

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЯИЧЕК БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ БИСФЕНОЛА А И ТРИКЛОЗАНА

Чигринцев С.В., Брюхин Г.В., Завьялов С.Н.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: chigrinstas@gmail.com

MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF TESTES IN WHITE RATS TREATED WITH BISPHENOL A AND TRICLOSAN

Chigrinets SV, Bryuhin GV, Zavyalov SN.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia; e-mail: chigrinstas@gmail.com

Для цитирования:

Чигринцев С.В., Брюхин Г.В., Завьялов С.Н. Морфофункциональная характеристика яичек белых крыс при воздействии бисфенола А и триклозана // Морфологические ведомости. – 2018. – Том 26. – № 4. – С. 32-34. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.18\(26\).04.32-34](https://doi.org/10.20340/mv-mn.18(26).04.32-34)

For the citation:

Chigrinets SV, Bryuhin GV, Zavyalov SN. Morphofunctional characteristics of testes in white rats treated with bisphenol A and triclosan. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2018 Dec 30;26(4):32-34. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.18\(26\).04.32-34](https://doi.org/10.20340/mv-mn.18(26).04.32-34)

Резюме: Изучали влияние нестойких убиквитарных эндокринных дизрапторов бисфенола А (BPA) и триклозана (TCS) на репродуктивную функцию половозрелых самцов крыс Вистар. Концентрации BPA и TCS измеряли непосредственно в ткани яичка методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS). Было обнаружено, что группы сравнения статистически значимо различались по концентрации бисфенола А и триклозана в тканях яичка. Проведенное исследование показало, что бисфенол А и триклозан оказывают негативное влияние на морфофункциональное состояние мужских половых желез половозрелых крыс, вызывая снижение массы яичек, уменьшение площади паренхимы, числа и диаметра семенных извитых канальцев, увеличение числа извитых семенных канальцев со слущенным эпителием, а также снижение количества сперматозоидов на фоне увеличения их атипичных форм.

Ключевые слова: яичко крысы, морфология яичка, сперматогенез, бисфенол А, триклозан

Summary: We studied the effect of unstable ubiquitous endocrine disrupters bisphenol A (BPA) and triclosan (TCS) on the reproductive function of adult male Wistar rats. BPA and TCS concentrations were measured directly in testicular tissue by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). Comparison groups were found to be statistically significantly different in the concentrations of bisphenol A and triclosan in testicular tissues. The study showed that bisphenol A and triclosan have a negative effect on the morphofunctional state of the male reproductive glands of sexually mature rats, causing a decrease in testicular mass, a decrease in parenchyma, the number and diameter of the seminiferous tubules, an increase in the number of convoluted seminiferous tubules with desquamated epithelium, and a decrease in sperm cells on the background of an increase in their atypical forms.

Keywords: rat testicle, testicle morphology, spermatogenesis, bisphenol A, triclosan

Введение. Нарушение репродуктивного здоровья мужчин является одной из актуальных проблем медицины во всем мире. Известно, что при мужском бесплодии в не менее чем 50% случаев обнаруживается патозооспермия – нарушение качества эякулята. Доля мужского бесплодия с неизвестной причиной является самой значительной и составляет 30-40%. Такое бесплодие может быть вызвано токсическими факторами – эндокринными дизрапторами (далее - EDs) [1]. К наиболее известным нестойким убиквитарным эндокринным дизрапторам относятся фталаты, бисфенол А (далее - BPA), триклозан (далее - TCS) [2-3]. BPA и TCS – нестойкие фенольные соединения, которые широко используются человеком в повседневной жизни и обнаруживаются в более чем 90% образцах мочи [4-5]. Изучение влияния BPA и TCS на процессы сперматогенеза и фертильный потенциал мужчин в настоящее время остается актуальным. Существенное значение в понимании роли эндокринных дизрапторов в развитии мужского бесплодия имеют экспериментальные исследования на лабораторных животных, в частности, на крысах.

Цель исследования – анализ морфофункциональных особенностей яичек белых крыс, подвергнутых воздействию не токсических доз BPA и TCS.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на белых половозрелых лабораторных крысах самцах Вистар массой 150-193 г (всего 28 животных). Крысы самцы были разделены на 3 рандомизированные группы (контроль и две испытываемые группы). Крысы 1-ой испытываемой группы (n=10) получали BPA, а крысы 2-ой испытываемой группы (n=8) получали TCS. Контрольную группу составили интактные животные в количестве 10 особей. Подопытные животные в течение двух месяцев ежедневно получали с пищей BPA и TCS со степенью гомогенности >97% (Sigma-Aldrich, США) в дозе 200 мг/кг.

Работа с лабораторными животными выполнялась в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР №755 от 12.08.77). Материал фиксировали в жидкости Карнуа с последующей заливкой в парафин стандартным способом. Серийные срезы яичек окрашивали гематоксилином-эозином. Морфометрические измерения выполнялись при помощи лицензированного программного обеспечения «Видео Тест-Морфология 5.0» и включали измерение диаметра и площади извитых семенных канальцев (50 строго поперечных срезов семенных канальцев), площади паренхимы и стромы яичек, толщины сперматогенного эпителия (25 строго поперечно срезированных канальцев с 4-х сторон на 12, 3, 6 и 9 часах с вычислением среднего), а также осуществлялся подсчет общего количества канальцев и количества канальцев со слущенным эпителием в 10 полях зрения (площадь одного поля зрения 0,88 мм²). Для оценки концентрации исследуемых EDs в яичках левое яичко было полностью гомогенизировано в стекляннотефлоновом гомогенизаторе, а затем для удаления клеточного детрита было подвергнуто центрифугированию при 700хg в течение 10 минут при температуре 40°C. Образовавшаяся в результате надосадочная жидкость была использована для измерения концентрации BPA и TCS методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS).

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке при помощи программы IBM SPSS Statistics v.21 (IBM Corp., Armonk, NY, США). Для определения статистически значимых различий между группами использовался U-критерий Манна-Уитни. Для установления связи между показателями вычислялся коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Различия между группами сравнения по концентрации BPA и TCS в яйцах были статистически значимыми ($p < 0,001$). Полученные результаты убедительно свидетельствуют о снижении абсолютной и относительной массы яиц по сравнению с группой контроля (табл. 1).

Таблица 1

Концентрация бисфенола А и триклозана в тканях яйца и морфофункциональные характеристики сперматогенеза при их воздействии

Параметр	Контроль (n=10)	Опыт 1 (BPA) (n=10)	p<	Опыт 2 (TCS) (n=8)	p<
	Me (Q ₁ -Q ₃)	Me (Q ₁ -Q ₃)		Me (Q ₁ -Q ₃)	
Бисфенол А, нг/мл	0,01 (0,00-0,03)	0,28 (0,22-0,29)	0,001	0,02 (0,01-0,05)	0,466
Триклозан, нг/мл	0,06 (0,05-0,08)	0,07 (0,04-0,08)	0,649	0,27 (0,23-0,46)	0,001
Масса правого яйца, г	1,61 (1,55-1,78)	1,44 (1,38-1,62)	0,049	1,45 (1,42-1,49)	0,001
Масса правого яйца/масса тела, %	0,93 (0,84-0,94)	0,84 (0,83-0,91)	0,040	0,88 (0,84-0,91)	0,284
Площадь паренхимы яйца, мм ²	4,03 (4,78-4,06)	4,01 (3,96-4,01)	0,004	3,99 (3,97-4,01)	0,012
Площадь стромы яйца, мм ²	0,38 (0,36-0,39)	0,40 (0,39-0,46)	0,004	0,42 (0,40-0,44)	0,012
Общее количество канальцев, п	133 (132-139)	127 (124-129)	0,004	131 (129-132)	0,069
Количество канальцев со слущенным эпителием, п	2 (1-4)	7 (4-8)	0,006	4 (3-6)	0,046
Толщина сперматогенного эпителия, мкм	98,4 (97,4-100,2)	90,57 (90,47-91,34)	0,001	93,2 (92,1-94,3)	0,001
Диаметр извитых семенных канальцев, мкм	284,9 (284,4-285,3)	312,7 (309,3-315,0)	0,001	306,3 (302,6-309,6)	0,001
Площадь извитых семенных канальцев, мм ²	0,067 (0,067-0,068)	0,075 (0,075-0,076)	0,001	0,073 (0,073-0,074)	0,001
Общее количество сперматозоидов, млн	15,9 (14,7-17,4)	11,4 (9,80-14,3)	0,004	15,3 (12,1-17,0)	0,475
Атипичные формы сперматозоидов, %	12,0 (9,0-12,0)	19,0 (15,0-19,0)	0,014	12,5 (11,0-13,5)	0,202

Исключение составили животные, подвергшиеся воздействию TCS, у которых снижение весового индекса яйца оказалось статистически не достоверным. Группы сопоставления для обоих эндокринных дизрапторов статистически значимо различались по площади паренхимы и площади стромы яйца, количеству извитых канальцев со слущенным эпителием, а также по толщине сперматогенного эпителия (табл. 1). С использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена между концентрацией BPA и TCS в ткани яйца и морфометрическими показателями сперматогенеза были обнаружены следующие корреляционные связи (табл. 2). Полученные статистически значимые корреляционные связи для толщины сперматогенного эпителия оказались связями высокой тесноты по шкале Чеддока.

Наши данные в отношении влияния BPA на такие гистоморфометрические показатели сперматогенеза как количество извитых канальцев со слущенным эпителием, толщина сперматогенного эпителия, дегенеративные изменения сперматогенного эпителия, согласуются с результатами других авторов [7-9]. Kumar и соавт. [10], изучая гистоморфологию репродуктивной системы, обнаружили снижение массы яичек и дегенеративные изменения в сперматогенном эпителии канальцев яичек и придатков яичек при кормлении крыс TCS в дозе 20 мг/кг/сут, что соответствует нашим результатам. Следует отметить, что количество работ по исследованию влияния триклозана на паренхиму яйца весьма ограничено и поэтому дальнейшее его изучение представляет интерес.

Заключение. Таким образом, полученные результаты настоящего исследования позволяют сделать вывод о том, что нестойкие убиквитарные эндокринные дизрапторы, бисфенол А и триклозан, оказывают в условиях эксперимента негативное влияние на морфофункциональное состояние яичек, что находит свое проявление, прежде всего, в снижении массы яичек, числа и диаметра семенных извитых канальцев, увеличении числа извитых семенных канальцев со слущенным эпителием, уменьшении толщины сперматогенного эпителия и, как следствие, снижение общего количества сперматозоидов на фоне увеличения их атипичных форм.

Концентрации эндокринных дизрапторов BPA и TCS в тканях яичек существенно отличались среди животных интактной и опытной групп, что, с одной стороны, может свидетельствовать об избирательном накоплении репротоксикантов в тканях яйца, а, с другой стороны, создавать условия для прямого длительного токсического действия BPA и TCS на сперматогенез. Полученные результаты в эксперименте вместе с ранее полученными нами данными [11] по

влиянию данных эндокринных дизрапторов на репродуктивную функцию у мужчин убедительно доказывают, что бисфенол А и триклозан можно рассматривать в качестве этиологических факторов, обуславливающих нарушение мужской фертильности.

Таблица 2
Корреляционные связи между концентрацией ВРА и TCS в ткани яичка и морфофункциональным характеристикам сперматогенеза

Параметр	ВРА		TCS	
	r	p<	r	p<
Масса правого яичка, г	-0,453	0,050	-0,779	0,001
Масса правого яичка/масса тела, %	-0,453	0,050	-0,260	0,298
Площадь паренхимы яичка, мкм ²	-0,661	0,001	-0,606	0,008
Площадь стромы яичка, мкм ²	0,661	0,001	0,606	0,008
Общее количество канальцев, п	-0,661	0,001	-0,440	0,067
Количество канальцев со слущенным эпителием, п	0,631	0,003	0,484	0,042
Толщина сперматогенного эпителия, мкм	-0,870	0,001	-0,866	0,001
Паренхима/строма яичка, %	-0,661	0,001	-0,606	0,008
Диаметр извитых семенных канальцев, мкм	0,870	0,001	0,866	0,001
Площадь извитых семенных канальцев, мкм ²	0,870	0,001	0,866	0,001
Общее количество сперматозоидов, млн	-0,661	0,001	-0,173	0,492
Атипичные формы сперматозоидов, %	0,562	0,010	0,310	0,211

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Nieschlag E, Behre HM. Andrology: male reproductive health and dysfunction.- Berlin: Heidelberg, 2010.
2. Geens T, Neels H, Covaci A. Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. Chemosphere. 2012;87(7):796-802.
3. Hond ED, Tournaye H, Sutter PD, Ombelet W, Baeyens W, Covaci A, Cox B, Nawrot TS, Larebeke NV, D'Hooghe T. Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: A case-control study in male subfertility patients. Environment International. 2015;84:154-160.
4. Li X, Ying G, Zhao J, Chen Z, Lai H, Su H. 4-Nonylphenol, bisphenol-A and triclosan levels in human urine of children and students in China, and the effects of drinking these bottled materials on the levels. Environment International. 2013;52:81-86.
5. Pirard C, Sagot C, Deville M, Dubois N, Charlier C. Urinary levels of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in a general Belgian population. Environment International. 2012;48:78-83.
6. Watanabe S., Wang R.-S., Miyagawa M., Kobayashi, Suda M., Sekiguchi S., Honma T. Disbalans urovnej testosterona u samcov potomkov krysa, podvergovanihshysya vozdeystviyu bisfenola A v perinatal'nyj period// Promyshlennoe zdorov'e.- 2003.- T. 41.- S. 338-341.
7. Salian S, Doshi T, Vanage G. Neonatal exposure of male rats to bisphenol A impairs fertility and expression of Sertoli cell junctional proteins in the testis. Toxicology. 2009;265:56-67.
8. Liu C, Duan W, Li R, Xu S, Zhang L, Chen C, He M, Lu Y, Wu H, Pi H, Luo X, Zhang Y, Zhong M, Yu Z, Zhou Z. Exposure to bisphenol A disrupts meiotic progression during spermatogenesis in adult rats through estrogen-like activity. Cell Death Dis. 2013;4:e676.
9. Qiu LL, Wang X, Zhang XH, Zhang Z, Gu J, Liu L, Wang Y, Wang X, Wang SL. Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A. Toxicol Lett. 2013;219:116-124.
10. Kumar V, Chakraborty A, Kural M, Roy P. Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. Reprod Toxicol. 2009;27:177-185. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.12.002>.
11. Chigrinec S.V., Bryukhin G.V., Ilchenko O.S. Vliyaniye ehndokrinnogo dizraptora triklozana na kachestvo ehyakulyata u muzhchin// Problemy reprodukcii.- 2018.- T. 24.- № 3.- S. 61-66.

Авторская справка

Чигринцев Станислав Владимирович, аспирант, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: chigrinstas@gmail.com

Брюхин Геннадий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: bgenvas@mail.ru

Завьялов Сергей Николаевич, ассистент, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; chigrinstas@gmail.com