

DOI: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.21

# Ендокринні дизраптори — пренатальні чинники розладів репродуктивного здоров'я<sup>1</sup>

О.Г. Резніков,  
О.В. Сачинська,  
О.А. Фалюш,  
А.А. Лимарева,  
І.Г. Перчик

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

**Резюме.** В оглядовій статті висвітлюється проблема потенційної небезпеки ендокринних дизрапторів (ЕД) — хімічних забруднювачів довкілля, які здатні порушувати гормональний гомеостаз — для внутрішньоутробного плоду. Чимало ЕД, які потрапляють до організму вагітної, долають плацентарний бар'єр і становлять загрозу для розвитку плоду. Систематизовані дані основної літератури, що стосується пренатальних ефектів ЕД щодо розладів програмування нейроендокринної системи репродукції та поведінки, а також їх віддалених наслідків у людини й тварин. Негативні наслідки пренатального впливу ЕД виявляються навіть на тлі відсутності тератогенних ознак у новонароджених особин, що відповідає загальній концепції функціональної тератології. Особливу увагу приділено ефектам низьких доз, бо для багатьох ЕД характерною є відсутність прямої залежності біологічних ефектів від дози експозиції. Порівняння зі станом гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи (ГГАС) у потомства щурів, яке розвивалось в умовах експозиції вагітної матері до ЕД, показує вибірковість та уразливість саме системи репродукції в аспекті функціональних розладів. Система репродукції самців значно більш уразлива, порівняно з самицями. Перш за все, це виявляється при аналізі гормонального профілю і статевої поведінки. В огляді наведено результати власних досліджень щодо пренатальних ефектів дибутилфталату (ДБФ), ібупрофену та бісфенолу А (БФА). Вперше виявлено послаблення копулятивної поведінки в дорослих самців щурів на тлі нормальних рівнів статевих гормонів і кортикостерону внаслідок експозиції вагітних матерів до терапевтичних доз ібупрофену в критичному періоді статевої диференціації мозку (СДМ). У процесі експериментального дослідження пренатальних ефектів ДБФ вперше отримано дані про формування гіперандрогенного стану і гіперсексуальної поведінки в чоловічого потомства з наступною прискореною віковою інволюцією репродуктивних функцій. Субтератогенні дози БФА спричиняли в чоловічого потомства різко послаблені копулятивну поведінку і лордозні реакції в присутності нормального самця, а в самиць — гіпоестрогенію та псевдокопулятивну чоловічу поведінку. Таким чином, епігенетичні порушення програми СДМ унаслідок пренатального впливу ЕД у дозах, що не викликають тератогенних ефектів, мають бути враховані при ви-

<sup>1</sup> Стаття підготовлена за результатами виконання науково-дослідної роботи «Експериментальне дослідження репродуктивних, адаптивних та поведінкових ефектів пренатальної дії ендокринних дизрапторів» ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (№ державної реєстрації: 0120U100711).

## Фундаментальні дослідження

значенні потенційної небезпеки ЕД для репродуктивного здоров'я.

**Ключові слова:** Ендокринні дизраптори, дибутілфталат, бісфенол А, ібупрофен, пренатальна дія, репродуктивна система, статева поведінка, щури.

### ЕД і репродуктивне здоров'я

Поміж безлічі забруднювачів довкілля, які спричиняють негативний вплив на стан здоров'я людини й тварин, помітне місце посідають так звані ЕД, тобто «руйнівники» гормонального гомеостазу. Зазвичай мішенями ЕД є ендокринні залози, гормональні рецептори або ланцюги сигнальної трансдукції рецепторів і геном клітини [1].

Хоча ЕД привернули увагу дослідників ще на початку 90-х років минулого століття, справжній бум почався після появи книги Колборна, Думаноскі та Майєра «Наше вкрадене майбутнє...» [2]. Асоціація численних хвороб і патологічних станів із впливом ЕД визнана незаперечним фактом. Експозиція вагітних до ЕД може бути причиною розладів репродуктивного здоров'я потомства [3]. Особливістю патогенного впливу багатьох ЕД є відсутність прямої залежності «доза-ефект», що ускладнює встановлення порогових токсичних доз і передбачуваність реакції організму [4, 5].

Нейроендокринна система репродукції особливо уразлива до пренатальної дії ЕД. Статеву приналежність особини має суттєве значення у характері патологічних наслідків раннього впливу ЕД, зокрема, як причини розладів центральної нервової системи [6].

ЕД реалізують свою шкідливу дію різними шляхами, причетними до гормональної регуляції [3, 7]. Важливу патогенетичну роль відіграють модифікація генів і порушення фундаментальних біохімічних процесів, які забезпечують базові функції клітини-мішені.

Найчастіше геномні та негеномні ефекти ЕД здійснюються через рецептори естрогенів і андрогенів, до яких чимало з ЕД мають певну спорідненість [8]. Зокрема, БФА є прямим агоністом рецепторів естрогенів. Негеномні ефекти реалізуються через мембранні рецептори гормонів: ЕД інтерферують з кіназними сигнальними каскадами клітини. Геномні ефекти зумовлені зв'язуванням ЕД з

гормон-реагуючими елементами ядерної ДНК або епігенетичною модифікацією будови генів.

Одним із найбільш універсальних шляхів шкідливої дії ЕД є оксидативний стрес. Він характеризується надмірним утворенням вільних радикалів, активних форм кисню, що призводить до ушкодження функції та структури клітинних мембран і органел [9]. Зокрема, такі екологічні чинники порушують кількісний і якісний склад сперми завдяки розладам метаболізму в тканинах сім'яників [10]. Оксидативний стрес є важливим елементом патогенезу розладів гаметогенезу і безпліддя [11].

Особливу увагу привертають ЕД як потенційні патогенні чинники, які за умови контакту з ними вагітної жінки можуть долати плацентарний бар'єр і негативно впливати на формування нервової та ендокринної систем плоду. Незрілі системи детоксикації плода не здатні метаболізувати ЕД і тому не захищають його від негативного впливу. Тестикулярний протектор є однією з головних мішеней ЕД, порушення якого призводить до тяжких репродуктивних наслідків — недостатньої продукції тестостерону, дезорганізації сперматогенезу, неплідності тощо [12]. Доведено асоціацію підвищеної частоти народження хлопчиків із мікропенісом, гіпоспадією, крипторхізмом із присутністю в організмі вагітної жінки та плоду пестицидів на Північному Сході Бразилії, де їх використовують дуже інтенсивно [13]. Схожі дані стосовно впливу ЕД на розвиток репродуктивної системи отримали в Єгипті [14].

ЕД здатні порушувати залежне від гормонів програмування нейроендокринної системи репродукції внутрішньоутробного плоду. Попри відсутність у багатьох випадках тератогенних ефектів, тобто анатомічних вад розвитку, віддаленими наслідками пренатального впливу ЕД можуть бути розлади гормонального балансу і статевої поведінки. Останнє зумовлено порушеннями СДМ, яка відбувається в людини в другому триместрі вагітності, а в гризунів

наприкінці вагітності та протягом короткого періоду життя після народження [15, 16]. Сучасна наука розглядає подібні форми патології як епігенетичні модифікації програми індивідуального розвитку через механізми зміненої транскрипції завдяки метилуванню цитозингуанінових послідовностей у молекулах ДНК та таких посттрансляційних модифікацій гістонів як метилування, фосфорилування, ацетилювання та убіквітинуювання [17-19].

### **Методичні аспекти дослідження пренатальних ефектів ЕД**

Дослідження потенційної небезпеки ЕД для ендокринної системи, як і до інших фізіологічних систем, стикається з певними методичними труднощами. Вони зумовлені, по-перше, тим, що в реальному житті організми вагітної та плоду можуть зазнавати впливу не одного, а суміші ЕД, як то пестициди, хімічні пластифікатори, важкі метали тощо. Друга складність полягає у вже згаданій відсутності залежності біологічних ефектів ЕД від дози, через що низькі дози експозиції можуть спричинити тяжчі наслідки, ніж великі. Тому для досліджень ЕД використовують різні експериментальні моделі [20]. Ще один важливий фактор у вивченні ЕД полягає в тому, що навіть за відсутності очевидних тератогенних ефектів у новонароджених наслідки пренатальної експозиції до ЕД можуть виявлятися у віддалені періоди життя у вигляді функціональних розладів. Дослідження цих аспектів дії будь-яких пренатальних патогенних агентів отримали назву «функціональна тератологія» [16, 21]. Концепція функціональної тератології лягла в основу наших багаторічних експериментальних досліджень.

Дослідження проводились за прийнятою в нашому відділі стандартною схемою, яка полягає у введенні в шлунок щурів Вістар гіпотетичного патогенного агента в останній тиждень вагітності, тобто з 15 по 21 день, що відповідає найбільш чутливому (критичному) періоду формування нейроендокринної регуляції репродукції гризунів, і подальшому вивченні в самців і самиць термінів статевого дозрівання і стану репродуктивної та ГГАС у дорослих тварин. У тварин вимірювали аногенітальну відстань (АГВ), яка відображає баланс андрогенів та естрогенів під час внутрішньоутробного розвитку. Терміни статевого

дозрівання визначали в самців за опущенням гонад у мошонку, у самиць — за датою відкриття вагінального отвору. Ендокринний профіль оцінювали в статевозрілих щурів за рівнем статевих і адренкортикальних гормонів у плазмі крові. Реакцію ГГАС на стрес вивчали вимірюванням концентрації кортикостерону в плазмі крові після одноденної іммобілізації щурів порівняно з базальним рівнем в інтактних тварин. Після знеживлення тварин проводили морфологічне дослідження органів репродуктивної системи, а в деяких випадках — нейроендокринних структур гіпоталамуса. У вентральній простаті (ВП) і сім'яниках вимірювали кількість продуктів перекисного окислювання ліпідів, а в змивах епідидимісів — концентрацію сперматозоїдів.

Показники статевої поведінки за чоловічим типом у самців і самиць реєстрували в присутності рецептивної самиці, в якій за тиждень до цього видаляли яєчники, а потім викликали еструс послідовним введенням естрадіолу діацетату і прогестерону [22, 23]. Тестування проводили двічі з тижневим інтервалом, зважаючи на набуття тваринами сексуального досвіду. Поведінку самців за жіночим типом досліджували в присутності сексуально досвідченого самця, причому в них заздалегідь видаляли сім'яники, а перед тестуванням послідовно вводили естрадіолу діацетат і прогестерон. Такий експериментальний підхід давав змогу відповісти на питання про те, чи здатна нейроендокринна система самця активуватись, як у нормальних самиць, під впливом жіночих статевих гормонів, що є характерним для фемінізації мозку.

Поведінку самиць за жіночим типом характеризували кількістю лордозних реакцій на присутність чи наближення нормального самця, причому в них викликали еструс введенням жіночих статевих гормонів після оваріоектомії [24]. Для оцінки можливої маскулінізації мозку самиць як наслідку порушення його СДМ вивчали поведінку в присутності рецептивної самиці.

### **ДБФ**

Ефіри фталевої кислоти (відомі як «фталати») використовуються як пластифікатори та добавки для виробів з полівінілхлориду, нітроцелюлози та бетону і містяться в багатьох споживчих товарах. Усі складні ефіри

## Фундаментальні дослідження

ортофталевої кислоти, в яких аліфатичні бічні ланцюги мають довжину від трьох до восьми атомів вуглецю, або з циклічними бічними ланцюгами можуть знижувати рівень тестостерону і впливати на розвиток особини [25].

Основними фталатними забруднювачами навколишнього середовища є ді(2-етилгексил)фталат і ДБФ [26, 27]. Як ЕД фталати здійснюють помітний антиандроенний [28, 29] та слабкий естрогенний ефекти [30, 31]. Антиандроенна дія фталатів реалізується шляхом втручання в метаболізм чоловічих статевих гормонів [25].

Беручи до уваги гіпотезу про програмування ризиків для здоров'я протягом розвитку, основи якої були закладені ще в 90-х роках дослідженнями Barker et al. [32], особливу увагу заслуговують перинатальні ефекти фталатів. Пренатальні ефекти фталатів щодо редукції синтезу тестостерону добре схарактеризовані в плодів щурів. Гестаційний вплив фталатів, описаний у щурів, може призвести до так званого фталатного синдрому, який характеризується вадами розвитку чоловічих репродуктивних органів (придатка яєчка, сім'явивідної протоки, сім'яних пухирців, передміхурової залози та зовнішніх статевих органів), гіпоспадією та крипторхізмом, а також впливами на розвиток, такими як «розсмоктування» сосків (nipple-retention), зменшення АГВ. Серйозні вади розвитку репродуктивного тракту нащадків чоловічої статі спостерігаються при експозиції матерів до високих доз фталатів ( $\geq 500$  мг/кг маси тіла для ДБФ), тоді як зміни АГВ та «розсмоктування» сосків також відмічені й при нижчих дозах [33, 34]. Механізми розвитку фталатного синдрому, що спостерігаються в щурів після гестаційного впливу фталату, зумовлені зниженням у плода продукції тестикулярних андрогенів, зниженням передачі сигналу білка INSL3, який виробляється клітинами Лейдига і залучений до процесу опущення яєчок у мошонку, та впливом на розвиток зародкових клітин гермінативного епітелію [35]. Визначення критичних періодів експозиції для розвитку фталатного синдрому показало, що гестаційний період є найбільш чутливим, особливо під час так званого «вікна маскулінізації» [35, 36]. Гестаційна експозиція до нижчих доз фталатів ( $\leq 250$  мг/кг маси тіла для ДБФ) зазвичай не спричиняє у нащадків

анатомічних вад розвитку, однак викликає інтерес із точки зору функціональної тератології, адже деякі розлади репродуктивної системи й поведінки можуть проявитись лише після настання статевої зрілості. У літературі зустрічаються дані про порушення статевої поведінки в щурів, експонованих до фталатів протягом внутрішньоутробного розвитку та під час лактації, які не корелювали з морфологічними аномаліями; вони свідчать про порушення СДМ [37].

Пренатальні ефекти фталатів на розвиток репродуктивної системи нащадків жіночої статі досліджені значно менше. Ray B. et al. показали, що інтраперитоніальне введення дізобутилфталату на 10-й, 12-й та 14-й дні вагітності в дозах 375, 750 та 1250 мкг/кг порушує морфологію яєчників у дорослих нащадків [38]. Натомість в іншій роботі не виявлено впливу експозиції щурів до ДБФ у дозах 10, 100 або 600 мг/кг під час гестації та лактації на статевий розвиток, масу яєчників і матки та естральну циклічність, проте показано підвищення рівнів естрадіолу та прогестерону в нащадків, матері яких отримували ДБФ у найнижчій дозі, що може вплинути на фертильність щурів потомства першої генерації [39]. Hunter D. et al. показали, що в гіпоталамусах статевозрілого потомства жіночої статі самиць щурів, яким через день вводили ДБФ у дозі 500 мг/кг з 14-го дня гестації до 6 постнатального дня, на 24-й постнатальний день змінювалась експресія генів, пов'язаних зі статевою поведінкою та регуляцією осі гіпоталамус-гіпофіз-гонади [40]. Водночас автори не спостерігали змін статевої поведінки самиць та експресії, пов'язаних із нею генів *Cyp19a1*, *Ayp*, *Oxt*, *Esr2*, що кодують ароматазу, вазопресин, окситоцин і естрогенні рецептори  $\beta$  відповідно. З іншого боку, зміни експресії генів ГАМК-системи в секс-диморфних ділянках гіпоталамуса щурів внаслідок перинатальної дії суміші дизрапторів, що містила ДБФ [41], дозволяє припустити порушення статевої поведінки в самиць.

У ссавців СДМ відбувається під контролем фетальних тестикулярних андрогенів. У щурів критичний період цього процесу відповідає останньому тижню вагітності (15-21-й день гестації) і триває до 5-го постнатального дня. Беручи до уваги антиандроенну

активність фталатів, один із ризиків може бути пов'язаний із відхиленнями в статевій поведінці нащадків, експонованих до фталатів у критичний період СДМ. Ми припустили, що такого роду поведінкові аномалії можуть виникнути навіть після впливу низької дози фталату, яка не викликає істотних уражень репродуктивного тракту.

Враховуючи результати експериментів на щурах, проведених Національною токсикологічною програмою США (no observed adverse effect level, NOAEL) доза для ДБФ при пероральному застосуванні протягом 12-20 днів вагітності становила 66 мг/кг/добу [42]. Щоб виявити віддалені функціональні зміни нейроендокринної системи в нащадків, за відсутності суттєвих тератогенних ефектів, ми обрали дозу ДБФ 100 мг/кг. Детально результати дослідження віддалених ефектів пренатального застосування ДБФ у самців покоління F1 викладено в наших публікаціях [43-47].

У нащадків чоловічої статі на 2-й постнатальний день спостерігали вірогідне транзиторне зменшення АГВ. Статеве дозрівання нащадків обох статей у дослідних групах прискорювалось у середньому на 5,2 дня.

Дослідження віддалених ефектів ДБФ на самцях-нащадках показало, що в 6-місячному віці маса органів статевої системи та морфологічна будова ВП і сперматогенного шару сім'яників не відрізнялись від таких у контрольних тварин. Натомість морфологічні ознаки клітин Лейдига в сім'яниках цих тварин свідчили про їх функціональне напруження. Такі морфологічні відмінності корелювали з концентрацією тестостерону в плазмі крові, яка удвічі перевищувала показник контролю. Відсутність кореляції між масою додаткових статевих залоз та рівнем тестостерону в плазмі крові пояснюється тим, що, на відміну від препубертатного віку, після набуття статевої зрілості андрогени залишаються необхідними для підтримання їх структури та секреторної функції, але не посилюють проліферацію клітин в органах. З високим рівнем тестостерону в 6-місячних тварин у нашому дослідженні корелював підвищений на 20% вміст сперматозоїдів в епідидімісах. Виявлено посилення оксидативного стресу в сім'яниках піддослідних тварин, про що свідчило значне підвищення концентрації

продуктів перекисного окислювання ліпідів — малонового діальдегіду у 2,2 раза та дієнових кон'югатів в 1,4 раза.

У пренатально експонованих до ДБФ самців спостерігали гіперактивну чоловічу статеву поведінку в присутності сприйнятливої самки — скорочувалась тривалість латентних періодів першої садки та інтромісії, а також постеякуляційного рефрактерного періоду; збільшувалась кількість садок з інтромісією та еякуляцій. Таким чином, відкрито феномен гіперандрогенізму та гіперсексуальності в самців як результат пренатального впливу низьких доз ДБФ у критичний період СДМ.

Натомість у 18-місячних нащадків дослідної групи порівняно з контролем відповідного віку спостерігали значне погіршення показників стану репродуктивної системи — вірогідно зменшувалась маса додаткових статевих залоз в 1,7-2,0 рази, епідидімісів — на 20%; кількість сперматозоїдів знижувалась на 40%. У ВП цих тварин збільшувалась кількість десквамованих та апоптотичних епітеліальних клітин, тканинних базофілів та лейкоцитів; у сім'яниках кількість мікролейдігом в інтерстиціальному просторі зростала в середньому до 4-7 в органі проти 1-4 у контрольних тварин. На противагу молодим, у постарілих дослідних самців вміст тестостерону в плазмі крові знижувався більш ніж удвічі порівняно з контролем свого віку. Концентрація малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів зростала не лише в сім'яниках, а й у ВП. У цій групі тварин значно послаблювались мотиваційний і копулятивний та був відсутній еякуляційний компоненти чоловічої статевої поведінки.

Виявлена в нашій роботі гіперактивна сексуальна поведінка молодих самців-нащадків, які пренатально піддавалися низькій дозі ДБФ, була несподіваною, враховуючи протилежні результати інших авторів, які використовували вищі дози фталатів [48, 49]. Логічно пов'язувати ці зміни з підвищеним рівнем тестостерону в плазмі крові. Що стосується даних літератури з цього питання, то вони досить суперечливі. Результати вимірювання рівня тестостерону у дорослих самців, матерям яких вводили ДБФ у дозі 100 мг/кг маси тіла протягом останнього тижня вагітності та на початку післяпологового періоду, вказували як на відсутність змін [49], так і на зниження або

## Фундаментальні дослідження

навіть підвищення рівня тестостерону [50, 51]. Дворазове підвищення рівня тестостерону в плазмі в нашому дослідженні узгоджується з аналогічними спостереженнями останнього автора та вказує на значну гіперандрогенізацію тварин. Імовірно, це є рушійною силою індукованої ДБФ гіперсексуальності та, можливо, передчасного статевого дозрівання, оскільки тестостерон є гормональним активатором гіпоталамічних нейроендокринних центрів. У результаті відбувається стимуляція статевого потягу до самки, що виявлено в молодих піддослідних самців. Загалом, дані про поведінку та андрогенний статус молодих тварин вказують на надмірну маскулінізацію нейроендокринної системи, яка гіпотетично може бути пов'язана з індукованою ДБФ гіперсекрецією тестостерону яєчками внутрішньоутробного плода протягом критичного періоду СДМ. Аргументом на користь цього припущення є інформація про пряму стимулюючу дію низьких концентрацій ДБФ та його метаболіту монобутилфталату на синтез тестостерону в культурі клітин Лейдіга MLTC-1 мишей [52, 53]. Проте у високих концентраціях обидві сполуки інгібували стероїдогенез. Натомість у роботі Clewell RA et al. [54] є підтвердження припущення про транзиторну гіперсекрецію тестостерону яєчками плода щура за умов застосування ДБФ. Введення ДБФ самицям щурів у дозі 100 мг/кг маси тіла з 12 по 19 добу вагітності спричиняло пригнічення секреції тестостерону яєчками плода з подальшим швидким (протягом 24 год) відновленням рівня гормону в плазмі крові, а надалі – його зростанням вище вихідного рівня внаслідок ефекту відскоку. Ймовірно, що такий сплеск тестостерону в критичний СДМ чоловічого мозку може бути причиною його гіпермаскулінізації.

Аналогічні нашим дані про прискорене репродуктивне старіння самців, пренатально експонованих до ДБФ отримані при застосуванні діетилгексилфталату [55]. За даними літератури, і експозиція до фталатів, і старіння посилюють у клітинах Лейдіга оксидативний стрес, що може негативно вплинути на стероїдогенез [7, 56, 57]. Ймовірно, у постарілих тварин групи ДБФ існує адитивний ефект, викликаний ДБФ та віковим посиленням окисного стресу, що проявляється в прискореному

старінні репродуктивної системи. Певним доказом на підтримку цієї гіпотези може бути робота, в якій продемонстровано захисні ефекти вітаміну Е, відомого своїми антиоксидантними властивостями, щодо ушкоджень репродуктивної системи самців, пренатально експонованих до різних доз ДБФ [58].

Згідно з результатами наших досліджень, не виявлено зміни маси органів репродуктивної системи, гістологічної будови яєчників, тривалості та регулярності естральних циклів у дорослих самиць, пренатально експонованих до ДБФ. Однак у яєчниках цих тварин спостерігали тенденцію до зменшення в півтора раза загальної кількості фолікулів. Також у дорослих самиць групи ДБФ концентрація естрадіолу виявилась вірогідно вищою ( $0,10 \pm 0,01$  нмоль/л) порівняно з контрольними тваринами ( $0,07 \pm 0,0$  нмоль/л). Таке збільшення вмісту естрадіолу в плазмі крові тварин дослідної групи при наявній тенденції до зменшення кількості антральних фолікулів, ймовірно, пояснюється екстраваріальною конверсією андрогенів в естрогени. Це певною мірою узгоджується з вірогідно більшою масою тіла цих тварин, порівняно з контролем, а жирова тканина, як відомо, містить ароматазу – фермент, що здійснює перетворення тестостерону на естрадіол.

Аналогічні зміни вмісту статевих гормонів спостерігали Li X et al [59]. Натомість інші дослідники не виявили змін вмісту статевих гормонів у дорослих самиць, що зазнали пренатального впливу ДБФ [60, 61]. Можливо, такі розбіжності пов'язані з тим, що проби для аналізу брались під час різних стадій естрального циклу. Дослідження статевої поведінки самиць показало, що введення ДБФ щурам протягом останнього тижня вагітності в нащадків жіночої статі призводить до маскулінізації статевої поведінки, проте не супроводжується її дефемінізацією. Наскільки нам відомо, лише в трьох дослідженнях вивчалась статева поведінка самиць, перинатально експонованих до ДБФ. У двох із них лордозний коефіцієнт дослідних самиць, які перебували в стадії еструсу, не відрізнявся від контрольної групи [40, 62]. Враховуючи велику варіабельність рівнів естрадіолу протягом естральних циклів, що може викликати різницю в рівнях рецетивності між самицями, ми досліджували

статеву поведінку за нормалізованих гормональних рівнів шляхом оваріоектомії та наступного введення естрадіолу і прогестерону і теж не виявили різниці кількості лордозів тварин контрольної та дослідної груп. Натомість Lee et al., які проводили спостереження у тварин у стадії проєструсу, повідомили про нижчий коефіцієнт лордозу в дослідних самцях [60].

Маскулінізація статевої поведінки самиць дослідної групи проявлялась у появі садок на рецептивну самицю. У жодної самиці контрольної групи такої поведінки не спостерігали.

Таким чином, пренатальна експозиція щурів до ДБФ протягом критичного періоду СДМ у дозі, яка не призводить до анатомічних вад розвитку, спричиняє негативний вплив на пренатальне програмування нейроендокринної системи репродукції у тварин обох статей. Проте в самців такі зміни більш виражені.

### **Ібупрофен**

Завдяки протизапальним і анагетичним властивостям ібупрофен є одним із найбільш уживаних безрецептурних нестероїдних протизапальних засобів. Механізм його дії полягає в неселективному інгібуванні циклооксигенази, ключового ензиму в синтезі простагландинів, які є медіаторами запалення, болю, температурних реакцій. За чинною інструкцією з медичного застосування, у перші два триместри вагітності слід утримуватись від приймання ібупрофену, за винятком крайньої необхідності. Але за наявності головного болю, запалення суглобів або гарячки вагітні жінки приймають ібупрофен, навіть попри термін вагітності. У США ібупрофен приймає майже кожна п'ята вагітна жінка, що відбивається на розвитку і поведінці дитини. У норвезькій популяції його вживають 5,9% вагітних [63], а у Великій Британії цей відсоток сягає 28% [64].

У плодів людини ібупрофен може викликати серцеві, судинні та діафрагмальні дефекти тощо [65, 66]. Майже всі дослідники погоджуються, що приймання ібупрофену не створює великого ризику розвитку крипторхізму [67, 68], хоча в дослідженнях *in vitro* на клітинних культурах і на ксенографтах ібупрофен гальмував стероїдогенез у тестикулах і порушував сперматогенез [64]. Повідомлялось про зменшення секреції тестостерону та якісних і кількісних параметрів сім'яної рідини в дорослих

мишей, народжених від матерів, що отримували ібупрофен під час вагітності [69]. Що стосується віддалених репродуктивних, ендокринних і поведінкових ефектів пренатального впливу ібупрофену, то вони досліджені вкрай недостатньо.

Досі відома лише одна, крім нашої, дослідницька робота стосовно перинатальних ефектів ібупрофену [70]. Введення ібупрофену матерям щурів-самців протягом останнього тижня вагітності не впливало на чоловічу статеву поведінку, натомість самці демонстрували ознаки жіночої поведінки в присутності нормального самця, що може вказувати на порушення СДМ. У тварин зменшувались рівень тестостерону в крові, розміри ядер клітин Лейдіга, відсоток сперматозоїдів із нормальною морфологією.

Вихідною гіпотезою наших досліджень стало припущення, що за певних умов інгібування синтезу простагландинів ібупрофеном у чоловічого потомства можуть виникати розлади чоловічої статевої поведінки. Це припущення базувалось на відомих фактах участі простагландинів в андрогензалежній СДМ у самців під час критичного періоду цього процесу [71, 72]. Натомість питання про потенційну небезпеку пренатального впливу інгібіторів циклооксигенази щодо андрогензалежної СДМ у самців залишається відкритим. Dean et al. [73] повідомили про відсутність змін рівня тестостерону й ознак крипторхізму в самців мишей, народжених матерями, які отримували ібупрофен протягом 15,5-18,5 днів вагітності, що відповідає критичному періоду СДМ, але вони не досліджували статеву поведінку. На додачу до стану репродуктивної системи, нами досліджувалась також функція ГГАС, тому що цей аспект пренатального впливу ібупрофену залишався невідомим.

Згідно з отриманими результатами, введення ібупрофену самицям щурів Вістар протягом останнього тижня гестації в дозі 30 мг/кг маси тіла двічі на день (враховуючи швидке виведення з організму) частково порушує нейроендокринне програмування чоловічої копулятивної поведінки в нащадків чоловічої статі без змін у статевій поведінці жіночого типу [74, 75]. Статеве дозрівання самців у дослідній групі наставало дещо раніше порівняно з контрольною групою. Пренатальна

## Фундаментальні дослідження

дія ібупрофену викликала неповну маскулінізацію копулятивної поведінки в дорослих нащадків. Про це свідчило різке зниження сексуальної мотивації та здатності самців спаровуватися з самками, що стосувалось усіх досліджуваних показників, які характеризують центральні та периферичні компоненти регуляції статевої поведінки. Тривалість латентних періодів першої садки та першої інтромісії в першій сесії тестування збільшувалася в 3-4 рази, у другій, тобто через тиждень, ці зміни були ще більш драматичними. У щурів не спостерігалось еякуляції, а кількість садок з інтромісією зменшувалася в 6,5 рази. Тривалість латентних періодів першої інтромісії збільшилася у 23 рази, латентний період першої інтромісії подовжився в 14 разів, кількість садок з інтромісією зменшилася. Усі ці зміни відбувалися на тлі нормальних базальних рівнів статевих стероїдів — тестостерону й естрадіолу в плазмі крові. Ібупрофен не вплинув на концентрацію сперматозоїдів у змивах епідимісів, але збільшив концентрацію малонового діальдегіду в сім'яниках і ВП, що є ознаками порушення перекисного окислювання ліпідів. Базальні концентрації кортикостерону в плазмі крові статистично не відрізнялись у дослідній та контрольній групах, а реакція ГГАС на іммобілізаційний стрес також не змінювалась: рівень кортикостерону зростав у 3-6 разів.

Слід зауважити, що деякі дослідники спостерігали зменшення рівня тестостерону в дорослих тварин, пренатально експонованих до ібупрофену [69, 70]. Крім того, наші дані суперечать результатам дослідження Valin et al. [70], які повідомили про збереження чоловічої статевої поведінки та її фемінізацію в самців, що зазнали пренатального впливу ібупрофену в ті самі терміни внутрішньоутробного життя і в майже такій самій дозі (але раз на день), як і в наших експериментах. Натомість у нашому дослідженні піддослідні самці не демонстрували лордозні реакції в присутності нормального самця. Ймовірно, різні результати зумовлені різними схемами введення ібупрофену і різними добовими дозами.

Виявлена нами неповна маскулінізація статевої поведінки в умовах пренатального інгібування циклооксигенази ібупрофеном може бути пов'язана з гальмуванням синтезу простагландину  $E_2$ , який є ймовірним медіатором

у ланцюжку програмувального сигналу тестостерону в мозку плоду. Є підстави вважати, що маскулінізація мозку плодів самців щурів відбувається завдяки кооперативній дії естрадіолу, який утворюється з тестикулярного тестостерону, та простагландину  $E_2$ , синтез якого стимулюється естрадіолом у мікроглії преоптичної області гіпоталамуса плоду. З'ясувалось, що одну з ключових ролей у ранній андрогензалежній маскулінізації мозку і поведінки відіграють тучні клітини: вони стимулюють синтез простагландину  $E_2$  в мікроглії, результатом чого є зміна нейроанатомічної архітекτονіки мозку самців щурів, зокрема, ріст дендритів [72, 76, 77].

Простагландини синтезуються в мембранах клітин з арахідонової кислоти за участю двох ферментів — циклооксигеназ 1 і 2, а також специфічної термінальної синтази. Одним з аргументів їхньої участі в програмуванні мозку в напрямку маскулінізації є той факт, що рівень обох ферментів у преоптичній області мозку новонароджених самців щурів є вищим за такий у самиць [78]. Крім того, рівень простагландину  $E_2$  збільшується в сім разів під впливом перинатально застосованого естрадіолу завдяки індукції циклооксигеназ. Це призводить до дворазового збільшення щільності розподілу дендритів у преоптичній ділянці мозку самців щурів та рівня спінофіліну, специфічного білка дендритів [77]. Увагу дослідників привернули  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонова кислота та каїнат (агоністи глутаматних рецепторів каїнатного типу) як можливих посередників маскулінізуючої дії EP2 та EP4 в процесі СДМ. Вони взаємодіють із білками динамічних іонних каналів у нервовій системі та стимулюють індуковане простагландином  $E_2$  утворення дендритних паростків. Перинатальне застосування агоністів глутаматних рецепторів у самиць щурів спричинило маскулінізацію мозку, що виявилось у появі чоловічої статевої поведінки. Отже, протеїнкіназа А є необхідною для стимуляції простагландином  $E_2$  утворення спінофіліну в преоптичній ділянці незрілого мозку, і, відповідно, програмування чоловічої статевої поведінки. Цей процес відбувається за участю  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти/каїнату і метаботропних глутаматних рецепторів типів I і II [79].

Не менш імовірним поясненням патогенної дії пренатально застосованого ібупрофену є гальмівний вплив даного лікарського засобу на ферменти біосинтезу стероїдів CYP11A1, CYP17A1 і HSD17B3 в тестикулах внутрішньоутробного плоду, що було продемонстровано в експериментах із культивуванням і експлантами тестикул плодів людини, починаючи з восьмого тижня вагітності, коли заплоти починають утворювати тестостерон [64], а також в аналогічних експериментах *ex vivo* з тестикулами дорослих людей [80]. Також у цій роботі було показано, що за даними клінічних спостережень, ібупрофен може викликати в чоловіків стан компенсованого гіпогонадізму.

Наявність в організмі чоловічих плодів людини й тварин у критичному періоді СДМ тестостерону є імперативною умовою нормально перебігу цього процесу. Отже, «створений» ібупрофеном дефіцит тестостерону дійсно може бути важливим механізмом розладів програмування чоловічої статевої поведінки.

Існують дані про негативний пренатальний вплив ібупрофену на формування статевої поведінки й репродуктивний потенціал самиць щурів. Введення ібупрофену в дозах від 10 до 60 мг/кг маси тіла з 15 дня вагітності та протягом лактаційного періоду негативно вплинуло на плідність дорослого жіночого потомства і гальмувало лордозні реакції, тобто жіночу статево поведінку [81].

Отримані нами результати вкупі з даними літератури відповідають загальній концепції функціональної тератології та налаштовують на більш обережне застосування ібупрофену в період вагітності, що має зменшити ризики репродуктивної, нейроендокринної й нейропсихологічної патології в потомства.

### **БФА**

Значну увагу серед ЕД приділяють БФА. Крім помітної естрогенної активності, він виявляє певну спорідненість до рецепторів андрогенів, тиреоїдних гормонів, активатора пероксисом. За останні 20 років БФА став одним із найбільш досліджених ЕД, оскільки це одна з найпоширеніших хімічних речовин у світовому виробництві. БФА переважно використовується у виробництві пластмас і смол, які можна знайти в різноманітних споживчих і промислових товарах, таких як епоксидні смоли, полікарбонат, картон, стоматологічні

матеріали та медичні пристрої, алюмінієві банки, термоси (внутрішнє покриття).

БФА виявляють у материнській крові, амніотичній рідині та крові плода [82]. Підтверджено, що БФА може проникати через плаценту [83], а також його виявляють у молоці матері [84]. Повідомлялося, що БФА втручається в метаболізм і передачу сигналів ендогенних стероїдних гормонів, зокрема естрогенів, і численні дослідження на багатьох видах тварин показали, що БФА може порушувати СДМ і поведінку навіть у низьких дозах [6, 85-87].

Дослідження на тваринах свідчать про те, що перинатальне введення БФА самицям щурів знижує фертильність дорослих нащадків-самців покоління F1, зменшуючи кількість та рухливість сперматозоїдів, посилюючи апоптоз і пошкоджуючи ДНК гамет [88-89]. Продемонстровано зменшення АГВ у новонароджених самців та самиць щурів, які пренатально зазнали дії низьких доз БФА [90]. Ці дані відрізняються від результатів дослідження Ferguson SA et al. [91], у якому пренатальний вплив БФА у вищій дозі не призводив до змін АГВ, що вказує на вже згадувану вище відсутність залежності ефектів дизраптора від дози.

У дорослих мишей перинатальний вплив БФА зумовив зміни АГВ, затримку статевого розвитку, зниження концентрації сироваткового та внутрішньотестикулярного тестостерону, порушення розвитку ячок і сперматогенезу, зміну біохімічних властивостей сперматозоїдів, зменшення їх кількості та рухливості [92-95]. Також є повідомлення про зв'язок між пренатальним впливом БФА та раннім настанням статевого дозрівання в нащадків жіночої статі [96].

Пренатальний вплив БФА знижував рівень тестостерону в самців мишей і підвищував рівень естрадіолу в самиць, а також спричинив пошкодження сім'яників та яєчників [97].

Безпосередній вплив БФА на розвиток фолікулярного апарату яєчників плода не викликає сумнівів, оскільки зафіксований у численних дослідженнях [89]. Показано, що введення БФА під час вагітності та лактації призводить до зменшення кількості примордіальних фолікулів в яєчниках нащадків і збільшення кількості жовтих тіл. Це супроводжувалось зростанням рівня прогестерону в плазмі крові та

## Фундаментальні дослідження

активності  $3\beta$ -гідроксистероїддегідрогенази в гонадах, дисбалансом рецепторів андрогенів між різними типами фолікулів і збільшенням кількості рецепторів фолікулостимулюючого гормону [98]. Також перинатальний вплив БФА зменшив кількість первинних, преантральних і загальної кількості фолікулів на 21-й постнатальний день [99]. У дослідженні, проведеному на мишах, пренатальна експозиція до БФА зменшувала кількість примордіальних фолікулів на 4-й постнатальний день [100]. Проте інше дослідження показало, що пренатальний вплив БФА збільшив загальну кількість фолікулів у самиць щурів [101]. Будь-які відмінності у впливі БФА на конкретні популяції фолікулів, ймовірно, пов'язані з різними дозами та часом впливу, які використовувалися в різних дослідженнях на гризунах.

Репродуктивна поведінка обох статей є досить чутливою до пренатального впливу БФА. Проявами сексуальної дисфункції в самців щурів після перинатальної дії БФА були пролонгація латентного періоду контакту з самкою, порушення копулятивної поведінки у вигляді зменшення кількості інтромісій та еякуляцій [102]. В іншій роботі повідомлялось про пригнічення статевої поведінки в самців щурів та відсутність змін статевої поведінки в жіночого потомства [103]. Деякі дослідження демонструють збільшення кількості лордозів і сексуальної мотивації та підвищення коефіцієнта лордозу в дорослих самиць, які зазнали пренатальної експозиції до БФА [102, 104].

Розлади статевої поведінки, при пренатальному впливі БФА можна розцінювати як порушення СДМ. Нейроендокринним центром СДМ є медіально-преоптичне ядро гіпоталамуса [16]. Як уже згадувалось, критичний період СДМ у гризунів охоплює пізню вагітність і кілька днів після пологів. Повідомлялося, що в самців щурів, матері яких отримували БФА, збільшився розмір статево-диморфних ядер преоптичної ділянки гіпоталамуса, що може свідчити про надмірну маскулінізацію мозку, що розвивається [105]. Навпаки, за іншими даними, перинатальне введення БФА призводило до помітного зменшення розмірів цих ядер у самців [106], що може свідчити про порушення СДМ. В інших дослідженнях не було виявлено

жодних змін у розмірах цієї гіпоталамічної структури [107, 108].

Результати наших досліджень показують, що введення БФА самицям щурів Вістар у щоденній дозі 25 мкг/кг, яка у 200 разів менша за NOAEL, протягом 15-21 днів вагітності не спричиняє суттєвих анатомічних (тератогенних) ефектів розвитку, за винятком збільшення АГВ у самців та самиць нащадків F1 на 10-й постнатальний день порівняно з контролем. Пренатально застосований БФА не впливав на терміни статевого дозрівання в нащадків обох статей.

Дослідження рівня стероїдних гормонів плазми крові самців та самиць у віці 6 місяців не виявило порушень гормонального гомеостазису, за винятком концентрації естрадіолу в самиць, яка була вірогідно нижчою у тварин, що зазнали пренатальної дії БФА. Отримані нами результати відрізняються від даних Moustafa та Ahmed, які спостерігали підвищення вмісту естрадіолу, спричинене пренатальною дією БФА в щурів [109]. Водночас Mahalingam та ін. спостерігали аналогічні нашим зміни рівня статевих гормонів [110]. Дослідження, проведене в рамках Консорціума, що поєднує академічні та нормативні відомості про токсичність ВРА (Consortium Linking Academic and Regulatory Insights on ВРА Toxicity, CLARITY-ВРА), не виявило впливу перинатального введення БФА на рівень естрадіолу в самиць щурів різного віку [99].

У наших дослідженнях пренатальне застосування БФА не впливало на будову сперматогенного шару порівняно з контрольною групою тварин. Проте в дослідженні інших авторів, проведеному на лінії щурів Long-Evans, пренатальне застосування БФА спричиняло в 35-денних самців руйнування сперматогенного епітелію, що проявлялося дезорганізацією та атрофією статевих клітин у сім'яних каналцях [111]. Nass та ін. [112] у своїй роботі показали, що в самців віком 3 міс. значно зменшувалась кількість сперматозоїдів при найнижчій протестованій ними дозі. У цілому їх гістологічне дослідження сім'яників та ВП не виявило суттєвих відмінностей між контрольною та дослідними групами, що збігається з нашими даними. В яєчниках тварин, що зазнали експозиції до БФА, спостерігали дегенерацію фолікулярного епітелію у вторинних фолікулах.

Деякі автори також відзначають дегенеративні зміни фолікулярного епітелію, але внаслідок тривалішої дії та вищих доз БФА, коли порушення були більш виражені [109].

За нашими даними, у сім'яниках самців щурів, які зазнали пренатальної дії БФА, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів — малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів — вірогідно збільшувався порівняно з контрольною групою. У ВП вміст малонового діальдегіда був вірогідно вищим порівняно з контролем.

Введення БФА самкам щурів протягом останнього тижня вагітності майже повністю гальмує прояви копулятивних компонентів чоловічої статевої поведінки в дорослого чоловічого потомства. Важливо підкреслити, що пренатально застосований БФА зумовлює аномалії статевої поведінки в дорослих тварин на тлі нормального рівня тестостерону в плазмі крові [113]. Результати морфологічного та каріометричного досліджень демонструють зменшення функціональної активності нейроцитів медіально-преоптичного ядра гіпоталамуса в самців. Ці зміни корелюють із гальмуванням чоловічої статевої поведінки, тому що нейроендокринний центр її регуляції розташований саме в преоптичній ділянці гіпоталамуса гризунів.

На тлі відсутності змін жіночої статевої поведінки в дорослих самок нащадків, що зазнали пренатального впливу БФА, спостерігали прояви чоловічої статевої поведінки у вигляді садок і псевдокопулятивних рухів. Результати морфологічного дослідження медіально-преоптичного ядра збігаються з отриманими даними щодо маскулінізації статевої поведінки самиць внаслідок пренатального впливу БФА, з одночасним збереженням типової поведінки за жіночим типом. Оскільки маскулінізація мозку відбувається за безпосередньої участі естрогенних посередників [15], отримані результати стосовно зменшення функціональної активності нейроцитів медіально-преоптичного ядра в самців та маскулінізації мозку самиць, які зазнали пренатальної експозиції БФА, можуть пояснюватись його естрогенною активністю. Таким чином, є підстави вважати, що наднизькі дози БФА небезпечні для репродуктивного здоров'я нащадків, які пренатально піддавалися дії цього ЕД.

## Висновок

Дані літератури та результати власних досліджень свідчать про епігенетичні порушення програми СДМ унаслідок пренатального впливу ДБФ, ібупрофену, БФА та інших ЕД у дозах, що не викликають тератогенних ефектів і, отже, мають бути враховані при визначенні потенційної небезпеки ЕД для репродуктивного здоров'я.

## Список використаної літератури

1. Reznikov AG. Reproductive targets of endocrine disruptors. *Reprod Endocrinol.* 2014;17:14-21. doi: 10.18370/2309-4117.2014.17.14-21. Russian.
2. Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. Our stolen future: are we threatening our fertility, intelligence, and survival?—A scientific detective story. New York: EP Dutton, 1996. 306 p.
3. Marques-Pinto A, Carvalho D. Human infertility: are endocrine disruptors to blame? *Endocr Connect.* 2013 Sep 17;2(3):R15-29. doi: 10.1530/EC-13-0036.
4. Welshons WV, Nagel SC, Saal FS. Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology.* 2006 Jun;147(6 Suppl):S56-69. doi: 10.1210/en.2005-1159.
5. Prins GS, Patisaul HB, Belcher SM, Vandenberg LN. CLARITY-BPA academic laboratory studies identify consistent low-dose Bisphenol A effects on multiple organ systems. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2019 Aug;125(Suppl 3):14-31. doi: 10.1111/bcpt.13125
6. Rebuli ME, Patisaul HB. Assessment of sex specific endocrine disrupting effects in the prenatal and pre-pubertal rodent brain. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016 Jun;160:148-59. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.08.021.
7. Sidorkiewicz I, Zaręba K, Wołczyński S, Czerniecki J. Endocrine-disrupting chemicals—Mechanisms of action on male reproductive system. *Toxicol Ind Health.* 2017 Jul;33(7):601-9. doi: 10.1177/0748233717695160.
8. Lee HR, Jeung EB, Cho MH, Kim TH, Leung PC, Choi KC. Molecular mechanism(s) of endocrine-disrupting chemicals and their potent oestrogenicity in diverse cells and tissues that express oestrogen receptors. *J Cell Mol Med.* 2013 Jan;17(1):1-11. doi: 10.1111/j.1582-4934.2012.01649.x.
9. Барабой ВА, Резніков ОГ. Фізіологія, біохімія і психологія стресу. К.: Інтерсервіс; 2013. 314 с. (Baraboy VA, Reznikov OG. Physiology, biochemistry and psychology of stress. K Interservice, 2013. 314 p. Ukrainian.)
10. Tsebrzhinsky OI, Pochernyaeva VF, Dmitrenko NA. Prooxidant-antioxidant system of testicles and sperm. *Poltava, 2008.* 101 p. Russian.
11. Aitken RJ, Bromfield EG, Gibb Z. Oxidative stress and reproductive function: The impact of oxidative stress on reproduction: a focus on gametogenesis and fertilization. *Reproduction.* 2022 Oct 26;164(6):F79-94. doi: 10.1530/REP-22-0126.
12. Wan HT, Mruk DD, Wong CK, Cheng CY. Targeting testis-specific proteins to inhibit spermatogenesis: lesson from endocrine disrupting chemicals. *Expert Opin Ther Targets.* 2013 Jul;17(7):839-55. doi: 10.1517/14728222.2013.791679.
13. Gaspari L, Sampaio DR, Paris F, Audran F, Orsini M, Neto BJ, et al. High prevalence of micropenis in 2710 male newborns from an intensive-use pesticide area of Northeastern Brazil. *Int J Androl.* 2012 Jun;35(3):253-64. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01241.x.
14. Kholly ME, Hamza RT, Saleh M, Elsedfy H. Penile length and genital anomalies in Egyptian male newborns: epidemiology and influence of endocrine disruptors. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2013;26(5-6):509-13. doi: 10.1515/jpem-2012-0350.
15. Reznikov AG. Hormone-neurotransmitter imprinting in the neuroendocrine control of reproduction. New York: Harwood Academic Publishers; 1994. 90 p.
16. Резніков О.Г. Перинатальне програмування розладів ендокринних

## Фундаментальні дослідження

- функції і поведінки. К.: Наукова думка; 2019. 271 с. (Reznikov AG. Perinatal programming of disorders of endocrine functions and behavior. Kyiv: Naukova dumka, 2019. 271 p. Ukrainian).
17. Perera F, Herbstman J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease. *Reprod Toxicol.* 2011 Apr;31(3):363-73. doi: 10.1016/j.reprotox.2010.12.055.
  18. Doshi T, Mehta SS, Dighe V, Balasinar N, Vanage G. Hypermethylation of estrogen receptor promoter region in adult testis of rats exposed neonatally to bisphenol A. *Toxicology.* 2011 Nov 18;289(2-3):74-82. doi: 10.1016/j.tox.2011.07.011.
  19. Vaiserman A. Early-life exposure to endocrine disrupting chemicals and later-life health outcomes: an epigenetic bridge? *Aging and Disease.* 2014 Jan 28;5(6):419-29. doi: 10.14336/AD.2014.0500419.
  20. Boizet-Bonhoure B, Déjardin S, Rossitto M, Poulat F, Philibert P. Using Experimental models to decipher the effects of acetaminophen and NSAIDs on reproductive development and health. *Front Toxicol.* 2022 Mar 8;4:835360. doi: 10.3389/ftox.2022.835360
  21. Reznikov AG. Developmental neuroendocrinology of reproduction and adaptation: lessons from animal research. *Fiziol Zh.* 2021;67(3):54-74. doi: 10.15407/fz67.03.054.
  22. Holson RR, Gough B, Sullivan P, Badger T, Sheehan DM. Prenatal dexamethasone or stress but not ACTH or corticosterone alter sexual behavior in male rats. *Neurotoxicol Teratol.* 1995 Jul-Aug;17(4):393-401. doi: 10.1016/0892-0362(94)00074-n.
  23. Hull EM, Dominguez JM. Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav.* 2007 Jun;52(1):45-55. doi: 10.1016/j.yhbeh.2007.03.030.
  24. Canchola E, Rodríguez-Medina M, Dueñas-Tentori H, Mercado E, Rosado A. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin system: participation in the progesterone-induced facilitation of lordosis behavior in the ovariectomized estrogen-primed rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1996 Jun;54(2):403-7. doi: 10.1016/0091-3057(95)02086-1.
  25. Li H, Spade DJ. Reproductive toxicology: environmental exposures, fetal testis development and function: phthalates and beyond. *Reproduction.* 2021 Oct 5;162(5):F147-67. doi: 10.1530/REP-20-0592.
  26. Gao DW, Wen ZD. Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. *Sci Total Environ.* 2016 Jan 15;541:986-1001. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.09.148.
  27. Szweczyńska M, Dobrzyńska E, Pośniak M. Determination of phthalates in particulate matter and gaseous phase emitted in indoor air of offices. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021 Nov;28(42):59319-27. doi: 10.1007/s11356-020-10195-3.
  28. Doyle TJ, Bowman JL, Windell VL, McLean DJ, Kim KH. Transgenerational effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on testicular germ cell associations and spermatogonial stem cells in mice. *Biol Reprod.* 2013 May 2;88(5):112. doi: 10.1095/biolreprod.112.106104.
  29. Martino-Andrade AJ, Liu F, Sathyanarayana S, Barrett ES, Redmon JB, Nguyen RH, et al. Timing of prenatal phthalate exposure in relation to genital endpoints in male newborns. *Andrology.* 2016 Jul;4(4):585-93. doi: 10.1111/andr.12180.
  30. Filipiak E, Walczak-Jędrzejowska R, Krupiński M, Oszukowska E, Marchlewska K, Długoński J, et al. Di(n-butyl) phthalate has no effect on the rat prepubertal testis despite its estrogenic activity *in vitro*. *Folia Histochem Cytobiol.* 2011;49(4):685-9. doi: 10.5603/fhc.2011.0092.
  31. Chen X, Xu S, Tan T, Lee ST, Cheng SH, Lee FW, et al. Toxicity and estrogenic endocrine disrupting activity of phthalates and their mixtures. *Int J Environ Res Public Health.* 2014 Mar 14;11(3):3156-68. doi: 10.3390/ijerph110303156.
  32. Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet.* 1993 Apr 10;341(8850):938-41. doi: 10.1016/0140-6736(93)91224-a.
  33. Fisher JS, Macpherson S, Marchetti N, Sharpe RM. Human 'testicular dysgenesis syndrome': a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Hum Reprod.* 2003 Jul;18(7):1383-94. doi: 10.1093/humrep/deg273.
  34. Foster PM. Disruption of reproductive development in male rat offspring following *in utero* exposure to phthalate esters. *Int J Androl.* 2006 Feb;29(1):140-7. doi: 10.1111/j.1365-2605.2005.00563.x.
  35. Blessinger TD, Euling SY, Wang L, Hogan KA, Cai C, Klinefelter G, et al. Ordinal dose-response modeling approach for the phthalate syndrome. *Environ Int.* 2020 Jan;134:105287. doi: 10.1016/j.envint.2019.105287.
  36. Driesche S, Kilcoyne KR, Wagner I, Rebouret D, Boyle A, Mitchell R, et al. Experimentally induced testicular dysgenesis syndrome originates in the masculinization programming window. *JCI Insight.* 2017 Mar 23;2(6):e91204. doi: 10.1172/jci.insight.91204.
  37. Moore RW, Rudy TA, Lin TM, Ko K, Peterson RE. Abnormalities of sexual development in male rats with *in utero* and lactational exposure to the antiandrogenic plasticizer Di(2-ethylhexyl) phthalate. *Environ Health Perspect.* 2001 Mar;109(3):229-37. doi: 10.1289/ehp.01109229.
  38. Ray B, D'Souza AS, Kumar V, Pugazhandhi B, D'Souza MR, Nayak D, et al. Ovarian development in Wistar rat treated prenatally with single dose diisobutyl phthalate. *Bratisl Lek Listy.* 2012;113(10):577-82. doi: 10.4149/blil\_2012\_129.
  39. Xie Z, Wang J, Fen Dai F, Jin X, Kele Wu K, Chen Q, et al. Effects of maternal exposure to di-n-butyl phthalate during pregnancy and breastfeeding on ovarian development and function of F1 female rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2016 Apr;43:38-43. doi: 10.1016/j.etap.2016.01.022.
  40. Hunter D, Heng K, Mann N, Anand-Ivell R, Ivell R. Maternal exposure to dibutyl phthalate (DBP) or diethylstilbestrol (DES) leads to long-term changes in hypothalamic gene expression and sexual behavior. *Int. J. Mol. Sci.* 2021 Apr 17;22(8):4163. doi: 10.3390/ijms22084163.
  41. Lichtensteiger W, Bassetti-Gaille C, Faass O, Axelstad M, Boberg J, Christiansen S, et al. Differential gene expression patterns in developing sexually dimorphic rat brain regions exposed to antiandrogenic, estrogenic, or complex endocrine disruptor mixtures: glutamatergic synapses as target. *Endocrinology.* 2015 Apr;156(4):1477-93. doi: 10.1210/en.2014-1504.
  42. Zhang Y, Jiang X, Chen B. Reproductive and developmental toxicity in F<sub>1</sub> Sprague-Dawley male rats exposed to di-n-butyl phthalate *in utero* and during lactation and determination of its NOAEL. *Reprod Toxicol.* 2004 Jul;18(5):669-76. doi: 10.1016/j.reprotox.2004.04.009.
  43. Резніков ОГ, Сачинська ОВ, Лимарева АА, Фалюш ОА, Перчик ІГ. Гіперсексуальна поведінка та гіперандрогенізм у самців щурів F<sub>1</sub>, спричинені введенням дібутилфталату вагітним самцям. *Фізіол журн.* 2017;63(5):13-20 (Reznikov AG, Sachynska OV, Limareva AA, Falyush OA, Perchik IG. Hypersexual behavior and hyperandrogenism in F<sub>1</sub> male rats caused by dibutylphthalate treatment of pregnant mothers. *Fiziol Zh.* 2017;63(5):13-20. Ukrainian). doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.05.013>.
  44. Резніков ОГ, Сачинська ОВ, Лимарева АА. Вікова динаміка змін статевої поведінки й андрогенного статусу в самців щурів, спричинених пренатальною експозицією до низьких доз дібутилфталату. *Журнал Національної академії медичних наук України.* 2019;25(3):260-7 (Reznikov AG, Sachynska OV, Lymareva AA. Age dynamics of changes in sexual behavior and androgen status of male rats caused by prenatal exposure to low dose dibutylphthalate. *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.* 2019;25(3):260-7. Ukrainian).
  45. Reznikov A, Sachynska O, Lymareva A, Faliush O. Developmental, behavioral and endocrine alterations in male rats at early and late postnatal life following *in utero* exposure to low dose di-n-butylphthalate. *Toxicol Res.* 2020 Jul 6;37(2):173-81. doi: 10.1007/s43188-020-00050-5.
  46. Резніков ОГ, Лимарева АА. Зміни перекисного окислення ліпідів у репродуктивних органах самців щурів внаслідок трансплацентарної дії хімічних ендокринних дизрапторів. *Журнал Національної академії медичних наук України.* 2021;27(1):12-7 (Reznikov AG, Lymareva AA. Changes in lipid peroxidation in the reproductive organs of male rats due to the transplacental action of chemical endocrine disruptors. *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.* 2021;27(1):12-7. Ukrainian). doi: 10.37621/JNAMSU-2021-1-8.
  47. Полякова ЛІ, Резніков ОГ. Гістологічні та каріометричні зміни медіально-преоптичного ядра гіпоталамуса самців щурів, експонованих до низьких доз дібутилфталату під час внутрішньоутробного розвитку. *Ендокринологія.* 2021;26(1):49-58 (Polyakova LI, Reznikov AG. Histological and karyometric changes of the medial-preoptic nucleus of the male rat hypothalamus exposed to low doses of dibutylphthalate during fetal development. *Endokrynologia.* 2021;26(1):49-58. Ukrainian). doi: 10.31793/1680-1466.2021.26-1.92.
  48. Foster PM, Cattley RC, Mylchreest E. Effects of di-n-butyl phthalate (DBP) on male reproductive development in the rat: implications for human risk assessment. *Food Chem Toxicol.* 2000;38(1 Suppl):S97-9. doi: 10.1016/s0278-6915(99)00128-3.

49. Scarano WR, Toledo FC, Guerra MT, Pinheiro PF, Domeniconi RF, Felisbino SL, et al. Functional and morphological reproductive aspects in male rats exposed to di-n-butyl phthalate (DBP) *in utero* and during lactation. *J Toxicol Environ Health A*. 2010;73(13-14):972-84. doi: 10.1080/15287391003751760.
50. Drake AJ, Driesche S, Scott HM, Hutchison GR, Seckl JR, Sharpe RM. Glucocorticoids amplify dibutyl phthalate-induced disruption of testosterone production and male reproductive development. *Endocrinology*. 2009 Nov;150(11):5055-64. doi: 10.1210/en.2009-0700.
51. Motohashi M, Wempe MF, Mutou T, Okayama Y, Kansaku N, Takahashi H, et al. In utero-exposed di(n-butyl) phthalate induce dose dependent, age-related changes of morphology and testosterone-biosynthesis enzymes/associated proteins of Leydig cell mitochondria in rats. *J Toxicol Sci*. 2016 Apr;41(2):195-206. doi: 10.2131/jts.41.195.
52. Wang Y, Song L, Hong X, Cui L, Zhang Z, Xiao H, et al. Low concentrations mono-butyl phthalate stimulates steroidogenesis by facilitating steroidogenic acute regulatory protein expression in mouse Leydig tumor cells (MLTC-1). *Chem Biol Interact*. 2006 Dec 1;164(1-2):15-24. doi: 10.1016/j.cb.2006.08.022.
53. Chen X, Zhou QH, Leng L, Chen X, Sun ZR, Tang NJ. Effects of di(n-butyl) and monobutyl phthalate on steroidogenesis pathways in the murine Leydig tumor cell line MLTC-1. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2013 Sep;36(2):332-8. doi: 10.1016/j.etap.2013.04.013.
54. Clewell RA, Kremer JJ, Williams CC, Campbell JL, Sochaski MA, Andersen ME, et al. Kinetics of selected di-n-butyl phthalate metabolites and fetal testosterone following repeated and single administration in pregnant rats. *Toxicology*. 2009 Jan 8;255(1-2):80-90. doi: 10.1016/j.tox.2008.10.010.
55. Barakat R, Lin PP, Rattan S, Brehm E, Canisso IF, Abosalum ME, et al. Prenatal exposure to DEHP induces premature reproductive senescence in male mice. *Toxicol Sci*. 2017 Mar 1;156(1):96-108. doi: 10.1093/toxsci/kfw248.
56. Aly HA, Hassan MH, El-Beshbishy HA, Alahdal AM, Osman AM. Dibutyl phthalate induces oxidative stress and impairs spermatogenesis in adult rats. *Toxicol Ind Health*. 2016 Aug;32(8):1467-77. doi: 10.1177/0748233714566877.
57. Wang Y, Chen F, Ye L, Zirkin B, Chen H. Steroidogenesis in Leydig cells: effects of aging and environmental factors. *Reproduction*. 2017 Oct;154(4):R111-R122. doi: 10.1530/REP-17-0064.
58. Heidari T, Batavani RA, Malekinejad H, Hobbenaghi R. Evaluation of di-n-butyl phthalate reproductive toxicity in pregnant rats and their offspring and assessment of vitamin E administration in reducing toxicity. *Vet Res Forum*. 2022 Jun;13(2):201-8. doi: 10.30466/vrf.2020.118147.2806.
59. Li X, Jiang L, Cheng L, Chen H. Dibutyl phthalate-induced neurotoxicity in the brain of immature and mature rat offspring. *Brain Dev*. 2014 Sep;36(8):653-60. doi: 10.1016/j.braindev.2013.09.002.
60. Lee HC, Yamanouchi K, Nishihara M. Effects of perinatal exposure to phthalate/adipate esters on hypothalamic gene expression and sexual behavior in rats. *J Reprod Dev*. 2006 Jun;52(3):343-52. doi: 10.1262/jrd.17096.
61. Zhang J, Zhou K, Cheng R, Yang M, Shen X, Luo X, et al. Maternal perinatal exposure to dibutyl phthalate promotes ovarian dysfunction in adult female offspring via downregulation of TGF- $\beta$ 2 and TGF- $\beta$ 3. *Reprod Sci*. 2022 Aug;29(8):2401-13. doi: 10.1007/s43032-021-00785-y.
62. Guerra MT, Scarano WR, Toledo FC, Franci JAA, Kempinas WDG. Reproductive development and function of female rats exposed to di-n-butyl-phthalate (DBP) *in utero* and during lactation. *Reprod Toxicol*. 2010 Jan;29(1):99-105. doi: 10.1016/j.reprotox.2009.10.005.
63. Nezvalová-Henriksen K, Spigset O, Nordeng H. Effects of ibuprofen, diclofenac, naproxen, and piroxicam on the course of pregnancy and pregnancy outcome: a prospective cohort study. *BJOG*. 2013 Jul;120(8):948-59. doi: 10.1111/1471-0528.12192.
64. Ben Maamar M, Lesné L, Hennig K, Desdoits-Lethimonier C, Kilcoyne KR, Coiffec I, et al. Ibuprofen results in alterations of human fetal testis development. *Sci Rep*. 2017 Mar 10;7:44184. doi: 10.1038/srep44184.
65. Burdan F, Starosławska E, Szumiło J, Dworżańska A, Dworżański W, Kubiatowski T, et al. Developmental toxicity of the over-the-counter analgetics and antipyretics. *Pol Merkur Lekarski*. 2012 Jun;32(192):410-3. Polish.
66. Burdan F, Starosławska E, Szumiło J. Prenatal tolerability of acetaminophen and other over-the-counter non-selective cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacol Rep*. 2012;64(3):521-7. doi: 10.1016/s1734-1140(12)70847-2.
67. Jensen MS, Rebordosa C, Thulstrup AM, Toft G, Sørensen HT, Bonde JP, et al. Maternal use of acetaminophen, ibuprofen, and acetylsalicylic acid during pregnancy and risk of cryptorchidism. *Epidemiology*. 2010 Nov;21(6):779-85. doi: 10.1097/EDE.0b013e3181f20bed.
68. Gurney J, Richiardi L, McGlynn KA, Signal V, Sarfati D. Analgesia use during pregnancy and risk of cryptorchidism: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2017 May 1;32(5):1118-29. doi: 10.1093/humrep/dex047.
69. Rossitto M, Marchive C, Pruvost A, Sellem E, Ghetta A, Badiou S, et al. Intergenerational effects on mouse sperm quality after *in utero* exposure to acetaminophen and ibuprofen. *FASEB J*. 2019 Jan;33(1):339-57. doi: 10.1096/fj.201800488RRR.
70. Balin PDS, Jorge BC, Leite ARR, Borges CS, Oba E, Silva EJR, et al. Maternal exposure to ibuprofen can affect the programming of the hypothalamus of the male offspring. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020 Mar;111:104576. doi: 10.1016/j.yrtph.2020.104576.
71. VanRyzin JW, Yu SJ, Perez-Pouchoulen M, McCarthy MM. Temporary depletion of microglia during the early postnatal period induces lasting sex-dependent and sex-independent effects on behavior in rats. *eNeuro*. 2016 Dec 8;3(6):ENEURO.0297-16.2016. doi: 10.1523/ENEURO.0297-16.2016.
72. Lenz KM, Pickett LA, Wright CL, Davis KT, Joshi A, McCarthy MM. Mast cells in the developing brain determine adult sexual behavior. *J Neurosci*. 2018 Sep 12;38(37):8044-59. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1176-18.2018.
73. Dean A, Mungall W, McKinnell C, Sharpe RM. Prostaglandins, masculinization and its disorders: effects of fetal exposure of the rat to the cyclooxygenase inhibitor- indomethacin. *PLoS One*. 2013 May 3;8(5):e62556. doi: 10.1371/journal.pone.0062556.
74. Reznikov AG., Sachynska OV, Lymareva AA, Faliush OA, Perchyk IG. Endocrine and behavioral effects in male rats after birth with their pregnant mother taking ibuprofen. *Fiziol Zh*. 2022;68(6):3-11. doi: 10.15407/fz.68.06.003.
75. Reznikov AG. Our half-century quest to understand the etiology and pathogenesis of developmental disturbances of neuroendocrine control of reproduction and endocrine stress response (mini-review). *Endokrynologia*. 2022;27(4):319-24. doi: 10.31793/1680-1466.2022.27-4.319.
76. Amateau SK, McCarthy MM. A novel mechanism of dendritic spine plasticity involving estradiol induction of prostaglandin-E2. *J Neurosci*. 2002 Oct 1;22:8586-96. doi: 10.1523/JNEUROSCI.122-19-08586.2002.
77. Amateau SK, McCarthy MM. Induction of PGE2 by estradiol mediates developmental masculinization of sex behavior. *Nat Neurosci*. 2004 Jun;7(6):643-50. doi: 10.1038/nn1254.
78. Wright CL, Burks SR, McCarthy MM. Identification of prostaglandin E2 receptors mediating perinatal masculinization of adult sex behavior and neuroanatomical correlates. *Dev Neurobiol*. 2008 Oct;68(12):1406-19. doi: 10.1002/dneu.20665.
79. Wright CL, McCarthy MM. Prostaglandin E2-induced masculinization of brain and behavior requires protein kinase A, AMPA/kainate, and metabotropic glutamate receptor signaling. *J Neurosci*. 2009 Oct 21;29(42):13274-82. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3603-09.2009.
80. Kristensen DM, Desdoits-Lethimonier C, Mackey AL, Dalgaard MD, Masi F, Munkbøl CH, et al. Ibuprofen alters human testicular physiology to produce a state of compensated hypogonadism. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018 Jan 23;115(4):E715-24. doi: 10.1073/pnas.1715035115.
81. Jorge BC, Balin PS, Carneiro GB, Belletti R, Reis ACC, Stein J, et al. Ibuprofen compromises sexual behavior and fertility in female rats exposed during the perinatal period. *Toxicol Environ Chem*. 2020 Oct 1;102(9):490-505. doi: 10.1080/02772248.2020.1824257.
82. Vandenberg LN, Chahoud I, Padmanabhan V, Paumgartten FJR, Schoenfelder G. Biomonitoring studies should be used by regulatory agencies to assess human exposure levels and safety of bisphenol A. *Environ Health Perspect*. 2010 Aug;118(8):1051-4. doi: 10.1289/ehp.0901717.
83. Corbel T, Gayraud V, Puel S, Lacroix MZ, Berrebi A, Gil S, et al. Bidirectional placental transfer of bisphenol A and its main metabolite, bisphenol A-glucuronide, in the isolated perfused human placenta. *Reprod Toxicol*. 2014 Aug;47:51-8. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.06.001.
84. Mendonca K, Hauser R, Calafat AM, Arbuckle TE, Duty SM. Bisphenol A concentrations in maternal breast milk and infant urine.

## Фундаментальні дослідження

- Int Arch Occup Environ Health. 2014 Jan;87(1):13-20. doi: 10.1007/s00420-012-0834-9.
85. Wolstenholme JT, Rissman EF, Connelly JJ. The role of Bisphenol A in shaping the brain, epigenome and behavior. *Horm Behav.* 2011 Mar;59(3):296-305. doi: 10.1016/j.yhbeh.2010.10.001.
  86. Patisaul HB, Sullivan AW, Radford ME, Walker DM, Adewale HB, Winnik B, et al. Anxiogenic effects of developmental bisphenol A exposure are associated with gene expression changes in the juvenile rat amygdala and mitigated by soy. *Plos One.* 2012;7(9):e43890. doi: 10.1371/journal.pone.0043890.
  87. Jasarevic E, Williams SA, Vandas GM, Ellersieck MR, Liao C, Kannan K, et al. Sex and dose-dependent effects of developmental exposure to bisphenol A on anxiety and spatial learning in deer mice (*Peromyscus maniculatus bairdii*) offspring. *Horm Behav.* 2013 Jan;63(1):180-9. doi: 10.1016/j.yhbeh.2012.09.009.
  88. Salian S, Doshi T, Vanage G. Perinatal exposure of rats to bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life Sci.* 2009 Nov 18;85(21-22):742-52. doi: 10.1016/j.lfs.2009.10.004.
  89. Peretz J, Vrooman L, Rieke WA, Hunt PA, Ehrlich S, Hauser R, et al. Bisphenol A and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007–2013. *Environ Health Perspect.* 2014 Aug;122(8):775-86. doi: 10.1289/ehp.1307728.
  90. Christiansen S, Axelstad M, Boberg J, Vinggaard AM, Pedersen GA, Hass U. Low-dose effects of bisphenol A on early sexual development in male and female rats. *Reproduction.* 2014 Mar 2;147(4):477-87. doi: 10.1530/REP-13-0377.
  91. Ferguson SA, Law CD Jr, Abshire JS. Developmental treatment with bisphenol A or ethinyl estradiol causes few alterations on early preweaning measures. *Toxicol Sci.* 2011 Nov;124(1):149-60. doi: 10.1093/toxsci/kfr201.
  92. Hong J, Chen F, Wang X, Bai Y, Zhou R, Li Y, et al. Exposure of preimplantation embryos to low-dose bisphenol A impairs testes development and suppresses histone acetylation of StAR promoter to reduce production of testosterone in mice. *Mol Cell Endocrinol.* 2016 May 15;427:101-11. doi: 10.1016/j.mce.2016.03.009.
  93. Pagotto R, Santamaria CG, Harreguy MB, Abud J, Zenclussen ML, Kass L, et al. Perinatal exposure to bisphenol A disturbs the early differentiation of male germ cells. *Reprod Toxicol.* 2020 Dec;98:117-24. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.09.004.
  94. Karmakar PC, Ahn JS, Kim YH, Jung SE, Kim BJ, Lee HS, et al. Gestational exposure to bisphenol A affects testicular morphology, germ cell associations, and functions of spermatogonial stem cells in male offspring. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 17;21(22):8644. doi: 10.3390/ijms21228644.
  95. Rahman MdS, Pang WK, Ryu DY, Park YJ, Ryu BY, Pang MG. Multigenerational impacts of gestational bisphenol A exposure on the sperm function and fertility of male mice. *J Hazard Mater.* 2021 Aug 15;416:125791. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.125791.
  96. Wang G, Xu G, Zhang C, Han A, Zhang G, Chen L, et al. Gestational bisphenol A exposure advances puberty onset in female offspring: Critical time window identification. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2023 Jan 1;249:114387. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114387.
  97. Ma S, Shi W, Wang X, Song P, Zhong X. Bisphenol A exposure during pregnancy alters the mortality and levels of reproductive hormones and genes in offspring mice. *Biomed Res Int.* 2017;2017:3585809. doi: 10.1155/2017/3585809.
  98. Santamaria C, Durando M, Muñoz de Toro M, Luque EH, Rodriguez HA. Ovarian dysfunctions in adult female rat offspring born to mothers perinatally exposed to low doses of bisphenol A. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016 Apr;158:220-30. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.11.016.
  99. Patel S, Brehm E, Gao L, Rattan S, Ziv-Gal A, Flaws JA. Bisphenol A exposure, ovarian follicle numbers, and female sex steroid hormone levels: results from a CLARITY-BPA study. *Endocrinology.* 2017 Jun 1;158(6):1727-38. doi: 10.1210/en.2016-1887.
  100. Wang W, Hafner KS, Flaws JA. In utero bisphenol A exposure disrupts germ cell nest breakdown and reduces fertility with age in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2014 Apr 15;276(2):157-64. doi: 10.1016/j.taap.2014.02.009.
  101. Gámez JM, Penalba R, Cardoso N, Bernasconi PS, Carbone S, Pozzo O, et al. Exposure to a low dose of bisphenol A impairs pituitary-ovarian axis in prepubertal rats: effects on early folliculogenesis. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015 Jan;39(1):9-15. doi: 10.1016/j.etap.2014.10.015.
  102. Farabollini F, Porrini S, Seta DD, Bianchi F, Dessi-Fulgneri F. Effects of perinatal exposure to bisphenol A on sociosexual behavior of female and male rats. *Environ Health Perspect.* 2002 Jun;110 Suppl 3 (Suppl 3): 409-14. doi: 10.1289/ehp.02110s3409.
  103. Jones BA, Shimell JJ, Watson NV. Pre- and postnatal bisphenol A treatment results in persistent deficits in the sexual behavior of male rats, but not female rats, in adulthood. *Horm Behav.* 2011 Feb;59(2):246-51. doi: 10.1016/j.yhbeh.2010.12.006.
  104. Naule L, Picot M, Martini MC, Parmentier C, Hardin-Pouzet H, Keller M, et al. Neuroendocrine and behavioral effects of maternal exposure to oral bisphenol A in female mice. *J Endocrinol.* 2014 Feb 10;220(3):375-88. doi: 10.1530/JOE-13-0607.
  105. He Z, Paule MG, Ferguson SA. Low oral doses of bisphenol A increase volume of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male, but not female, rats at postnatal day 21. *Neurotoxicol Teratol.* 2012 May-Jun;34(3):331-7. doi: 10.1016/j.ntt.2012.03.004.
  106. McCaffrey KA, Jones B, Mabrey N, Weiss B, Swan SH, Patisaul HB. Sex specific impact of perinatal bisphenol A (BPA) exposure over a range of orally administered doses on rat hypothalamic sexual differentiation. *Neurotoxicology.* 2013 May;36:55-62. doi: 10.1016/j.neuro.2013.03.001.
  107. Takagi H, Shibutani M, Masutomi N, Uneyama C, Takahashi N, Mitsumori K, et al. Lack of maternal dietary exposure effects of bisphenol A and nonylphenol during the critical period for brain sexual differentiation on the reproductive/endocrine systems in later life. *Arch Toxicol.* 2004 Feb;78(2):97-105. doi: 10.1007/s00204-003-0517-0.
  108. Arambula SE, Fuchs J, Cao J, Patisauland HB. Effects of perinatal bisphenol A exposure on the volume of sexually-dimorphic nuclei of juvenile rats: A CLARITY-BPA consortium study. *Neurotoxicology.* 2017 Dec;63:33-42. doi: 10.1016/j.neuro.2017.09.002.
  109. Moustafa GG, Ahmed AAM. Impact of prenatal and postnatal exposure to bisphenol A on female rats in a two generational study: Genotoxic and immunohistochemical implications. *Toxicol Rep.* 2016 Aug 28;3:685-95. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.08.008.
  110. Mahalingam S, Ther L, Gao L, Wang W, Ziv-Gal A, Flaws JA. The effects of *in utero* bisphenol A exposure on ovarian follicle numbers and steroidogenesis in the F1 and F2 generations of mice. *Reprod Toxicol.* 2017 Dec;74:150-7. doi: 10.1016/j.reprotox.2017.09.013.
  111. Abdel-Maksoud FM, Ali FAZ, Akingbemi BT. Prenatal exposures to bisphenol A and di (2-ethylhexyl) phthalate disrupted seminiferous tubular development in growing male rats. *Reprod Toxicol.* 2019 Jul;88:85-90. doi: 10.1016/j.reprotox.2019.07.017.
  112. Hass U, Christiansen S, Boberg J, Rasmussen MG, Mandrup K, Axelstad M. Low-dose effect of developmental bisphenol A exposure on sperm count and behaviour in rat. *Andrology.* 2016 Jul;4(4):594-607. doi: 10.1111/andr.12176.
  113. Reznikov AG, Sachynska OV, Lymareva AA, Polyakova LI. Sexual behavior, profile of steroid hormones, and morphology of the medial preoptic nuclei in F1 male rat progeny prenatally exposed to low-dose bisphenol A. *Neurophysiology.* 2020 May;52(5):388-96. doi: 10.1007/s11062-021-09895-4.

## Список скорочень:

АГВ – аногенітальна відстань

БФА – бисфенол А

ВП – вентральна простата

ГПАС – гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальна система

ДБФ – дибутилфталат

ЕД – ендокринні дизраптори

СДМ – статева диференціація мозку

## Endocrine disruptors – prenatal factors of reproductive health disorders

O.G. Reznikov, O.V. Sachynska, O.A. Faliush,

A.A. Lymaryeva, I.G. Perchuk

State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

**Abstract.** The review article highlights the problem of the potential

danger of endocrine disruptors (EDs), chemical environmental pollutants which are capable of disrupting hormonal homeostasis, for the fetus. Many EDs that enter the body of a pregnant woman cross the placental barrier and pose a threat to the development of the fetus. The data of the main literature concerning the prenatal effects of EDs on the programming disorders of the neuroendocrine system of reproduction and behavior and their long-term consequences in humans and animals are systematized. Negative consequences of prenatal exposure to EDs are revealed even against the background of the absence of teratogenic abnormalities in newborns, which corresponds to the general concept of functional teratology. Special attention is paid to the effects of low doses, because EDs is characterized by the absence of a direct dependence of biological effects on the exposure dose. A comparison with the state of the hypothalamic-pituitary-adrenal system in rat offspring, which developed under conditions of exposure of the pregnant mother to EDs, shows the selectivity and vulnerability of the reproductive system in terms of functional disorders. The reproductive system of males is much more vulnerable compared to that of females. First of all, this is revealed when analyzing the hormonal profile and sexual behavior. The review presents the results of our own studies on the prenatal effects of dibutyl phthalate (DBP), ibuprofen and bisphenol A. Weakening of copulatory behavior in adult male rats against the background of normal levels of sex hormones and corticosterone due to the exposure of pregnant mothers to low doses of ibuprofen during the critical period of sexual differentiation of the brain was revealed for the first time. During the experimental study of the prenatal effects of dibutyl phthalate, data on the formation of a hyperandrogenic state and hypersexual behavior in male offspring with the subsequent accelerated age-related involution of reproductive functions were obtained for the first time. Subteratogenic doses of bisphenol A caused in male offspring sharply weakened copulatory behavior and lordosis reactions in the presence of a normal male, and in females — hypoestrogenia and pseudocopulatory male behavior. Thus, epigenetic disturbances of the sexual differentiation of the brain program due to prenatal exposure to EDs at doses that do not cause teratogenic effects should be taken into account when determining the potential danger of EDs for reproductive health.

**Keywords:** endocrine disruptors, dibutyl phthalate, bisphenol A, ibuprofen, prenatal effect, reproductive system, sexual behavior, rat

**Для цитування:** Резніков ОГ, Сачинська ОВ, Фалюш ОА, Лимарева АА, Перчик ІГ. Ендокринні дизраптори — пренатальні чинники розладів репродуктивного здоров'я. Ендокринологія. 2023;28(1):21-35. DOI: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.21.

**Адреса для листування:** Резніков Олександр Григорович, reznikov39@gmail.com, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, Київ 04114, Україна.

**Відомості про авторів:** Резніков Олександр Григорович — д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН України, акад. НАМН України, завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-0018-399X; Сачинська Ольга Володимирівна — канд. біол. наук, пров. наук. співроб. відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-1767-4912; Фалюш Оксана Анатоліївна — канд.

біол. наук, старш. наук. співроб. відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0003-4349-8665; Лимарева Анна Анатоліївна — старш. наук. співроб. відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-6963-5157; Перчик Інна Григорівна — мол. наук. співроб. відділу ендокринології репродукції та адаптації, ORCID: 0000-0002-4667-2879.

**Особистий внесок:** Резніков О.Г. — інформаційне забезпечення, розробка структури статті, написання вступу та розділу «Ібупрофен»; Сачинська О.В. — написання розділу «Дибутілфталат»; Фалюш О.А. — написання розділу «Бісфенол А»; Лимарева А.А. — написання розділу «Ібупрофен»; Перчик І.Г. — інформаційне забезпечення та оформлення списку використаної літератури.

**Фінансування:** стаття підготовлена в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідної роботи «Експериментальне дослідження репродуктивних, адаптивних та поведінкових ефектів пренатальної дії ендокринних дизрапторів» ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України» (№ державної реєстрації: 0120U100711).

**Декларація з етики:** автори задекларували відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

**Стаття:** надійшла до редакції 30.01.2023 р.; перероблена 13.02.2023 р.; прийнята до друку 24.03.2023 р.; надрукована 30.03.2023 р.

**For citation:** Reznikov OG, Sachynska OV, Faliush OA, Lymaryeva AA, Perchik IG. Endocrine disruptors — prenatal factors of reproductive health disorders. *Endokrynologia*. 2023;28(1):21-35. DOI: 10.31793/1680-1466.2023.28-1.21.

**Correspondence address:** Reznikov Aleksander Grigorievich, reznikov39@gmail.com, State Institution «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine», Vyshgorodska Str., 69, Kyiv 04114, Ukraine.

**Information about the authors:** A.G. Reznikov — Dr. Sci. (Medicine), Prof., Cor. Member of the NAS of Ukraine, Full Member of the NAMS of Ukraine, Head of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-0018-399X; O.V. Sachynska — Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-1767-4912; O.A. Faliush — Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0003-4349-8665; A.A. Lymaryeva — Senior Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-6963-5157; I.G. Perchik — Researcher of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, ORCID: 0000-0002-4667-2879.

**Personal contribution:** Reznikov O.G. — information support, development of the article structure, writing the introduction and section «Ibuprofen»; Sachynska O.V. — writing the section «Dibutyl phthalate»; Faliush O.A. — writing the section «Bisphenol A»; Lymaryeva A.A. — writing the section «Ibuprofen»; Perchik I.G. — information support and preparation of the «References».

**Funding:** the article was prepared within the budget funding of the NAMS of Ukraine according to the plan of research work «Experimental study of reproductive, adaptive and behavioral effects of prenatal action of endocrine disruptors» of the SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the NAMS of Ukraine» (№ state registration: 0120U100711).

**Declaration of ethics:** The authors have declared no conflicts of interest or financial obligations.

**Article:** received January 30, 2023; revised February 13, 2023; accepted March 24, 2023; published March 30, 2023.