

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ТОКСИКОЛОГИИ И АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ RESEARCH METHODS IN TOXICOLOGY AND ANALYTICAL CHEMISTRY

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Валиулин Л.Р.<sup>1</sup>, Тимербулатова Л.М.<sup>2</sup>, Егоров В.И.<sup>3</sup>, Зарипов Ф.Р.<sup>4</sup>, Рагинов И.С.<sup>1,5</sup>, Набатов А.А.<sup>6</sup>

# Использование сперматозоидов быка как экспресс-тест на митохондриальную токсичность Т-2-токсина и дельтаметрина

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», 420075, Казань, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГАУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, Казань, Российская Федерация;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», 420015, Казань, Российская Федерация;

<sup>4</sup>АО «Главное племенное предприятие "Элита"», 422701, село Высокая Гора, Высокогорский район, Республика Татарстан, Российская Федерация;

<sup>5</sup>ГАУЗ «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан», 420138, Казань, Российская Федерация;

<sup>6</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, 420012, Российская Федерация

**Введение.** Современные требования по внедрению лекарственных препаратов в клиническую практику включают тест на митохондриальную токсичность. Митохондрии являются мишенями многих фармацевтических и терапевтических средств, которые могут их повредить и привести к изменениям в морфологии и функции. Сперматозоиды имеют одно из самых больших соотношений митохондрий к размеру тела, у них отсутствует цитоплазма между митохондриями и плазматической мембраной, поэтому они являются хорошей потенциальной моделью для экспресс-теста на митохондриальную токсичность.

**Цель работы** – оценка подвижности и митохондриального мембранного потенциала бычьих сперматозоидов *Bos taurus taurus* в присутствии Т-2-токсина и дельтаметрина.

**Материал и методы.** В качестве токсинов использовался Т-2-токсин и дельтаметрин. Основными изучаемыми параметрами были уровень митохондриального потенциала (с помощью красителя MitoTracker™ Green FM), подвижность сперматозоидов и их взаимосвязь.

**Результаты.** Обнаружено, что между подвижностью сперматозоидов быка и митохондриальным потенциалом их митохондрий существует сильная корреляция ( $R > 0,87$ ;  $p < 0,05$ ). Была подтверждена митохондриальная токсичность дельтаметрина, хотя и в гораздо меньшей степени, чем у Т-2-токсина. Кроме того, были обнаружены определенные закономерности в распределении активных зон митохондриального потенциала у сперматозоидов быка.

**Заключение.** С помощью дельтаметрина и Т-2-токсина в данном исследовании было показано, что сперматозоиды быков и их митохондриальный потенциал могут быть использованы в качестве экспресс-теста на митохондриальную токсичность.

**Ограничения исследования.** Определение митохондриального потенциала изучаемых сперматозоидов с помощью красителя MitoTracker™ имело скорее качественный характер, отражая не столько уровень собственно потенциала, сколько количество сперматозоидов, имеющих потенциал достаточный для инициации свечения красителя.

**Ключевые слова:** микотоксины; вторичные метаболиты; Т-2-токсин; митохондриальная токсичность; сперматозоиды

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

**Для цитирования:** Валиулин Л.Р., Тимербулатова Л.М., Егоров В.И., Зарипов Ф.Р., Рагинов И.С., Набатов А.А. Использование сперматозоидов быка как экспресс-тест на митохондриальную токсичность Т-2-токсина и дельтаметрина. *Токсикологический вестник*. 2023; 31(1): 47-53. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-1-47-53>

**Для корреспонденции:** Тимербулатова Лейсан Маратовна, аспирант ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, г. Казань, Российская Федерация. E-mail: L\_Z\_93@mail.ru

**Участие авторов:** Валиуллин Л.Р., Егоров В.И., Рагинов И.С. — концепция и дизайн исследования, статистический анализ; Зарипов Ф.Р. — сбор и обработка материала; Набатов А.А. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Тимербулатова Л.М. — сбор и обработка материала, редактирование. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность Д.В. Самигуллину за предоставление необходимых средств для конфокальной микроскопии для проведения этого исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУН «Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук"».

Поступила в редакцию: 02 сентября 2022 / Принята в печать: 2023 / Опубликовано: 28 февраля 2023

Valiullin L.R.<sup>1</sup>, Timerbulatova L.M.<sup>2</sup>, Egorov V.I.<sup>3</sup>, Zaripov F.R.<sup>4</sup>, Raginov I.S.<sup>1,5</sup>, Nabatov A.A.<sup>6</sup>

## Use of bovine spermatozoa as a rapid test for mitochondrial toxicity of T-2-toxin and deltamethrin

<sup>1</sup>Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 420075, Kazan, Russian Federation;

<sup>2</sup>Kazan (Volga region) Federal University, 420008, Kazan, Russian Federation;

<sup>3</sup>Kazan State Agrarian University, 420015, Kazan, Russian Federation;

<sup>4</sup>JSC "Head breeding enterprise "Elite", 422701, Vysokogorsky district, Republic of Tatarstan, Russian Federation;

<sup>5</sup>Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, 420138, Kazan, Russian Federation;

<sup>6</sup>Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, 420012, Russian Federation

**Introduction.** The testing for mitochondrial dysfunction has become routine assay for drug and cosmetics safety evaluation. Mitochondria are targets of many pharmaceutical and therapeutic agents that can damage them and lead to changes in morphology and function. Spermatozoa have one of the highest ratios of mitochondria to body size, they lack the cytoplasm between the mitochondria and the plasma membrane, which makes them a good potential model for a rapid test on mitochondrial toxicity.

The **aim of our work** — assessment of motility and mitochondrial membrane potential of bovine spermatozoa *Bos taurus taurus* in the presence of T-2-toxin and deltamethrin.

**Material and methods.** T-2-toxin and deltamethrin were used as toxins. The main parameters studied were the level of mitochondrial potential (using the MitoTracker™ Green FM dye), sperm motility and their relationship.

**Results.** We found a strong correlation between the motility of bovine spermatozoa and the mitochondrial potential of their mitochondria ( $R>0.87$ ;  $p<0.05$ ). The mitochondrial toxicity of deltamethrin has been confirmed, although to a much lesser extent than that of the T-2-toxin. In addition, certain patterns were found in the distribution of active zones of the mitochondrial potential in bull spermatozoa.

**Conclusion.** Using deltamethrin and T-2-toxin in this study, it was shown that the sperm cells of bulls and their mitochondrial potential can be used as an express test for mitochondrial toxicity.

**Limitations.** Determination of the mitochondrial potential of the studied spermatozoa using the MitoTracker™ dye was rather of a qualitative nature, reflecting not so much the level of the mitochondrial potential but the number of spermatozoa that have the potential sufficient to initiate the luminescence of the dye.

**Keywords:** mycotoxins; secondary metabolites; T-2-toxin; mitochondrial toxicity; spermatozoa

**Compliance with ethical standards.** The study doesn't require the submission of the opinion of the biomedical ethics committee or other documents.

**For citation:** Valiullin L.R., Timerbulatova L.M., Egorov V.I., Zaripov F.R., Raginov I.S., Nabatov A.A. Use of bovine spermatozoa as a rapid test for mitochondrial toxicity T-2-toxins and deltamethrin. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological Review)*. 2023; 31(1): 47-53. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2023-31-1-47-53> (in Russian)

**For correspondence:** Leysan M. Timerbulatova, post-graduate student Kazan (Volga region) Federal University, 420008, Kazan, Russian Federation. E-mail: L\_Z\_93@mail.ru

**Information about the authors:**

Valiulin L.R., <https://orcid.org/0000-0002-8277-3941>  
Egorov V.I., <https://orcid.org/0000-0002-9691-2009>  
Nabatov A.A., <https://orcid.org/0000-0001-7932-1445>

Timerbulatova K.M., <https://orcid.org/0000-0001-6321-6130>  
Reginov I.S., <https://orcid.org/0000-0002-5279-2623>

**Author contribution:** Valiullin L.R., Egorov V.I., Raginov I.S. — concept and design of the study, statistical analysis; Zariipov F.R. — collection and processing of material; Nabatov A.A. — concept and design of the study, writing the text; Timerbulatova L.M. — collection and processing of material, editing. All co-authors — approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

**Acknowledgment.** Authors express gratitude to D.V. Samigullin for providing the necessary confocal microscopy facilities to carry out this work.

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The research was carried out with the financial support of the Federal State Budgetary Institution "Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences".

Received: September 02, 2022 / Accepted: January 2023 / Published: February 28, 2023

## Введение

Тестирование на митохондриальную активность стало рутинным анализом при оценке безопасности лекарств и косметики [1]. Подходы, основанные на изучении содержания митохондриальной ДНК в клетках в физиологических условиях довольно трудоемки.

Митохондрии сперматозоидов отличаются от соответствующих органелл соматических клеток, однако общие особенности митохондрий, включая образование митохондриального мембранного потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ), остаются теми же [2]. Поэтому сперматозоиды являются уникальным модельным объектом *in vivo* для экспресс-тестирования митохондриальной дисфункции. Есть ряд исследований на сперматозоидах человека, которые показывают определённую взаимосвязь между их подвижностью и  $\Delta\Psi_m$  [3]. Однако видоспецифические особенности, которые существуют между сперматозоидами разных видов, а также этические требования делают человеческие сперматозоиды неподходящими для широкого использования [4].

Токсин Т-2 является наиболее сильным и токсичным среди пищевых трихотеценовых микотоксинов, ингибирующих: синтез ДНК, РНК, деление клеток, структуру мембран и функцию митохондрий [5–8]. Т-2-токсин ингибирует фертильность (включая подвижность сперматозоидов) взрослых животных мужского пола [9–11]. Кроме того, Т-2-токсин влияет на митохондриальную дисфункцию с индукцией апоптоза и снижением как  $\Delta\Psi_m$ , так и продукции АТФ [12–15]. Дельтаметрин, как и другие синтетические пиретроиды, обладает высокой инсектицидной активностью (из-за своей нейротоксичности) с некоторой токсичностью для птиц и млекопитающих [16]. Молекулярный механизм этой токсичности, по-видимому, связан с индукцией окислительного стресса, вызванного изменениями в организации липидов митохондриальной мембраны [17–19].

Однако, в отличие от Т-2-токсина, прямое участие дельтаметрина в митохондриальной токсичности остаётся неясным.

*Цель работы* — оценка подвижности и митохондриального мембранного потенциала бычьих сперматозоидов *Bos taurus taurus* в присутствии Т-2-токсина и дельтаметрина.

## Материал и методы

*Материалы.* В качестве токсинов в исследовании использовали: 1) дельтаметрин, произведённый в ООО «Научно-производственная фирма "Современные химические и физические технологии"» (г. Уфа); 2) Т-2-токсин, синтезированный биологическим путём в лаборатории отдела токсикологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» (г. Казань). Исходные растворы токсинов готовили с использованием диметилсульфоксида (ДМСО). Образец спермы был приобретён в ООО «Плино» (Россия) в замороженном виде (жидкий азот) от элитных быков (возраст 5 лет) голштинской породы.

*Методы.* Образцы спермы непосредственно перед использованием размораживали путём инкубации на водяной бане при 37 °С. После оттаивания образцы спермы разводили в водном растворе, содержащем 3% глюкозы, 1,5% цитрата натрия 5-водного, 10% желтка, пенициллин-стрептомицин 0,75 Ед/мл.

Для оценки подвижности сперматозоидов после добавления токсинов сперму быка (10 млн/мл) предварительно инкубировали с разной концентрацией разведенных токсинов (0,1 нМ; 1 нМ; 10 нМ; 100 нМ для Т-2-токсина; 0,01 мкМ; 0,1 мкМ; 1 мкМ; 10 мкМ для дельтаметрина) в течение 15 мин при 37 °С. В качестве контроля использовали сперму быка, не обработанную токсинами. Подвижность сперматозоидов оценивали вручную. Количество активных (подвижных) клеток подсчитывали под стереомикроскопом «Микромед» (Россия) с тёмным полем при 10-кратном увеличении. Оценка включала 40 сперматозоидов

на одно оптическое поле. В каждом поле выбор для просмотра ячеек начинался с позиции 12 ч и двигался по часовой стрелке. Нами были выбраны 4 произвольных и независимых поля. В работе была использована только суспензия сперматозоидов с подвижностью более 70%. Анализ проводили по методу Бавистера и Эндрюса [20].

После разморозки спермы для выявления активных митохондрий в живых сперматозоидах добавляли флуоресцентный краситель MitoTracker™ Green FM (Molecular Probes, Eugene, США) до 200 нМ с последующей инкубацией в течение 20 мин при 37 °С. Окрашенные образцы использовали для флуоресцентной и конфокальной микроскопии с помощью микроскопа Leica TCS SP5 (Leica Microsystems GmbH, Германия). Процент окрашенных сперматозоидов определяли, как описано у Sousa с соавторами [21]. Вкратце, 200 сперматозоидов на покровном стекле подсчитывали как минимум с четырёх разных полей. Во всех экспериментах подсчеты проводились как минимум двумя наблюдателями, а образцы были слепыми (неизвестные для наблюдателя). Точное местоположение флуоресцентного сигнала в отдельных клетках сперматозоидов оценивали с помощью конфокальной микроскопии.

*Статистический анализ* проводили с использованием программного обеспечения SPSS, версия 20 (SPSS Inc., США). Характер распределения образцов был проанализирован с использованием теста Колмогорова–Смирнова. Корреляционный анализ Пирсона (коэффициент корреляции  $R$ ) был проведён для оценки уровня корреляции между наборами данных  $\Delta\Psi_m$  и подвижности сперматозоидов. Данные в тексте и таблицах представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ).

## Результаты и их обсуждение

Для оценки уровня  $\Delta\Psi_m$  бычьих сперматозоидов мы использовали окрашивание митохондрий *in vivo* с помощью флуоресцентного красителя MitoTracker™ Green FM (далее – MitoTracker), дающего зелёный свет в зависимости от уровня  $\Delta\Psi_m$ . Сперматозоиды быка продемонстрировали разнообразие сигнала MitoTracker и относительно низкий уровень специфичного для MitoTracker сигнала (около 5% сперматозоидов, рис. 1, а). Мы обнаружили два основных паттерна сигнала в пучках и головках сперматозоидов.

Первый тип (рис. 1, б) характеризовался равной окраской пучка и головы с повышенной интенсивностью в области шейки.

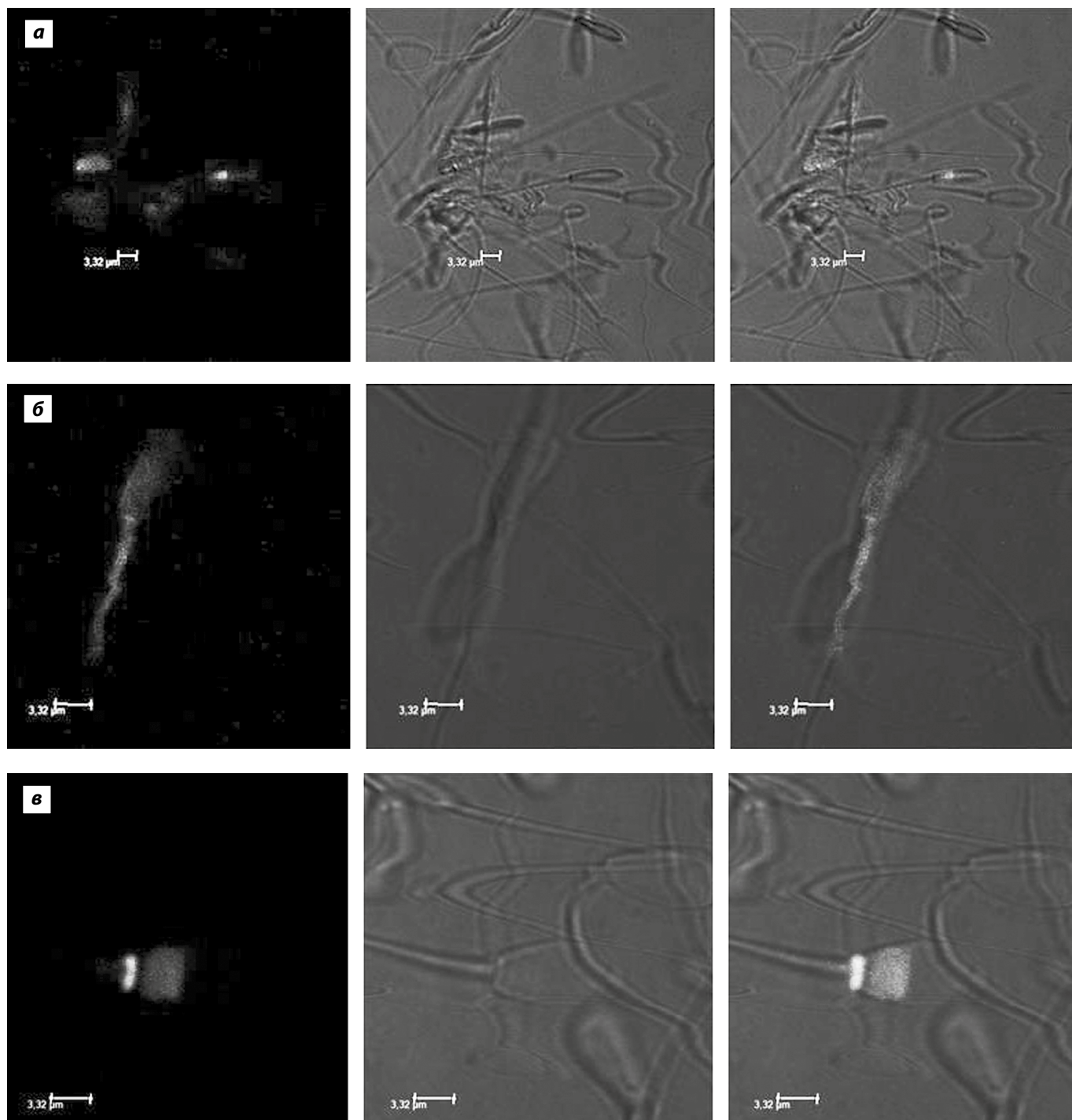
Второй тип (рис. 1, в) демонстрировал интенсивный сигнал в области шеи и в шейно-проксимальной половине головы, тогда как пучок не был четко окрашен. Оба типа сигнала считались положительными на MitoTracker.

Инкубация сперматозоидов с серийными разведениями дельтаметрина и Т-2-токсина значительно снижала процент клеток, проявляющих сигнал MitoTracker (рис. 2). Однако существенная разница в концентрациях токсина, влияющего на  $\Delta\Psi_m$ , показала, Т-2-токсин в 1000 раз более мощный ингибитор  $\Delta\Psi_m$ , чем дельтаметрин. В самой высокой концентрации (10 мкМ) дельтаметрин значительно снижал ( $1,3 \pm 1,1\%$  против отрицательного контроля  $5,2 \pm 0,3\%$ ,  $p < 0,05$ ) количество MitoTracker-позитивных клеток, тогда как для Т-2-токсина аналогичная степень ингибирования ( $1,27 \pm 1,1\%$  против отрицательного контроля  $5,0 \pm 0,8\%$ ,  $p < 0,05$ ) была получена при концентрации 10 нМ.

Характер ингибирования подвижности сперматозоидов был сходен с ингибированием  $\Delta\Psi_m$  (рис. 3). Т-2-токсин практически полностью прекращал движения сперматозоидов при концентрации 1 нМ. Кроме того, статистический анализ этих наборов данных выявил их нормальное распределение и сильную корреляцию между ними как для дельтаметрина, так и для Т-2-токсина ( $R = 0,93$  и  $R = 0,87$  соответственно,  $p < 0,05$ ).

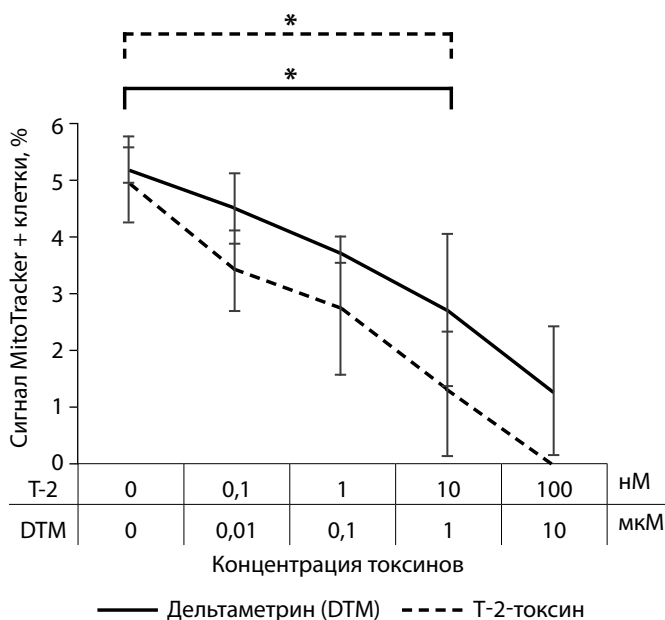
Т-2-токсин может влиять на несколько аспектов мужской репродуктивной системы, предполагая нарушения в механизме, общем для разных типов клеток. В этом исследовании мы сосредоточили наши усилия на влиянии Т-2-токсина на функцию митохондрий, используя сперматозоиды в качестве модельного объекта.

Несмотря на их высокую подвижность ( $\geq 70\%$ ), даже в отсутствие токсинов только около 5% сперматозоидов демонстрировали специфичный для MitoTracker сигнал, отражающий значительный  $\Delta\Psi_m$ . Небольшое количество сперматозоидов, которые демонстрировали сигнал MitoTracker, может быть связано с активным использованием гликолиза, обеспечивающим энергию для подвижности сперматозоидов, или с низким  $\Delta\Psi_m$ , который все еще может обеспечивать энергию для подвижности сперматозоидов [22, 23]. Обнаруженное различие в распределении красителя в структуре сперматозоидов, по-видимому, связано с разными стадиями созревания сперматозоидов в эякуляте [4, 21]. Все эти факты свидетельствуют о том, что, помимо морфологического разнообразия, сперматозоиды быка, как и человека, отличаются энергетическими свойствами, опосредованными митохондриями [21, 24, 25].



**Рис. 1.** Конфокальная микроскопия сперматозоида, окрашенного красителем MitoTracker™ Green FM: *a* – общий уровень красителя MitoTracker-положительных сперматозоидов крупного рогатого скота; *б, в* – два разных типа MitoTracker-положительных сперматозоидов крупного рогатого скота. Слева направо: поле красителя MitoTracker™ Green FM, оптическое поле, наложение красителя на оптическое поле.

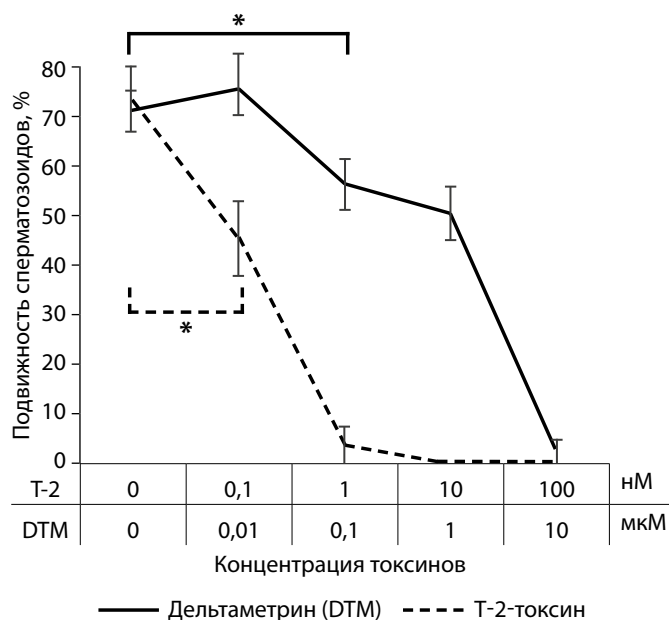
**Fig. 1.** Confocal microscopy of a spermatozoa stained with MitoTracker™ Green FM: From left to right: *a* – Total level of MitoTracker-positive bovine spermatozoa; *б, в* – two different types of MitoTracker-positive bovine spermatozoa. MitoTracker Green dye field, optical field, dye overlay on the optical field.



**Рис. 2.** Влияние серийных разведений дельтаметрина (DTM) и T-2-токсина на специфический сигнал MitoTracker. \* – область со статистической значимостью результатов ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 2.** Effect of serial dilutions of deltamethrin (DTM, nM) (solid line) and T-2 toxin (dashed line) on the MitoTracker specific signal (mkm).

\* – area with statistical significance of the results,  $p < 0.05$ .



**Рис. 3.** Влияние серийных разведений дельтаметрина и T-2-токсина на подвижность бычьих сперматозоидов. \* – область со статистической значимостью результатов ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 3.** Effect of serial dilutions of deltamethrin (DTM, nM) (solid line) and T-2 toxin (mkm) (dashed line) on bovine spermatozoa motility.

\* – area with statistical significance of the results,  $p < 0.05$ .

Дельтаметрин-опосредованное ингибирование сигнала и подвижности MitoTracker коррелировало друг с другом, подтверждая функциональную взаимосвязь между этими параметрами [21]. Митохондриальная функция играет важную роль во многих аспектах мужской репродуктивной системы от стероидогенеза и сперматогенеза до подвижности сперматозоидов [26–30].

## Заключение

С помощью дельтаметрина и T-2-токсина в данном исследовании было показано, что сперматозоиды быков и их митохондриальный потенциал могут быть использованы в качестве экспресс-теста на митохондриальную токсичность.

## Выводы

1. T-2-токсин и дельтаметрин значительно снижают подвижность сперматозоидов и митохондриальный мембранный потенциал.

2. T-2-токсин в 1000 раз более мощный ингибитор митохондриального мембранного потенциала, в сравнении с дельтаметрином.

3. Использование сперматозоидов быка может быть относительно дешёвым и быстрым методом оценки митохондриальной токсичности.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность ФГБУН «Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук"» и лично Д.В. Самигуллину за предоставление необходимых средств для конфокальной микроскопии для проведения этого исследования.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Dykens J.A., Will Y. The significance of mitochondrial toxicity testing in drug development. *Drug Discov Today*. 2007; 17: 777–85.
- Piomboni P., Focarelli R., Stendardi A., Ferramosca A., Zara V. The role of mitochondria in energy production for human sperm motility. *Int J Androl*. 2012; 35(2): 109–24.
- Marchetti C., Obert G., Deffosez A., Formstecher P., Marchetti P. Study of mitochondrial membrane potential, reactive oxygen species, DNA fragmentation and cell viability by flow cytometry in human sperm. *Hum Reprod*. 2002; 17(5): 1257–65.
- Rowe M., Laskemoen T., Johnsen A., Lifjeld J.T. Evolution of sperm structure and energetics in passerine birds. *Proc. R. Soc.* 2013; 280(1753): 2012–16.
- Dohnal V., Jezkova A., Jun D., Kuca K. Metabolic pathways of T-2 toxin. *Curr Drug Metab*. 2008; 9(1): 77–82.
- Li Y., Wang Z., Beier R.C., Shen J., De Smet D., De Saeger S., Zhang S. T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin: review of toxicity, metabolism, and analytical methods. *J Agric Food Chem*. 2011; 59(8): 3441–53.
- Fried H.M., Warner J.R. Cloning of yeast gene for trichodermin resistance and ribosomal protein L3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1981; 78: 238.
- Rocha O., Ansari K., Doohan F.M. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. *Food Addit Contam*. 2005; 22(4): 369–78.
- Yuan P., Zhang H., Cai C., Zhu S., Zhou Y., Yang X., He R., Li C., Guo S1, Li S., Huang T., Perez-Cordon G., Feng H., Wei W. Chondroitin sulfate proteoglycan 4 functions as the cellular receptor for Clostridium difficile toxin B. *Cell Res*. 2015; 25(2): 157–68.



10. Kovács M., Tornyo G., Matics Z., Kametler L., Rajli V., Bodnár Z., Kulcsár M., Huszenicza G., Keresztes Z., Cseh S. Subsequent effect of subacute T-2 toxicosis on spermatozoa, seminal plasma and testosterone production in rabbits. *Animal*. 2011; 5(10): 1563–9.
11. Alm H., Greising T., Brussow K.P., Torner H., Tiemann U. The influence of the mycotoxins deoxynivalenol and zearalenon on *in vitro* maturation of pig oocytes and *in vitro* culture of pig zygotes. *Toxicol. In Vitro*. 2002; 16: 643–8.
12. Bouaziz C., Martel C., Sharaf el dein O., Abid-Essefi S., Brenner C., Lemaire C., Bacha H. Fusarial toxin-induced toxicity in cultured cells and in isolated mitochondria involves PTPC-dependent activation of the mitochondrial pathway of apoptosis. *Toxicol Sci*. 2009; 110(2): 363–75.
13. Wu J., Jing L., Yuan H., Peng S.Q. T-2 toxin induces apoptosis in ovarian granulosa cells of rats through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. *Toxicol Lett*. 2011; 202(3): 168–77.
14. Liu J., Wang L., Guo X., Pang Q., Wu S., Wu C., Xu P., Bai Y. The role of mitochondria in T-2 toxin-induced human chondrocytes apoptosis. *PLoS One*. 2014; 9(9): 108394.
15. Fan H., Wu Y., Guo J., Rong J., Ma L., Zhao Z., Zuo D., Peng S. T-2 toxin induces apoptosis in differentiated murine embryonic stem cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. *Apoptosis*. 2012; 17(8): 895–907.
16. Kung T.S., Richardson J.R., Cooper K.R., White L.A. Developmental Deltamethrin Exposure Causes Persistent Changes in Dopaminergic Gene Expression, Neurochemistry, and Locomotor Activity in Zebrafish. *Toxicol Sci*. 2015; 146(2): 235–43.
17. Lu M., Zhao X., Yuan D., Xu D., Yao P., Ji W., Chen H., Liu W., Yan C., Xia Y., Li S., Tao J., Ma Q. Mitochondrial Dysfunction in Neural Injury. *Front. Neurosci*. 2019; 13: 30.
18. Chen H., McCaffery J.M., Chan D.C. Mitochondrial fusion protects against neurodegeneration in the cerebellum. *Cell*. 2007; 130(3): 548–62.
19. Braguini W.L., Cadena S.M., Carnieri E.G., Rocha M.E., de Oliveira M.B. Effects of deltamethrin on functions of rat liver mitochondria and on native and synthetic model membranes. *Toxicol Lett*. 2004; 152(3): 191–202.
20. Bavister B.D., Andrews J.C. A rapid sperm motility bioassay procedure for quality-control testing of water and culture media. *J In Vitro Fert Embryo Transf*. 1988; 5(2): 67–75.
21. Sousa A.P., Amaral A., Baptista M., Tavares R., Campo P.C., Peregrin P.C., Freitas A., Paiva A., Almeida-Santos T., Ramalho-Santos J. Not All Sperm Are Equal: Functional Mitochondria Characterize a Subpopulation of Human Sperm with Better Fertilization Potential. *PLoS One*. 2011; 6(3): 18112.
22. Storey B.T. Mammalian sperm metabolism: oxygen and sugar, friend and foe. *Int J Dev Biol*. 2008; 52: 427–37.
23. Lord T., Nixon B. Metabolic Changes Accompanying Spermatogonial Stem Cell Differentiation. *Dev Cell*. 2020; 52: 399–411.
24. Higginson D.M., Pitnick S. Evolution of intra-ejaculate sperm interactions: do sperm cooperate? *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2011; 86: 249–270.
25. Ramon M., Jimenez-Rabadan P., Garcia-Alvarez O., Maroto-Morales A., Soler A.J., Fernandez-Santos M.R., Perez-Guzman M.D., Garde J.J. Understanding sperm heterogeneity: biological and practical implications. *Reprod Domest Anim*. 2014; 49(4): 30–6.
26. Allen J.A., Shankara T., Janus P., Buck S., Diemer T., Hales K.H., Hales D.B. Energized, polarized, and actively respiring mitochondria are required for acute Leydig cell steroidogenesis. *Endocrinology*. 2006; 147: 3924–35.
27. Midzak A.S., Chen H., Aon M.A., Papadopoulos V., Zirkin B.R. ATP synthesis, mitochondrial function, and steroid biosynthesis in rodent primary and tumor Leydig cells. *Biol Reprod*. 2011; 84: 976–85.
28. Fumel B., Roy S., Fouchecourt S., Livera G., Parent A.S., Casas F., Guillouf F. Depletion of the p43 mitochondrial T3 receptor increases Sertoli cell proliferation in mice. *PLoS One*. 2013; 8: e74015.
29. Gong Y., Zhang Z., Chang Z., Zhou H., Zhao R., He B. Inactivation of glycogen synthase kinase-3alpha is required for mitochondria-mediated apoptotic germ cell phagocytosis in Sertoli cells. *Aging (Albany NY)*. 2018; 10: 3104–16.
30. Varuzhanyan G., Chan D.C. Mitochondrial dynamics during spermatogenesis. *J Cell Sci*. 2020; 133.

## ОБ АВТОРАХ:

**Валиуллин Ленар Рашидович (Valiulin Kenar Rashidovich)**, кандидат биол. наук, заведующий сектором питательных сред и культур клеток ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», 420075, г. Казань, Российская Федерация. E-mail: valiullin27@mail.ru

**Тимербулатова Лейсан Маратовна (Timerbulatova Leysan Maratovna)**, аспирант ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, г. Казань, Российская Федерация. E-mail: L\_Z\_93@mail.ru

**Егоров Владислав Иванович (Egorov Vladislav Ivanovich)**, кандидат биол. наук, ассистент кафедры таксации и экономики лесной отрасли ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», 420015, г. Казань, Российская Федерация. E-mail: vladislav.e@inbox.ru

**Зарипов Фаннур Рафхатович (Zaripov Fannur Rafkhatovich)**, генеральный директор Акционерного общества «Головное племенное предприятие "Элита"», 422701, село Высокая Гора, Высокогорский район, Республика Татарстан, Российская Федерация. E-mail: fannur.zaripov@elitaplem.ru

**Рагинов Иван Сергеевич (Raginov Ivan Sergeevich)**, доктор мед. наук, старший научный сотрудник сектора гистологических исследований ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», 420075, г. Казань, Российская Федерация; заведующий отделением патологоанатомии ГАУЗ «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан», 420138, Казань, Российская Федерация. E-mail: raginovi@inbox.ru

**Набатов Алексей Анатольевич (Nabatov Altksey Anatolevich)**, доктор биол. наук, доцент ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 420012, Казань, Российская Федерация. E-mail: Nabatovalex@hotmail.com

