BIOSTIMULYATORLARNING YUQORI KIMYOVIY TARKIBLI SUV ISTE'MOL QILGAN OQ ZOTSIZ KALAMUSHLARDAGI O'ZGARISHLARNI IMMUNOGISTOKIMYOVIY KO'RSATKICHLAR ASOSIDA BAHOLASH

Abbasov Damir Iskandarovich - assistent
Buxoro davlat tibbiyot institute (Buxoro, O'zbekiston)

Annotatsiya. *Mazkur tadqiqotda yuqori kimyoviy tarkibli, ya'ni minerallashgan yer osti suvining oq zotsiz kalamushlar organizmiga ta'siri hamda biostimulyatorlar orqali vujudga keladigan morfofunksional o'zgarishlar immunogistokimyoviy usulda o'rganildi. Tajriba davomida gipotalamo-gonadal tizim, moyak va epididimis to'qimalarida hujayra faoliyati, shuningdek proliferatsiya va apoptotik jarayonlarga xos markerlar — Ki-67, Caspase-3 va Bcl-2 oqsillarining ifodalanish darajasi aniqlanib, taqqoslab baholandi. Olingan natijalar biostimulyatorlar yuqori minerallashgan suvning salbiy ta'sirini qisman kamaytirib, hujayra regeneratsiyasi jarayonlarini faollashtirishi hamda oksidlovchi stressni pasaytirishini ko'rsatdi. Ushbu ma'lumotlar biostimulyatorlarning toksik muhit sharoitida neyroendokrin tizim barqarorligini saqlashdagi biologik ahamiyatini yoritib beradi.*

Kalit so'zlar: *biostimulyator, oq zotsiz kalamush, yuqori minerallashgan suv, immunogistokimyo, gipotalamo-gonadal tizim, proliferatsiya, apoptoz, morfofunksional o'zgarishlar.*

ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ У БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ КРЫС, ПОТРЕБЛЯВШИХ ВОДУ С ВЫСОКИМ ХИМИЧЕСКИМ СОСТАВОМ, ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОСТИМУЛЯТОРОВ ПО ДАННЫМ ИММУНО-ГИСТОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

Аббасов Дамир Искандарович – ассистент
Бухарский государственный медицинский институт (Бухара, Узбекистан)

Аннотация. *В данном исследовании изучено влияние подземной воды с высоким химическим составом (минерализованной) на организм белых беспородных крыс, а также морфофункциональные изменения, возникающие под действием биостимуляторов, с применением иммуно-гистохимического метода. В ходе эксперимента в тканях гипоталамо-гонадной системы, яичек и придатков яичек были определены и сравнительно оценены уровни экспрессии белков-маркеров клеточной активности, пролиферации и апоптоза — Ki-67, Caspase-3 и Bcl-2. Полученные результаты показали, что биостимуляторы частично устраняют неблагоприятное воздействие минерализованной воды, активизируют процессы регенерации клеток и снижают уровень оксидативного стресса. Эти данные подчеркивают биологическую значимость биостимуляторов в поддержании стабильности нейроэндокринной системы в условиях токсического воздействия.*

Ключевые слова: *биостимулятор, белая беспородная крыса, минерализованная вода, иммуно-гистохимия, гипоталамо-гонадная система, пролиферация, апоптоз, морфофункциональные изменения.*

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF CHANGES IN WHITE OUTBRED RATS CONSUMING CHEMICALLY ENRICHED GROUNDWATER UNDER THE INFLUENCE OF BIOSTIMULATORS

Abbasov Damir Iskandarovich – assistant
Bukhara state medical university (Bukhara, Uzbekistan)

Abstract. *This study investigated the effects of chemically enriched (mineralized) groundwater on the organism of white outbred rats and assessed the morphofunctional changes induced by biostimulators using immunohistochemical methods. During the experiment, the activity of the hypothalamo-gonadal system, as well as testicular and epididymal tissues, was analyzed based on the expression of cellular activity, proliferation, and apoptosis markers — Ki-67, Caspase-3, and Bcl-2. The results demonstrated that biostimulators partially mitigated the adverse effects of mineralized water, enhanced cellular regeneration, and reduced oxidative stress. These findings highlight the biological importance of biostimulators in maintaining neuroendocrine system stability under toxic environmental conditions.*

Keywords: *biostimulator, white outbred rat, mineralized water, immunohistochemistry, hypothalamo-gonadal system, proliferation, apoptosis, morphofunctional changes.*

Kirish.

So‘nggi yillarda ekologik omillar, xususan yer osti suvlarining minerallashuv darajasining ortishi biologik tizimlar uchun muhim xavf omillaridan biri sifatida qaralmoqda. Yuqori kimyoviy tarkibli suvlarning uzoq muddat iste’moli organizmda ion almashinuvi, hujayra metabolizmi va immun javob mexanizmlarining buzilishiga olib keladi. Ward, J.M. va boshq. (2006) ma’lumotlariga ko‘ra, bunday suvlar kalamushlarda qon zardobidagi elektrolitlar muvozanatini o‘zgartiradi, bu esa morfofunksional o‘zgarishlarga sabab bo‘ladi.

Ahmad, R., (2019) ta’kidlaganidek, yuqori minerallashgan suv yoki boshqa kimyoviy omillar ta’sirida yuzaga keladigan oksidativ stress organizmning immun himoya tizimida disbalansni yuzaga keltiradi. Shu sababli, bu kabi holatlarda biostimulyatorlarning qo‘llanilishi organizmni tiklash va adaptatsion imkoniyatlarini oshirishda muhim o‘rin tutadi.

Biostimulyatorlar — bu tabiiy yoki sun’iy yo‘l bilan olingan biologik faol moddalardir. Ular organizmning modda almashinuvi jarayonlarini rag‘batlantiradi, hujayra yangilanishini tezlashtiradi va immun tizimining reaktivligini oshiradi[2,5,6]. Shuningdek, ularning tarkibida aminokislotalar, peptidlar, o‘simlik ekstraktlari, vitaminlar va mikroelementlar mavjud bo‘lib, ular fiziologik jarayonlarni me’yorda ushlab turishga yordam beradi[10,11].

Immunogistokimyoviy (IGX) tadqiqot usuli biologik to‘qimalarda turli oqsillar, fermentlar, immun markerlar (masalan, CD3, CD20, IL-6, TNF-α) ifodasini aniqlash imkonini beradi. Bu usul to‘qima darajasidagi o‘zgarishlarni aniq baholash, immun javobning faollashuv darajasini ko‘rsatish va biostimulyatorlarning ta’sir mexanizmini chuqur tahlil qilish imkonini beradi[1,5,9].

Rossiya olimlari tomonidan olib borilgan tadqiqotlarda yuqori minerallashgan suv iste’mol qilgan hayvonlarda jigar, buyrak, moyak va immun tizimi organlarida degenerativ o‘zgarishlar, limfotsitlar sonining kamayishi va gistostrukturaning buzilishi qayd etilgan[4,9]. Shu bilan birga, biostimulyatorlarning (xususan, “Vetom”, “Levamisol”, “Echinacea purpurea” ekstrakti kabi) qo‘llanilishi bu o‘zgarishlarni sezilarli darajada kamaytirgan.

Chet el olimlari Zeng, H., et al. (2014) tomonidan o‘tkazilgan tajribalarda biostimulyatorlar ta’sirida immunogistokimyoviy markerlar, xususan IL-6 va TNF-α darajasining normallashuvi qayd etilgan. Bu natijalar biostimulyatorlarning immunomodulyator ta’siri mavjudligini tasdiqlaydi.

Mazkur tadqiqot yuqori kimyoviy tarkibli suv iste’mol qilgan oq zotsiz kalamushlarda biostimulyatorlarning immunogistokimyoviy ko‘rsatkichlarga ta’sirini aniqlashga qaratilgan. Olingan natijalar nafaqat toksikologik va ekologik fiziologiya sohalari uchun, balki veterinariya va tibbiyot amaliyotida ham amaliy ahamiyat kasb etadi.

Mazkur ishning maqsadi — yuqori kimyoviy tarkibli suv iste’mol qilgan oq zotsiz kalamushlarda biostimulyatorlarning immunogistokimyoviy ko‘rsatkichlar asosida ta’sirini baholashdan iborat.

Tadqiqotning dolzarbligi esa ekologik stress sharoitlarida organizmning immun moslashuv mexanizmlarini o‘rganish va biostimulyatorlar yordamida ularni optimallashtirish zaruratida namoyon bo‘ladi.

Materiallar va usullar.

Tadqiqot Buxoro davlat tibbiyot instituti gistologiya, sitologiya va embriologiya kafedrasi tajriba laboratoriyasida o‘tkazildi. Tajriba ishlari davomida og‘irligi 180–200 g bo‘lgan sog‘lom, jinsiy yetilgan erkak oq zotsiz kalamushlardan foydalanildi. Hayvonlar maxsus vivarium sharoitida, doimiy harorat (22–24°C) va yorug‘lik rejimi (12 soat yorug‘lik / 12 soat qorong‘ilik)da saqlangan. Ular standart granulali ozuqa bilan oziqlantirilib, ichimlik suvi sifatida tajriba sharoitiga muvofiq turli manbalardan olingan suvlar berildi. Tadqiqot natijalarini olishda hayvonlarga nisbatan insonparvarlik tamoyillariga rioya qilingan holda bajarildi.

Hayvonlar to‘rt guruhga ajratildi:

1.Nazorat guruhi – oddiy ichimlik suvi bilan sug‘orilgan;

2.Tajriba guruhi I – yuqori kimyoviy tarkibli (minerallashgan) yer osti suvini ichgan;

3.Tajriba guruhi II – yuqori kimyoviy tarkibli suv va biostimulyator sifatida qushqo‘nmas (Asparagus officinalis) o‘simligi moyini olgan;

4.Tajriba guruhi III – yuqori kimyoviy tarkibli suv bilan limon kislotasini qabul qilgan.

Tajriba 90 kun davom ettirildi. Biostimulyatorlar hayvonlarga kuniga bir marta peroral yo‘l bilan, fiziologik jihatdan xavfsiz dozada berildi. Yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvi Buxoro viloyatining tabiiy artezian qatlamlaridan olingan bo‘lib, laborator tahlil natijalariga ko‘ra, uning umumiy minerallashuv darajasi 5,5–6,7 g/l ni tashkil etdi. Tarkibida asosan xloridlar, sulfatlar, natriy, magniy va kalsiy tuzlari mavjudligi aniqlandi.

Tajriba muddati yakunida kalamushlar pentobarbital narkoz ostida so‘yilib, moyak va epididimis to‘qimalari gistologik tahlil uchun ajratildi. Namunalarning fiksatsiyasi 10% neytral formalin eritmasida 24 soat davomida olib borildi. Fiksatsiyadan so‘ng to‘qimalar standart o‘tkazish bosqichlaridan o‘tkazilib, parafin bloklariga joylashtirildi. Mikrotom yordamida 3–5 mkm qalinlikdagi kesitlar tayyorlanib, buyum oynalariga joylashtirildi. Gistologik kuzatuv uchun kesitlar gematoksilin-eozin bo‘yog‘i bilan bo‘yaldi va yorug‘lik mikroskopida (Leica DM500) o‘rganildi.

Immunogistokimyoviy tahlil avidin-biotin-peroksidaza usuli orqali bajarildi. Parafindan chiqarilgan va suvli muhitga o‘tkazilgan kesitlarda antigenlarni demaskirovka qilish maqsadida bufer eritmasida qaynatish usuli qo‘llanildi. Tadqiqotda quyidagi antitanachalar ishlatildi: Ki-67 (proliferatsion indeks), Caspase-3 (apoptoz markeri) va Bcl-2 (antiapoptotik oqsil). Inkubatsiya bosqichlari ishlab

chiqaruvchi firmalar (Roche Diagnostics, Shvetsariya) yo‘riqnomalariga muvofiq o‘tkazildi. Reaksiya mahsuli 3,3-diaminobenzidin (DAB) yordamida aniqlanib, fonni kamaytirish uchun gematoksilin bilan kontrast bo‘yaldi.

Olingan kesitlar “NanoZoomer Digital Pathology” tizimi orqali raqamlashtirildi va QuPath 0.4.0 dasturida tahlil qilindi. Hujayralarning markerlar bo‘yicha bo‘yalish darajasi quyidagicha baholandi:

0- Bo‘yalish yo‘q

1+ 20% gacha hujayralar zaif bo‘yalgan;

2+ 20–60% gacha o‘rta darajada bo‘yalgan;

3+ – 60% dan ortiq kuchli bo‘yalgan hujayralar.

Immunopozitiv hujayralar soni 10 ta tasodifiy tanlangan maydonlarda (×400) sanalib, foizlarda ifodalandi. Har bir guruhda olingan natijalar o‘rtacha qiymatlar (M ± SD) ko‘rinishida ifodalanib, statistik tahlil Student t-testi yordamida bajarildi. Farqlar $p < 0,05$ darajasida ishonarli deb baholandi. Natijalar “GraphPad Prism 9.0” dasturi orqali qayta ishlanib, gistogrammalar shaklida tasvirlandi.

Natijalar.

Tajriba davomida yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvining oq zotsiz kalamushlarning turli yosh davrlaridagi (3, 6 va 9 oylik) moyak to‘qimalariga ta’siri hamda biostimulyatorlar yordamida yuzaga kelgan o‘zgarishlarning korreksiyasi o‘rganildi.Immunogistokimyoviy tahlil orqali Ki-67 (proliferatsion faollik), Bcl-2 (antiapoptotik himoya) va Caspase-3 (apoptoz markeri) ekspressiyasi yoshga qarab tahlil qilindi (1 jadvalga qarang).

3 oylik kalamushlarda

Nazorat guruhida 3 oylik kalamushlarda seminifer naychalar to‘liq shakllangan, spermatogen epiteliy qatlami tartibli joylashgan edi. Ki-67 markeri bo‘yicha proliferatsiya faolligi yuqori (68 ± 3,1%) bo‘lib, bu yoshdagi jinsiy bezlarda faol hujayra bo‘linishini ko‘rsatdi.Yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvini ichgan kalamushlarda Ki-67 ifodalanishi 38 ± 2,7% gacha pasaydi, Caspase-3 esa 41 ± 2,0% gacha oshdi ($p < 0,05$).Biostimulyator (limon kislotasi yoki o‘simlik ekstrakti) qo‘llangan guruhda proliferatsion faollik tiklanib, Ki-67 darajasi 57 ± 2,9% ni tashkil etdi, Caspase-3 esa 26 ± 1,8% gacha kamaydi.

6 oylik kalamushlarda

Nazorat guruhida 6 oylik kalamushlarda hujayralarning proliferatsion faolligi nisbatan pasaygan (61 ± 2,8%), ammo spermatogenez jarayoni barqaror davom etgan.Yuqori kimyoviy tarkibli suv bilan sug‘orilgan kalamushlarda epiteliy qatlamlari notekis, ayrim joylarda vakuolalar kuzatildi. Bcl-2 markeri ekspressiyasi 58 ± 2,3% dan 33 ± 2,0% gacha kamaydi, Caspase-3 esa 46 ± 1,9% gacha oshdi ($p < 0,05$).Biostimulyator olgan hayvonlarda bu ko‘rsatkichlar mos ravishda 50 ± 2,5% (Bcl-2) va 29 ± 1,7% (Caspase-3) ni tashkil etdi, ya’ni apoptoz jarayonlari qisman susaydi.

9 oylik kalamushlarda

Nazorat guruhida 9 oylik kalamushlarda proliferatsion faollik yoshga bog‘liq ravishda biroz pasayib (56 ± 2,5%), spermatogen qatlamlar orasida differensiatsiya belgilarining kuchaygani kuzatildi.

Yuqori kimyoviy tarkibli suv olgan hayvonlarda esa hujayra bo‘linishi sustlashgan (Ki-67 – 31 ± 2,3%), apoptotik hujayralar soni esa sezilarli oshgan (Caspase-3-48±2.1%).Biostimulyatorlar bu yoshda ham ma’lum darajada ijobiy ta’sir ko‘rsatib, proliferatsion jarayonni 45 ± 2,6% gacha oshirdi va apoptotik ko‘rsatkichni 30 ± 1,9% gacha kamaytirdi.

1-jadval.

Turli yoshdagi oq zotsiz kalamushlarda immunogistokimyoviy markerlar ekspressiyasi (%)

Yosh (oy)	Guruh	Ki-67	Bcl-2	Caspase-3
3 oylik	Nazorat	68 ± 3.1	59 ± 2.2	14 ± 1.1
3 oylik	Yuqori kimyoviy suv	38 ± 2.7*	34 ± 1.9*	41 ± 2.0*
3 oylik	Suv + biostimulyator	57 ± 2.9#	47 ± 2.3#	26 ± 1.8#
6 oylik	Nazorat	61 ± 2.8	58 ± 2.3	17 ± 1.2
6 oylik	Yuqori kimyoviy suv	35 ± 2.4*	33 ± 2.0*	46 ± 1.9*
6 oylik	Suv + biostimulyator	53 ± 2.6#	50 ± 2.5#	29 ± 1.7#

*-nazoratga nisbatan farq ishonarli ($p<0,05$)

- yuqori kimyoviy suv guruhiga nisbatan farq ishonarli ($p < 0,05$)

Yuqoridagi jadvalga keltirilgan ma’lumotlar asosida shuni ta’kidlash mumkinki, turli yoshdagi (3 va 6 oylik) oq zotsiz kalamushlarning moyak to‘qimalarida Ki-67, Bcl-2 va Caspase-3 markerlarining ekspressiya darajalari yoshga va ta’sir etuvchi omillarga qarab sezilarli o‘zgarishlarga uchragan.

3 oylik nazorat guruhidagi kalamushlarda Ki-67 markeri yuqori (68 ± 3.1 %) bo‘lib, bu yoshdagi hujayralarning faol bo‘linish jarayonini aks ettiradi. Yuqori kimyoviy tarkibli suv iste’mol qilgan hayvonlarda esa proliferatsion faollik keskin kamayib (38 ± 2.7 %), apoptoz markeri Caspase-3 ko‘rsatkichi 41 ± 2.0 % gacha oshgan. Bu suv tarkibidagi yuqori mineral komponentlar hujayralarda stress holatini va apoptotik jarayonlarni kuchaytirganini bildiradi.Biostimulyator berilgan 3 oylik kalamushlarda esa proliferatsion jarayon qisman tiklanib, Ki-67 57 ± 2.9 % gacha oshgan, Caspase-3 26 ± 1.8 % gacha kamaygan.

6 oylik kalamushlarda nazorat guruhida Ki-67 faolligi 61 ± 2.8 % ni tashkil etib, bu yoshda spermatogen faoliyat barqaror kechishini ko‘rsatdi. Yuqori kimyoviy tarkibli suv bilan sug‘orilgan guruhda proliferatsion jarayon susayib (35 ± 2.4 %), antiapoptotik Bcl-2 markeri 33 ± 2.0 % gacha kamaygan. Shu bilan birga, Caspase-3 ekspressiyasi 46 ± 1.9 % gacha oshganligi apoptoz jarayonlarining faollashganini ko‘rsatadi.Biostimulyator qabul qilgan kalamushlarda esa Bcl-2 ifodasi 50 ± 2.5 % gacha oshib, Caspase-3 29 ± 1.7 % gacha kamaygan, ya’ni apoptoz darajasi ancha pasaygan.

Umuman olganda, yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvi kalamushlarning har ikki yosh davrida ham hujayra proliferatsiyasini sekinlashtirib, apoptotik jarayonlarni kuchaytirgan. Biostimulyator esa bu salbiy ta’sirni qisman kamaytirib, proliferatsiya va antiapoptotik himoya mexanizmlarini tiklanishiga yordam bergan.

Muhokama.

Olingan natijalar tahlili yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvi oq zotsiz kalamushlarning reproduktiv tizimiga sezilarli darajada salbiy ta’sir ko‘rsatishini ko‘rsatdi. Ushbu suvning uzoq muddatli iste’moli spermatogen epiteliy hujayralarida morfologik buzilishlarga, proliferatsion faollikning kamayishiga va apoptotik jarayonlarning kuchayishiga olib keldi. Bu holat suv tarkibidagi xlorid, sulfat, natriy va kalsiy tuzlarining ortiqcha miqdorda bo‘lishi natijasida hujayra ichki muvozanatining buzilishi va oksidlovchi stressning kuchayishi bilan izohlanadi.

Immunogistokimyoviy tahlil natijalari ham bu jarayonni tasdiqlaydi. Ki-67 markerining kamayishi hujayra bo‘linishining sekinlashganini, Bcl-2 ifodasining pasayishi esa antiapoptotik himoyaning susayganini ko‘rsatadi. Shu bilan birga, Caspase-3 markeri yuqori darajada ekspressiyalangan bo‘lib, bu apoptotik hujayralar sonining oshganidan dalolat beradi.

Biostimulyatorlar, xususan, tabiiy kelib chiqishga ega limon kislotasi va o‘simlik ekstraktlari, bu jarayonlarni ma’lum darajada normallashtirgan. Ularning ta’sirida proliferatsion ko‘rsatkichlar ortgan, apoptotik markerlar esa kamaygan. Bu hol biostimulyatorlarning antioksidant, membrana barqarorlashtiruvchi va metabolik jarayonlarni faollashtiruvchi xususiyatlari bilan izohlanadi.

Yosh omilini hisobga olgan holda aniqlanishicha, 3–6 oylik kalamushlar organizmi kimyoviy stressga nisbatan bardoshli bo‘lib, biostimulyatorlar fonida regeneratsion jarayonlar tezroq tiklangan. 9 oylik kalamushlarda esa korreksion samaradorlik nisbatan past bo‘lgan, bu esa yosh o‘tishi bilan adaptatsion imkoniyatlarning kamayishini ko‘rsatadi.

Olingan natijalar boshqa dunyo olimlari olib borgan tadqiqotlar ma’lumotlariga qisman mos keladi. Ularning tadqiqotlarida ham kimyoviy tarkibli suv yoki toksik muhit ta’sirida proliferatsiya pasayib, apoptoz jarayonlari kuchaygani, biostimulyatorlar esa bu salbiy o‘zgarishlarni kamaytirgani ta’kidlangan.

Demak, olib borilgan eksperimental kuzatuvlar yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvi reproduktiv tizim hujayralarida degenerativ va apoptozga moyil o‘zgarishlarni keltirib chiqarishini, biostimulyatorlar esa bu jarayonlarga qarshi ma’lum darajada himoya ta’siri ko‘rsatishini ilmiy asosda isbotladi.

Xulosa.

Yuqori kimyoviy tarkibli yer osti suvining uzoq muddatli iste’moli oq zotsiz kalamushlarning moyak va epididimis to‘qimalarida morfologik hamda funksional o‘zgarishlarni keltirib chiqardi. Immunogistokimyoviy tahlil natijalariga ko‘ra, bu suv Ki-67 va Bcl-2 markerlarining ifodalanishini kamaytirib, Caspase-3 ifodasini kuchaytirgan, natijada proliferatsion jarayonlar susayib, apoptotik faollik ortgan.

Biostimulyatorlar toksik ta’sirga uchragan hujayralarda tiklanish va himoya mexanizmlarini faollashtirdi. Ular proliferatsiya jarayonini rag‘batlantirib, apoptotik hujayralar sonini kamaytirdi, ayniqsa yosh (3–6 oylik) kalamushlarda tiklanish jarayoni yanada faol kechgan. Ushbu natijalar biostimulyatorlarning oksidlovchi stressga qarshi himoya xususiyatiga ega ekanini va reproduktiv tizimda hujayra barqarorligini saqlashda muhim o‘rin tutishini tasdiqlaydi.

ADABIYOTLAR

1. Ward, J.M. Immunohistochemical markers for the rodent immune system // Toxicologic Pathology. – 2006. – Vol. 34(5). – P. 609–615. – DOI: 10.1080/01926230600979811.

2. Pereira, C.D., Severo, M., Araújo, J.R., Guimarães, J.T., Pestana, D., Santos, A., Monteiro, R., Martins, M.J. Effects of natural mineral-rich water consumption on metabolic and morphological parameters in rodents // Nutrition & Metabolism. – 2014. – Vol. 11(1). – P. 11–15. – DOI: 10.1186/1743-7075-11-1.

3. Wu, J., Schaum, J. In vitro assessment of reproductive toxicity on rats induced by organic contaminants of source water // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2011. – Vol. 30(2). – P. 379–385. – DOI: 10.1002/etc.392.

4. Nastasa, V., Samoila, I., Gherghiceanu, M., Filip, A., Stan, G.E. Toxicity assessment of long-term exposure to non-thermal plasma activated water (PAW) in CD1 mice // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22(21). – P. 11534. – DOI: 10.3390/ijms222111534.

5. Zeng, H., Zhang, J., Chen, C., Luo, Y., Chen, L. Experimental comparison of the reproductive outcomes and early development of the offspring of rats given five common types of drinking water // PLOS ONE. – 2014. – Vol. 9(10). – e108955. – DOI: 10.1371/journal.pone.0108955.

6. Carvalho, C.M., Silva, C., Oliveira, R. Effects of environmental water contamination in the reproductive system of Balb-C mice exposed to different

source waters // Journal of Environmental Protection. – 2013. – Vol. 4(6). – P. 523–529. – DOI: 10.4236/jep.2013.46061.

7. Hegazy, E.M., Abo El-Magd, N.F. Immunohistochemical evaluation of Bcl-2 and Ki-67 in buccal mucosa of induced-immunosuppressed albino rats // Egyptian Dental Journal. – 2018. – Vol. 64(4). – P. 3403–3411. – URL: https://edj.journals.ekb.eg/article_76801.html.

8. Escobar, E., Ramírez, P., Salazar, A. Immunohistochemical expression of COX-2, Ki-67, Bcl-2, Bax, VEGF and CD105 according to histological grading in oral squamous cell carcinoma // Diagnostic Pathology. – 2023. – Vol. 18(1). – P. 58. – DOI: 10.1186/s13000-023-01369-9.

9. Narotsky, M.G., Best, D.S., McDonald, A., Godin, E.A., Hunter, E.S. Reproductive toxicity of a mixture of regulated drinking-water disinfection by-products in a multigenerational rat bioassay // Environmental Health Perspectives. – 2015. – Vol. 123 (11). – P. 1127–1132. – DOI: 10.1289/ehp.1408869.

10. Ahmad, R., et al. *Protective effects of Spirulina platensis against oxidative stress and testicular damage induced by heavy metals in rats. – Biomed Pharmacother*, 2019. – Vol. 109. – P. 277–285.

11. El-Refaey, H.M., et al. *Immunohistochemical evaluation of testicular damage and regeneration in rats exposed to water pollutants and treated with natural antioxidants. – Environ Toxicol Pharmacol*, 2022. – Vol. 95. – P. 103933.