также сыворотка крови у матерей и в динамике у потомства.

Предмет исследования – комплексный анализ особенностей раннего постнатального становления гипофизарно-тироидной и гипофизарно-адреналовой систем потомства в условиях воздействия малых доз пестицидов через организм матери; структурно-функциональные механизмы токсического эффекта внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов.

Методы исследования. Для решения поставленных задач использованы методы световой микроскопии, морфометрии, трансмиссионной электронной

микроскопии, иммунногистохимии, иммуноферментные, а также методы вариационной статистики.

Научная новизна исследования состоит в следующем:

установлена динамика постнатального структурно-функционального становления эндокринных желез гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы потомства в условиях воздействия пестицидов через организм матери;

подтверждена правомочность концепции развития «эндокрин-разрушающего» эффекта у потомства при внутриутробном и раннем постнатальном воздействие малых доз пестицидов;

доказано, что воздействие пестицидов (пиретроидного пестицида ламбда-цигалотрин и бензопиразолового пестицида фипронил) во внутриутробном и лактационном периодах оказывает однотипное неблагоприятное действие на развитие эндокринной системы потомства. При этом неблагоприятный эффект фипронила (вигор) сравнительно более выражен, чем эффект ламбда-цигалотрина (титан);

установлено, что гипотиреоз, а также окислительный стресс индуцируют апоптоз в клетках щитовидной и надпочечной желез, что приводит к дисбалансу между процессами пролиферации и гибели клеток в органе и является одной из причин замедления темпов ее постнатального становления;

доказано, что выявленные структурно-функциональные механизмы нарушений постнатального становления щитовидной и надпочечной желез при воздействии пестицидов могут служить основой для разработки патогенетических способов профилактики, диагностики и лечения скрытых токсических эффектов у беременных и новорожденных в условиях повышенного риска загрязнения окружающей среды пестицидами.

Практические результаты исследования. 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;

выявленные структурно-функциональные механизмы нарушения постнатального роста и становления гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы у потомства в условиях хронического воздействия пестицидов через организм матери являются научным обоснованием к назначению тех или иных патогенетических способов предупреждения и лечения возможных последствий;

обосновано, что меры профилактики и лечения отрицательных последствий воздействия пестицидов, прежде всего, должны быть

направлены на раннее выявление гипотиреоза и окислительного стресса у беременных женщин и новорожденных с последующей их фармакологической коррекцией с помощью экзогенных тиреоидных гормонов и антиоксидантной терапии;

доказана фундаментально-прикладная значимость результатов работы в виде новых данных для прогнозирования последствий действия загрязнителей окружающей среды на организм человека и животных.

Достоверность результатов исследования обоснована достаточным числом экспериментальных животных, использованием широко апробированных, взаимно дополняющих друг друга морфологических, морфометрических, ультрамикроскопических, иммуногистохимических, иммуноферментных и статистических методов исследований, а также подтверждением результатов полномочными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в новом подходе к изучению токсического эффекта современных пестицидов, а именно, раскрытию структурно-функциональных механизмов внутриутробного и раннего постнатального воздействия малых доз пестицидов на становление эндокринной системы потомства.

Практическая значимость результатов исследований заключается в том, что обнаруженные структурно-функциональные механизмы нарушения постнатального роста и становления гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы у потомства в условиях хронического воздействия пестицидов являются обоснованием для назначения тех или иных патогенетических способов предупреждения и лечения возможных негативных последствий токсического эффекта. В механизме «эндокрин-разрушающего» эффекта пестицидов ведущую роль играет гипотиреоз и окислительный стресс, развивающиеся в организме матери и потомства. Это обуславливает необходимость: проведения постоянного мониторинга состояния щитовидной железы и перекисного окисления липидов у беременных и новорожденных в условиях повышенного риска загрязнения окружающей среды современными пестицидами; разработки патогенетических способов предупреждения и лечения скрытых токсических эффектов, направленных, прежде всего, на раннее выявление гипотиреоза и окислительного стресса у беременных женщин и новорожденных, с последующей их фармакологической коррекцией с помощью экзогенных тиреоидных гормонов и антиоксидантной терапии.

Внедрение результатов исследования. По результатам диссертационной работы:

утверждено и внедрено в практику методическое пособие «Оценка токсического эффекта воздействия малых доз пестицидов на основе изучения функции щитовидной железы» (заключение отдела координации НИР Министерства здравоохранения РУз № 8Н-р/34 от 23 апреля 2015 года).

Данное пособие способствовало раскрытию механизмов влияния пестицидов на функцию щитовидной железы и разработке мер профилактики их негативных последствий;

утверждено и внедрено в практику методическое руководство «Выявление токсического эффекта воздействия малых доз пестицидов на основе изучения оксидативного стресса» (заключение отдела координации НИР Министерства здравоохранения РУз № 8Н-р/34 от 23 апреля 2015 года). Данное руководство способствовало выявлению механизмов развития окислительного стресса при воздействии пестицидов, его ранней диагностике и разработке мер по предупреждению и лечению изменений, происходящих на клеточном уровне;

результаты работы по оценке влияния хронического воздействия пестицидов на постнатальное становление гипофизарно-тироидно-адреналовой системы потомства внедрены в практику здравоохранения, в практическую работу межвузовской центральной научно-исследовательской лаборатории Ташкентской медицинской академии и в клиническую практику (справка Министерства здравоохранения РУз № 8Н-3/21 от 28 сентября 2017 года). Внедрение их в практику способствовало оптимизации учебного процесса, разработке методов ранней диагностики и прогнозирования токсического эффекта воздействия пестицидов в раннем периоде жизни. Это, в свою очередь, приводит к повышению эффективности профилактики и лечения ранних эффектов отравления пестицидами; сокращению периода инвалидности на 25-35%; уменьшает расходы на лечение и позволяет предупредить заболевания, возникающие в отдаленном периоде у детей.

Апробация результатов исследовательской работы. Результаты данного исследования были обсуждены на 6 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликована 43 научная работа, из них 13 статей в журналах, рекомендованных ВАК РУз для публикации научных результатов докторских диссертаций, в том числе 9 в республиканских и 4 в международных журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и выводов, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 180 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введение** обоснованы актуальность и востребованность темы диссертации, сформулированы цель и задачи, а также объект и предмет исследования; приведено соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан; изложены научная новизна и практические результаты исследований, раскрыты теоретическая и практическая значимость полученных результатов; даны сведения по внедрению результатов исследований в практику, по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе **«Эндокрин-разрушающие вещества окружающей среды и их влияние на организм человека и животных»** приведены результаты детального анализа данных мировой литературы по эндокрин-разрушающему эффекту действия загрязнителей окружающей среды на животный организм, в том числе на человека. В завершении главы отмечено, что подавляющее большинство исследований по изучению механизмов и последствий эндокрин-разрушающего эффекта современных пестицидов проведено на половозрелых особях животных или у взрослых людей. При этом, как правило, использовались достаточно большие дозы пестицидов, хотя в реальной жизни организм, в том числе беременных женщин и детей, чаще подвергается именно длительному воздействию малых доз пестицидов или их метаболитов. Кроме того, плодный и ранний постнатальный периоды являются наиболее критическими этапами жизни в плане развития тяжелых последствий воздействия пестицидов. Доказано, что механизмы эндокрин-разрушающего эффекта малых доз пестицидов на потомство в условиях внутриутробного и раннего постнатального их воздействия до настоящего времени недостаточно выяснены и обоснована необходимость проведения дальнейших исследований для решения этой проблемы.

Во второй главе диссертации – **«Токсико-химическая характеристика использованных пестицидов»** приведены результаты исследования токсикологических свойств использованных пестицидов. В работе использованы два представителя широко распространенных в нашей республике и во всем мире высокоэффективных современных инсектицидов. Это пестициды «титан» (действующее вещество ламбда-цигалотрин из класса пиретроидов) и «вигор» (действующее вещество фипронил, производное бензопиразола). Титан или ламбда-цигалотрин (ЛСТ) в виде 10%, вигор или фипронил (ФПН) в виде 4% концентрата эмульсии получили из совместной Узбекско-Германской компании «Euro-Team». На основании проведенных токсикологических исследований определены $ЛД_{50}$ для различных лабораторных животных (мыши, белые крысы, кролики), установлены классы токсичности пестицидов и обоснованы дозы препаратов для дальнейших экспериментов по хроническому воздействию пестицидов. Выбор препаратов, их дозировка и способы введения проведены по

рекомендациям старшего научного сотрудника И.Б.Бойко, за что выражаем ей глубокую признательность.

В третьей главе диссертации **«Методология изучения эндокрин-разрушающих эффектов пестицидов»** изложены сведения об экспериментальном материале и постановке опытов, а также об основных использованных микроскопических, электронно-микроскопических, морфометрических, иммунногистохимических, иммуноферментных и статистических методах исследования.

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 ± 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 $ЛД_{50}$ 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 $ЛД_{50}$ 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 обнаружена 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 опыты, содержание и забой животных проведены согласно разрешению и строго по требованиям этического комитета Республики Узбекистан.

Забой животных проводили в соответствующие сутки, в утренние часы, натощак, под легким эфирным наркозом. Щитовидная железа, надпочечники и гипофиз после взвешивания фиксировали в 10% нейтральном формалинеили в жидкостях Карнуа и Буэна, после соответствующей проводки заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для изготовления полутонких срезов кусочки органов фиксировали в 1,25 % растворе глютарового альдегида и заливали в смесь аралдит-эпон. Полутонкие срезы (1мкм) окрашивали метиленовым синим и основным фуксином.

Для электронно-микроскопических исследований кусочки органов последовательно фиксировали в 1,25 % растворе глютарового альдегида и в 1% растворе осмиевой кислоты на фосфатном буфере (pH-7,3). После обезвоживания материал заливали в смесь аралдит-эпон. Ультратонкие срезы, изготовленные на «Ultratome–V» (LKB, Sweden), последовательно контрастировали уранил-ацетатом, цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе «JEM-100SX» (JEOL, Japan).

Морфометрические исследования проводили на парафиновых и полутонких срезах с помощью сетки Автандилова (Автандилов Г.Г., 1990). В отдельных случаях использована компьютерная программа «Морфология-4» фирмы «Carl Zeiss Jena» (Germany). В щитовидной железе были определены наружный и внутренний диаметр фолликулов, площади коллоида, эпителия, высота 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.

Для оценки уровня апоптоза и степени пролиферации клеток в эндокринных железах был использован метод иммуногистохимии. Маркерные субстраты пролиферирующих клеток определяли моноклональными кроличьими антителами к ki-67, а апоптозные клетки выявляли с помощью моноклональных кроличьих антител к cas-3 и p-53 (Thermo Scientific, USA). Выявление пролиферирующих и апоптозных клеток проводили на парафиновых срезах щитовидной и надпочечной желез с помощью комплекса UltraVision (Thermo Scientific, USA). Срезы докрашивали метиленовым синим или нейтральным красным. Индексы пролиферации и апоптоза подсчитывали на 1000 клеток щитовидной железы

(тироцитов) и на 1000 клеток коры надпочечников (кортикостероцитов) и выражали в промиллях.

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

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 ± стандартное отклонение (SD). Статистическая значимость различий между контролем и опытными группами сравнивалась с использованием теста Стьюдента и значения $P<0,05$ считались достоверными.

В четвертой главе **«Эффект хронического воздействия пестицидов на рост и развитие гипофизарно-тироидной системы потомства»** описаны результаты морфологических, ультраструктурных, морфометрических, иммуногистохимических и функциональных исследований гипофизарно-тироидной системы потомства в условиях внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов. Результаты показали, что гипофизарно-тироидная система потомства к моменту рождения достаточно сформирована. На 3 сутки рождения в гипофизе как контрольных, так и опытных крыс довольно четко определяются передняя, средняя и задная доли. В передней доле преобладающими являются хромофобные клетки, среди которых встречаются оксифильные и базофильные клетки. В динамике постнатального периода развития происходило увеличение размеров гипофиза в целом. Постепенно увеличивалось число базофильных и оксифильных клеток, наблюдалась дифференцировка клеток на тиротропоциты, гонадотропоциты, соматотропоциты, кортикотропоциты и лактотропоциты. Тем не менее, на уровне световой или электронной микроскопии каких-либо существенных особенностей гипофиза контрольных и опытных групп потомства в динамике постнатального роста, нам не удалось обнаружить. Более информативные данные были получены при изучении тиротропного (ТТГ) и адренокортикотропного (АКТГ) гормонов передней доли гипофиза, участвующих в регуляции гипофизарно-тироидно-надпочечниковой системы.

Щитовидная железа у новорожденных достаточно сформирована и состоит из двух долей, соединенных тонким перешейком. На 1-3 сутки после рождения железа окружена тонкой соединительнотканной капсулой. Иногда на срезах можно увидеть паращитовидную железу, окруженную общей для обеих желез капсулой. Паренхима щитовидной железы состоит из сформированных фолликулов различных размеров. По периферии железы фолликулы достаточно крупные, содержат различное количество коллоида. В центре железы преимущественно выявлялись мелкие, формирующиеся фолликулы и межфолликулярные эпителиальные островки. Данная морфологическая картина щитовидной железы была характерна как для контрольных, так и для опытных групп новорожденных крыс. 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. К 21 и 30 суткам после рождения щитовидная железа практически была окончательно сформирована. Паренхима железы в основном содержала фолликулярные комплексы из фолликулов малых, средних и крупных размеров. При этом крупные и средние фолликулы располагались преимущественно по периферии щитовидной железы, а в центре органа встречались в основном малые фолликулы и межфолликулярные островки.

Таким образом, динамика роста и становления щитовидной железы после рождения имеет однотипный характер у контрольных и опытных групп потомства. Однако морфометрические исследования позволили получить данные, свидетельствующие о тех или иных нарушениях динамики роста и становления щитовидной железы потомства в условиях воздействия пестицидов. Темпы прироста общей площади эпителия фолликулов при воздействии ЛСТ на 10-17%, а при воздействии ФПН –на 15-30% отстают от показателей контроля (P_1, P_2<0,05). Соответственно на 15-25% и 20-40% уменьшалась площадь, занимаемая коллоидом. И, напротив, общая площадь межфолликулярных эпителиальных островков при воздействии ЛСТ на 15-45%, а при воздействии ФПН – на 20-60% превышала показатели контроля (P_1,P_2<0,05). 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 – фолликула, наиболее выражено при воздействии фипронила, по сравнению с воздействием ламбда-цигалотрина. Однако, отрицательный эффект пестицидов не ограничивался только лишь торможением новообразования фолликулов. 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 (P_1, P_2<0,05).

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. Морфометрические данные нашли свое полное подтверждение в результатах электронно-микроскопических исследований.

Электронно-микроскопически фолликулы щитовидной железы контрольных животных во всех сроках наблюдения имели типичное строение. Тироциты контрольных животных находились на различных стадиях секреторного цикла и в целом характеризовались ультраструктурными признаками высокой активности синтетического и лизосомального аппаратов. Цитоплазма отдельных тироцитов содержала значительное количество цистерн зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС). В некоторых клетках профили ЗЭС были расширенными. Ядра клеток располагались в центре или были несколько смещены к базальной части тироцита. Апикальная поверхность клеток содержала немногочисленные короткие микроворсинки. Под апикальной плазмалеммой располагались лизосомы размерами 0,2 – 0,4 мкм, число которых варьировало в зависимости от фазы секреторного цикла тироцита. Электронно-микроскопические исследования щитовидной железы потомства опытных 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 ЗЭС 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 удалось отметить появление немногочисленных липидных капель различных размеров, которые практически не встречались у животных контрольной группы. И, наконец, у потомства от опытных животных гораздо 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 тиреоглобулина. Прежде всего,

это относится к структурам ЗЭС, которые в целом в тироцитах контрольных животных достаточно сильно развиты. Однако дезорганизация и тотальное расширение цистерн ЗЭС с уменьшением плотности их содержимого нами обнаружены только у потомства от опытных животных. Подобные ультраструктурные изменения тироцитов описаны рядом исследователей при токсических воздействиях и рассматриваются как признаки нарушения синтеза тиреоглобулина и/или его транспорта в просвет фолликулов (Юкина Г.Ю. и др., 2004). Очевидно, что выявленные нами субмикроскопические изменения также являются показателем нарушения синтетической и секреторной деятельности тироцитов. Наши морфометрические данные показали, что воздействие пестицидов через организм матери обусловливает замедление темпов постнатального формирования и роста основной структурно-функциональной единицы щитовидной железы – секреторных фолликулов. На основании приведенных данных можно заключить, что в условиях воздействия пестицидов имеет место глубокое нарушение процесса дифференцировки тироцитов щитовидной железы потомства. На это указывают субмикроскопические признаки деструкции органелл, ответственных за синтез, транспорт и расщепление тиреоглобулина. Все это в конечном итоге приводит к дисфункции щитовидной железы и нарушению обменных процессов у развивающегося потомства.

Программированная смерть клетки (ПСК) или апоптоз является механизмом, имеющим решающее значение для организма при контроле пролиферации клеток и поддержании гомеостаза тканей (Goldar S. et al.,2015; Lin H.Y. et al., 2015). В физиологических условиях между процессами апоптоза и пролиферации клеток существует определенное равновесие, которое позволяет поддерживать тканевой гомеостаз. В растущем организме уровень пролиферации обычно высокий, а степень апоптоза – низкий. Это обеспечивает физиологический рост и становление органов и тканей в постнатальном онтогенезе. Нами было показано, что внутриутробное и раннее постнатальное воздействие пестицидов через организм матери приводит к нарушению роста и становления щитовидной железы потомства в динамике постнатального онтогенеза.

Возникает вопрос – что лежит в механизме этих нарушений и каково при этом состояние процессов пролиферации и апоптоза клеток? Для ответа на этот вопрос мы применили метод иммуногистохимии с использованием высокоспецифичных моноклональных антител к маркерам пролиферации и апоптоза. Количественный подсчет результатов показал, что воздействие пестицидов приводит к уменьшению индекса пролиферации по сравнению с контролем (таблица 1).

Таблица 1

Индекс пролиферации клеток щитовидной железы (в промиллях) в динамике постнатального развития

Постнатальные дни (в сутках)	Контроль	Цигалотрин	Фипронил
7 сут.	17,5±1,2	11,4±1,1**	10,2±0,9***
14 сут.	15,2±,3	10,7±0,8***	9,3±0,9***
21 сут.	13,3±1,1	9,6±0,9*	7,3±0,5***
30 сут.	9,5±0,8	8,3±0,7	7,8±0,6

Примечание * - различия относительно данных контрольной группы достоверны (* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001)

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 фипронила снижается на 40-45% по сравнению с контролем, тогда как воздействие ламбда-цигалотрина уменьшает индекс пролиферации на 28-30% по сравнению с контролем (P_1, P_2<0,05). 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. Более выраженное и достоверное уменьшение пролиферации отмечено при воздействии фипронила, по сравнению с ламбда-цигалотрином.

Таблица 2

Индекс апоптоза клеток щитовидной железы (в промиллях)в динамике постнатального развития

Постнатальные дни (в сутках)	Контроль	Цигалотрин	Фипронил
7 сут.	0,06±0,002	0,7±0,03***	0,9±0,05***
14 сут.	0,09±0,003	1,2±0,15***	1,8±0,20***
21 сут.	0,48±0,07	1,6±0,25***	2,3±0,75*
30 сут.	0,75±0,09	2,9±0,83*	3,8±0,87**

Примечание * - различия относительно данных контрольной группы достоверны (* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001)

Несколько иные данные получены при изучении процесса апоптоза (таблица 2). Как видно из таблицы, 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 показатели 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.

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. Мы полагаем, что указанные изменения составляют морфологический субстрат дисфункции щитовидной железы, возникающей в постнатальном онтогенезе органа в условиях воздействия пестицидами.

Естественно, нас интересовал вопрос - как отражаются эти изменения на функции щитовидной железы матери и потомства, есть ли взаимосвязь между ними? Для решения этих вопросов мы определяли концентрацию маркерных гормонов передней доли гипофиза и щитовидной железы у матерей и в динамике у потомства в условиях воздействия пестицидов. Результаты исследований состояния функции щитовидной железы у крыс самок и полученного от них потомства показали следующее.

Рис. 1. Уровень тироксина (T_4) у самок крыс в динамике беременности и лактации, в нг/мл

У нерожавших крыс - самок, получавших в течение 30 дней до зачатия ЛСТ и ФПН, концентрация T_4 и T_3 снижалась незначительно. По мере

развития беременности у опытных групп самок развился отчетливый гипотиреоз **(**рис. 1**).**

На 14 и 21 дни беременности концентрация T_4и T_3 была достоверно более низкой по сравнению с контролем. Наиболее выраженный гипотиреоз у опытных самок обнаружен на 21 день беременности, а также на 14 день лактации, когда концентрация T_4 и T_3 в 1,3 – 1,5 раза снижалась по сравнению с контролем. В то же время, концентрация ТТГ в обеих группах опытных крыс прогрессивно повышалась в процессе беременности и лактации.

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 рожденных от опытных крыс потомства была достоверно снижена по сравнению с контролем **(**рис. 2). Определение концентрации ТТГ показало прогрессивное его увеличение во все дни исследования.

Рис. 2. Уровень тироксина (T_4) у потомства крыс в динамике постнатального развития, в нг/мл. Примечание: ПНД – постнатальные дни

Полученные данные позволяют заключить, что длительное воздействие малых доз пестицидов приводило 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.

В пятой главе диссертации **«Эффект хронического воздействия пестицидов на рост и развитие гипофизарно-адреналовой системы потомства»** описаны результаты морфологических, ультраструктурных, морфометрических, иммуногистохимических и функциональных исследований гипофизарно-адреналовой системы потомства в условиях

внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов. Надпочечная железа контрольных крыс на 3 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. Наиболее развита клубочковая и тесно прилегающая к ней камбиальная зона. Сетчатая зона дифференцируется 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. Морфометрические исследования показали определенные нарушения постнатального роста коры надпочечников потомства в условиях воздействия пестицидов. Темпы прироста площади коркового вещества надпочечников при воздействии ЛСТ на 15-30%, а при воздействии ФПН – на 23-40% отстают от показателей контроля (P_1, P_2<0,05). 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. Таким образом, воздействие пестицидов через материнский организм приводит к существенному снижению темпов роста и формирования основных зон коры надпочечников потомства в постнатальном онтогенезе.

Иммуногистохимические исследования показали, что замедление темпов формирования структурных 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 фипронила снижается на 24-28%, тогда как воздействие ламбда-цигалотрина уменьшает индекс пролиферации на 10-13% по сравнению с контролем (P_1, P_2<0,05). 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.

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. Во многих клетках обнаруживались крупные светлые вакуоли, которые равномерно распределялись по всей цитоплазме. 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 подтверждается результатами наших гормональных исследований.

Выявлено, 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 сравнение с контролем было обнаружено у крыс самок на 21 день беременности и на 7-14 дни лактации. Аналогичное достоверное увеличение концентрации кортизола наблюдалось также и у потомства опытных крыс на 7-21 дни после рождения. Следует отметить, что увеличение уровня кортизола во всех случаях сопровождалось соответствующим повышением концентрации адренокортикотропного гормона (АКТГ) гипофиза. Известно, что повышение уровня кортизола является универсальной ответной реакцией коры надпочечников на стресс, в том числе на токсическое воздействие (Harvey P.W., 2010). По нашему мнению, повышение 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. Как и в щитовидной железе, в коре надпочечников определяется дисбаланс между процессами пролиферации и апоптоза, выражающийся в усилении апоптоза при подавлении пролиферации.

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.3). 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.

Рис. 3. Схематическое изображение патогенеза эндокрин-разрушающего эффекта малых доз пестицидов на потомство при внутриутробном и раннем постнатальном воздействии через организм матери.

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 диссертационных 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_4и 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.

SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING OF SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCES 27.06.2017.Tib.30.03 AT TASHKENT MEDICAL ACADEMY

TASHKENT MEDICAL ACADEMY

ZOKIROVA NARGIZA BAKHODIROVNA

POSTNATAL FORMATION OF THE PITUITARY-THYROID-ADRENAL SYSTEM OF POSTERITY IN CONDITIONS OF CHRONIC PESTICIDE EXPOSURE ON THE MATERNAL ORGANISM

14.00.02- Morphology

DISSERTATION ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION (DSc) ON MEDICAL SCIENCES

TASHKENT – 2017

The theme of doctoral dissertation is registered at the Supreme Attestation Comission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan in № B2017.2.DSc/Tib142.

The doctoral dissertation is carried out at Tashkent Medical Academy.

Abstract of dissertation in three languages (Uzbek, Russian and English) is placed on the web page of Scientific Council (www.tma.uz) and in information-educational portal «Ziyonet» (www.ziyonet.uz).

Scientific consultant:	**Tukhtaev Kadir Rakhimovich** Doctor of medical sciences, professor
Official opponents:	**Blinova Sofya Anatolyevna** Doctor of medical sciences, professor
	Israilov Rajabboy Doctor of medical sciences, professor
	Mavlyan-Khodjaev Ravshan Shukhratovich Doctor of medical sciences, professor
Leading organization:	**Bukhara State Medical Institute**

The defense will takes place on «___»_____ 2017 at_____at the meeting of one-time Scientific council 27.06.2017.Tib 30.03 at Tashkent Medical Academy (Adress: 100109, Tashkent city, Faraby str., 2. Meetings hall in 1st educational building of Tashkent Medical Academy. Tel/Fax: (+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru.

Full text of the dissertation is available in Information –Resource center of TMA (it is registered by № _____. Address: 100109,Tashkent city, Faroby str., 2,TMA, 2nd educational building, «B» section, ground floor, room 7. Tel./Fax (+99871) 150-78-14.

The abstract was distributed on «_____»_____2017.
(Protocol of mailing № _____ «_____»_____2017).

G.I. Shaykhova
The chairman of the one-time Scientific Council on conferring scientific degree, M.D., professor

N.J.Ermatov
Scientific secretary of the one-time Scientific Council on conferring scientific degree, M.D., docent

U.M.Mirsharapov
Chairmanof scientific seminar at the one-time Scientific Council on conferring scientific degree, M.D., professor

INTRODUCTION (annotation of the doctoral dissertation)

The urgency and relevance of the theme of dissertation. In our republic is currently used by over 250 pesticides new generations, much of which relates to a group of pyrethroids and pyrazole derivatives. Despite the low toxicity of these pesticides, their use in agriculture of Uzbekistan associated pollution of small amounts of water, air, food products, which creates a risk of long-term effects on the population of low doses of pesticides.Unfortunately, endocrine-disrupting effects of modern pesticides on offspring during their exposure in utero and in the early postnatal period up to the present time there is not enough clarified. Identification of mechanisms of action of pesticides through the mother's organism on the development of the endocrine system of offspring would allow to developing methods for prevention, early diagnosis and prognosis of the possible negative effects on the younger generation.

The purpose of the research work was to identify the structural and functional features of early postnatal formation of the pituitary-thyroid and pituitary-adrenal systems of offspring obtained under conditions of chronic exposure to pesticides in the mother's organism.

The object of the study were white nulliparous mature female Wistar rats weighing 150-180 g of the body as well as resulting from their offspring. The pituitary, thyroid and adrenal glands and blood serum have been studied.

The scientific novelty of the research is as follows:

The dynamics of the postnatal structural and functional formation of the endocrine glands of the pituitary-thyroid-adrenal system of offspring in conditions of pesticide exposure through the mother's organism has been established;

Confirmed the validity of the concept of development of the «endocrine-disrupting» effect in offspring during intrauterine and early postnatal exposure of small doses of pesticides;

It has been proved that the action of pesticides (pyrethroid pesticide lambda-cyhalothrin and benzopyrazole pesticide fipronil) in the intra-tropic and lactational periods has the same adverse effect on the development of the endocrine system of the offspring. The unfavorable effect of fipronil (vigor) is comparatively more pronounced than the effect of lambda-cyhalothrin (titanium);

It has been established that hypothyroidism, as well as oxidative stress, induce apoptosis in the cells of the thyroid and adrenal glands, which leads to an imbalance between the processes of proliferation and cell death in the organ and is one of the reasons for the slowing of the rates of its postnatal development;

It is proved that the revealed structural and functional mechanisms of the disorders of the postnatal formation of the thyroid and adrenal glands under the influence of pesticides can serve as a basis for the development of pathogenetic methods for the prevention, diagnosis and treatment of latent toxic effects in pregnant and newborns in conditions of an increased risk of environmental pollution by pesticides.

Practical results of the study. Based on the results obtained, which testify to the "endocrine-destroying" effect of intrauterine and early postnatal exposure to small doses of pesticides, some methods of early diagnosis and prognosis of endocrine disorders in newborns and children have been developed;

The obtained data are the justification for conducting monitoring studies on the detection of hidden toxic effects of small doses of pesticides in the absence of clinical symptoms of intoxication;

The revealed structural and functional mechanisms of the disturbance of postnatal growth and the formation of the pituitary-thyroid-adrenal system in offspring under the conditions of chronic exposure to pesticides through the mother's organism are the scientific justification for the assignment of various pathogenetic methods of prevention and treatment of possible consequences;

It is reasoned that the measures of prevention and treatment of the negative consequences of pesticide exposure, first of all, should be aimed at early detection of hypothyroidism and oxidative stress in pregnant women and newborns, followed by their pharmacological correction with the help of exogenous thyroid hormones and antioxidant therapy;

The fundamentally applied significance of the results of the work in the form of new data for predicting the effects of environmental contaminants on the human and animal organism has been proved.

Implementation of the research results. According to the results of the thesis: Approved and implemented in practice a methodological manual «Assessment of the toxic effect of exposure to small doses of pesticides on the basis of the study of thyroid function» (conclusion of the coordination department of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, April 23, 2015). This manual contributed to the disclosure of the mechanisms of the influence of pesticides on the function of the thyroid gland and the development of measures to prevent their negative consequences;

Approved and implemented in practice a methodical guide «Identification of the toxic effect of exposure to small doses of pesticides on the basis of the study of oxidative stress» (conclusion of the coordination department of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, April 23, 2015). This manual helped to identify mechanisms for the development of oxidative stress in pesticide exposure, early detection and development of measures to prevent and treat changes that occur at the cellular level;

The results of the work on the assessment of the effect of chronic effects of pesticides on the postnatal development of the pituitary-thyroid-adrenal system of offspring are introduced into the practice of public health, into the practical work of the interuniversity central research laboratory of the Tashkent Medical Academy and into clinical practice. Their introduction into practice helped to optimize the educational process, develop methods for early diagnosis and predict the toxic effect of pesticide exposure in the early life. This, in turn, leads to an increase in the effectiveness of prevention and treatment of early effects of pesticide poisoning; reduction of the disability period by 25-35%; reduces the cost of

treatment and allows you to prevent diseases that occur in the long-term period in children (certificate of the Ministry of Health of Uzbekistan, September 28, 2017).

The outline of the thesis. The thesis consists of an introduction, five chapters, conclusions, a list of used literature and applications. The volume of the thesis is 180 pages. The main purpose of research work was to identify the structural and functional features of early postnatal formation of the pituitary-thyroid and pituitary-adrenal systems of offspring obtained under conditions of chronic exposure to pesticides in the mother's organism. To solve the problems, light microscopy, morphometry, transmission electron microscopy, immunohistochemistry, immunoenzymes, and variational statistics methods were used. Results are showed, that chronic exposure to pesticides on the mother's organism during pregnancy and lactation leads to an "endocrine-disruptive" effect in the offspring in the early postnatal period. Morphologic, morphometric and ultrastructure studies revealed structural mechanisms of disorders in offspring pituitary-thyroid system in terms of pesticide exposure, such as, slowdown in growth and the formation of thyroid follicles and submicroscopic changes of organelles of thyrocytes, indicating a violation of their secretory activity have been showed. Immunohistochemical studies revealed the presence of an imbalance between the processes of proliferation and apoptosis of thyroid and adrenal cortex cells in conditions of pesticide exposure: a significant increase in apoptotic index with a decrease in rates of cell proliferation has been found. Chronic exposure to pesticides in the mother's organism during pregnancy and lactation leads to functional disturbances in the pituitary-thyroid system of the mother and offspring:a expressed neonatal hypothyroidism with a significant decrease in the concentration of T_4 and T_3 in the offspring was observed at all observation periods, reaching its peak on day 21 after birth.Morphological studies revealed structural mechanisms of disturbances in the pituitary-adrenal system in the offspring in conditions of pesticide exposure:revealed a slowdown in growth and the formation of structural-functional zones andsubmicroscopic changes in the cells of the fascicular zone, indicating the intensity of the functional tension of cells of the adrenal cortex.

Publication of research results. 43 research papers were published on the topic of the dissertation, 13 of them were published in journals recommended by the Higher Attestation Commission of the Republic of Uzbekistan for publication of scientific results of doctoral dissertations, including 9 in republican and 4 in international journals.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть, I part)

1. Зокирова Н.Б. Токсичность и опасность нового инсектицида вигор //Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. – Ташкент, 2009. – №2. – С.69-71 (14.00.00. №17).
2. Зокирова Н. Б., Тухтаев К. Р. Морфометрические и ультраструктурные особенности роста и становления щитовидной железы у потомства в условиях хронической интоксикации организма матери // Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. – Тошкент, 2011. – №4. – С. 52-54 (14.00.00. №17).
3. Зокирова Н. Б., Тухтаев К. Р. Электронно-микроскопическая характеристика тироцитов щитовидной железы в динамике постнатального роста в условиях хронической интоксикации //Проблемы биологии и медицины. – Самарканд, 2011. – №3(66). – С.59-62 (14.00.00. №19).
4. Зокирова Н. Б. Электронно-микроскопическая характеристика клеток коры надпочечных желез в динамике постнатального роста в условиях хронической интоксикации материнского организма // Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. – Тошкент, 2012. – № 3. – С. 72-76 (14.00.00. №17).
5. Зокирова Н. Б. Токсикологическая характеристика инсектицида Титан //Журнал теоретической и клинической медицины. – Тошкент, 2012. – №5. –С. 24-26 (14.00.00. №3).
6. 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 (Universal Impact Factor - 0,4839).
7. Tukhtaev K.R., Zokirova N.B., Tulemetov S.Kh., Tukhtaev N.K. Effect of long termexposure 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 (Universal Impact Factor - 0,4839).
8. Зокирова Н. Б. Состояние гипофизарно-тиреоидной системы потомства в условиях внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов //Вестник Ташкентской Медицинской академии.– 2015. – №4. – С.18-21 (14.00.00. №13).
9. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Хайдарова К. И. Иммуногистохимическая оценка апоптоза в щитовидной железе и тимусе потомства в условиях внутриутробного и раннего постнатального воздействия пестицидов //Вестник Ташкентской Медицинской академии. – 2015. – №4. – С.32-35 (14.00.00; №13).
10. Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К. Состояние гипофизарно-адреналовой системы потомства в условиях внутриутробного и раннего постнатального

воздействия пестицидов // Журнал теоретической и клинической медицины.– Ташкент, 2016. – №6. – С. 15-19 (14.00.00; №3).

11. Тухтаев Н. К., Зокирова Н. Б. Морфологические проявления стрессовой реакции коры надпочечников в условиях хронической интоксикации материнского организма //Журнал теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2016. – №6. – С.8-11 (14.00.00; №3).

12. Zokirova N. B. Morphological and functional features of thyroid gland of posterity under in utero and early postnatal exposure to pesticides //European Science Review. – Austria, Vienna, 2017. – №3-4. – P. 33-34 (14.00.00; №19).

13. Tukhtaev N. K., Zokirova N. B. The influence of in utero and early postnatal exposure to pesticides on the process of cells apoptosis and proliferation in immune and endocrine organs of the offspring //European Science Review – Austria, Vienna, 2017. – №3-4, – P. 57-58 (14.00.00; №19).

II бўлим (II часть, II part)

14. Зокирова Н. Б. Оценка токсичности опасности инсектицида Абалон. //Теоретические основы медико-экологических проблем в Узбекистане и его практические решения. Материалы научно-практической конференции. – Ташкент, 2009. – С.149.

15. Зокирова Н. Б. Оценка токсичности опасности инсектицида вигор. //Теоретические основы медико-экологических проблем в Узбекистане и его практические решения. Материалы научно-практической конференции март – Ташкент, 2009. – 144-145.

16. Тухтаев К. Р., Тулеметов С. К., Зокирова Н. Б.,Ишанжанова С. Х., Тухтаев Н. К., Миклиев З. А., Шоумаров А. З. Рост и становление органов иммунно-эндокринной систем, печени и почек у потомства, полученного в условиях экотоксического воздействия на организм матери //VI съезд педиатров Республики Узбекистан. – Ташкент, 2009. – С.439-440.

17. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тулеметов С. К., Тухтаев Н. К. Влияние хронической интоксикации организма матери на постнатальное становление органов эндокринной, иммунной, пищеварительной и выделительной систем потомства //Материалы V Международной научной конференции Oncology–XXI century. – Италия, 2010. – С.286-288.

18. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б. Влияние хронической интоксикации материнского организма на постнатальное развитие гипофизарно-тиреоидно-надпочечниковой системы потомства //X Конгресс Международный ассоциации морфологов. – Морфология (СПб), 2010. – Том 137, №4. – С.195.

19. Тухтаев К. Р., Тулеметов С. К., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К. Развитие в раннем постнатальном онтогенезе органов иммунной и эндокринной систем, печени и почек в условиях экотоксического воздействия на организм //Всероссийский Конгресс эмбриологов с международным участием. – Морфология (СПб), 2011. – Том 140, №5. – С.121.

20. Зокирова Н. Б., Тухтаев К. Р. Постнатальный рост и становление щитовидной железы в условиях хронической интоксикации пестицидами

//Врач-аспирант. – Россия, –2011. – №5.4 (48). – С. 565-569.

21. Зокирова Н. Б., Тухтаев К. Р. Постнатальное становление щитовидной железы потомства в условиях хронического токсического воздействия на материнский организм //Научные труды III съезда физиологов СНГ. – Москва-Ялта. – 2011, – С.166.

22. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К, Тулеметов С. К., Амируллаев О. К. Межсистемные взаимоотношения в иммунной, эндокринной, пищеварительной и выделительной системах в процессе постнатального развития в условиях хронической интоксикации организма матери ядохимикатами //Научные труды III съезда физиологов СНГ.– Москва-Ялта. – 2011, – С.178.

23. Зокирова Н. Б. Токсичность и опасность инсектицида Титан. //Актуальные проблемы гигиенической науки и санитарно-эпидемиологической службы Узбекистана. Материалы Республиканской научно-практической конференции. – Ташкент, 2011. – С.56-57.

24. Зокирова Н. Б. Морфометрическая характеристика становления щитовидной железы потомства в условиях хронической интоксикации материнского организма //XIV Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей. – Санкт-Петербург, 2011. – С.96-97.

25. Зокирова Н. Б. Ранный постнатальный рост надпочечных желез потомства в условиях хронической интоксикации организма матери. //Материалы третьего съезда патологоанатомов Рспублики Узбекистан. – Ташкент, 2012. – С.42-43.

26. Зокирова Н. Б. Морфометрическая оценка влияния титана на развитие щитовидной железы у потомства //Материалы республиканской научно-практической конференции. НИИ санитарии, гигиены и профзаболеваний МЗ РУз – Ташкент, 2012. – С.161-162.

27. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Тулеметов С. К., Яриева О. О. Структурные основы межсистемных взаимосвязей в раннем постнатальном морфогенезе органов иммунно-эндокринной, пищеварительной и выделительной систем //XI Конгресс Международный ассоциации морфологов. – Морфология (СПб), 2012. – Том 141, №3. – С.159.

28. Зокирова Н. Б., Расулев К.И. Постнатальный морфогенез надпочечных желез потомства при хронической интоксикации материнского организма //XI Конгресс Международный ассоциации морфологов.– Морфология (СПб), 2012. – Том 141, №3. – С.61-62.

29. Zokirova N. B., Azizova F. Kh., Otajonova A.N. Impact of prolonged exposure of piretroid pesticides on the thyroid function of the pregnant rats and their offspring //Аёл фан ва таълим тизимида.Республика илмий-назарий конференция материаллари. – Ташкент, 2013. –P. 220-223.

30. Tukhtaev S. N., Ibragimova L. A., Zokirova N. B. Morphological peculiarities of the adrenal cortex at the dinamics of postnatal growth in chronic intoxication of maternal organism //Materials of the second scientific-practical conference. – Ташкент, 2013. – С.137-140.

31. Tukhtaev K. R., Zokirova N. B., Tulemetov S. Kh., Tukhtaev N. K. Effect of prolonged exposure of low doses of Fipronil on thyroid function of pregnant rats their offspring //The Internet Journal of Toxicology.– 2013. Vol.10, № 1. http://ispub.com/IJTO/101/14550/.

32. Tukhtaev K. R., Tulemetov S. Kh., Zokirova N. B., Tukhtaev N. K. Prolonged exposure of low doses of Fipronil causes oxidative stress in pregnant rats and their offspring //The Internet Journal of Toxicology. – 2013. Vol.10, № 1. http://ispub.com/IJTO/101/14549/.

33. Зокирова Н. Б. Структурные аспекты постнатального роста становления надпочечных желез потомства в условиях воздействия пестицидов через организм матери //Актуальные проблемы морфологии. Научно-практическая конференция. – Проблемы биологии и медицины. Самарканд, 2013. – №3 (74) – С.34-35.

34. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Тулеметов С. К., Амируллаев О. К. Постнатальное становление органов и систем потомства в условиях хронической интоксикации через организм матери //Проблемы биологии и медицины. Актуальные проблемы морфологии. Научно-практическая конференция. – Проблемы биологии и медицины. Самарканд, 2013. – №3 (74) – С.92-93.

35. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Тулеметов С. К., Тиллабаев М. Р., Амируллаев О. К., Тайлакова Д. И., Яриева О. О. Морфологические изменения различных органов в процессе постнатального развития потомства в условиях внутриутробного воздействия пестицидов //XII Конгресс Международный ассоциации морфологов. – Морфология (СПб), 2014. – Том 143, № 3. – С.198.

36. Zokirova N. B., Tukhtaev N. K., Tulemetov S. Kh. Impact of small doses pesticides on the thyroid function of the pregnant rats and their offspring //The First International Conference on Biology and Medical Sciences. – Austria, Vienna, 2014. – P.124-125.

37. Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Амируллаев О. К. Токсический эффект пестицидов в условиях воздействия через организм матери на состояние щитовидной и вилочковой желез потомства //Актуальные проблемы гигиены и санитарии в Узбекистане. Научно-практическая конференция. – Ташкент, 2014. – С. 45-47.

38. Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Азизова Ф. Х. Механизмы иммунотоксического эффекта, развивающегося у потомства при хроническом воздействии пестицидов через организм матери // Материалы международной научно-практической конференции. – Журнал теоретической и клинической медицины. –Ташкент, 2014. – Том 2. №3. – С.42.

39. Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Амируллаев О. К. Влияние внутри-утробного воздействия малых доз пестицидов на постнатальное развитие щитовидной и вилочковой желез потомства //Материалы V Всероссийской научно – практической конференции. – Москва, 2014. –С.190-193.

40. Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Абдурахманов М., Расулова Н. Б., Тухтаев К. Р. Постнатальные иммуно-эндокринные проявления токсического

эффекта внутриутробного воздействия малых доз пестицидов //Тезисы докладов IX Всемирного Конгресса по иммунопатологии и респираторной аллергии и IX съезда аллергологов и иммунологов СНГ. –Аллергология и иммунология.– Москва, 2014. – Том 15, №3. – С.232.

41. Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Хайдарова К. И., Взаимосвязь процессов пролиферации и деструкции клеток в различных иммунных и эндокринных органах при постнатальном развитии потомства, подвергнутого внутриутробному воздействию пестицидов //Материалы XIII Конгресса Международной ассоциации морфологов. – Морфология (СПб), 2016 –Том 145, № 3.– С.89.

42. Тухтаев К. Р., Зокирова Н. Б., Тухтаев Н. К., Тулеметов С. К. Оценка токсического эффекта воздействия малых доз пестицидов на основе изучения функции щитовидной железы //Методическое пособие. – Ташкент, 2014. –12 С. www.med.uz.

43. Тухтаев К. Р., Тулеметов С.К., Зокирова Н.Б., Тухтаев Н.К. Выявление токсического эффекта воздействия малых доз пестицидов на основе изучения оксидативного стресса //Руководство для научных работников и практических врачей. – Ташкент, 2014. – 12 С. www.med.uz.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали
тахририятида тахрирдан ўтказилди (14.10.2017 йил).

Босишга рухсат этилди: 07.12.2017 йил
Бичими 60x45 $^{1}/_{8}$, «Times New Roman»
гарнитурада рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табоғи 3,9. Адади: 100. Буюртма: № 352.

Ўзбекистон Республикаси ИИВ Академияси,
100197, Тошкент, Интизор кўчаси, 68

«АКАДЕМИЯ НОШИРЛИК МАРКАЗИ»
Давлат унитар корхонасида чоп этилди.