

## — ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ —

УДК 611.018-092.9 (571.56)

*Д.С. Белолобская, А.Ю. Слепцов, Д.А. Сокоротов, И.В. Николаева***ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПАРАНИТРОФЕНОЛА**

В работе освещаются результаты проведенного экспериментального изучения показателей функционального состояния половых желез самцов крыс, подвергнутых воздействию паранитрофенола, являющегося токсичным продуктом разложения фосфорорганических соединений. Исследовались гравиметрические данные семенников, морфологические и морфометрические показатели сперматогенного эпителия крыс. Установлено, что у экспериментальных животных, получавших паранитрофенол в течение 14 дней ежедневно подкожно в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг, наблюдалось резкое снижение индекса сперматогенеза, отражающего нарушения процессов созревания сперматозоидов, уменьшение количества рядов герминативных клеток и площади эпителия извитых семенных канальцев. Показатели площадей сечения клеток сперматогенного пласта выявили некоторое увеличение ядер сперматогоний и сперматид в группе животных, затравленных в дозе 1 мг/кг, и достоверное снижение показателя при 10 мг/кг. Морфометрическое измерение клеток Лейдига показало, что размеры ядер увеличиваются по мере увеличения концентрации токсиканта и при 10 мг/кг достоверно больше, чем в норме. Таким образом, воздействие низких доз паранитрофенола на фертильность самцов белых крыс приводит к дозозависимым морфологическим изменениям в сперматогенном эпителии, а также приводит к изменению эндокринных функций половых желез.

*Ключевые слова:* семенники, паранитрофенол, эндокринные дизрапторы, репродуктивные функции, фертильность, пестициды, сперматогенез, клетки Лейдига, сперматогенные клетки, морфометрия.

*D.S. Belolyubskaya, A.Y. Sleptsov, D.A. Sokorotov, I.V. Nikolaeva***Experimental study of the functional state of reproductive system male white rats on exposure p-nitrophenol**

We studied the functional condition of the sexual glands of male rats exposed by p-nitrophenol - a toxic product of the decomposition of organophosphorus compounds. We investigated the gravimetric data testicular morphological and morphometric parameters seminiferous epithelium of rats. It is found that the experimental animals treated with p-nitrophenol in 14 days daily subcutaneous dose of 1 mg / kg and 10 mg / kg, there was a

*БЕЛОЛЮБСКАЯ Дария Степановна* – к.м.н., доцент кафедры гистологии и микробиологии МИ СВФУ.E-mail: [b\\_d\\_st@mail.ru](mailto:b_d_st@mail.ru)*BELOLYUBSKAYA DARIA STEPANOVNA* – Ph.D., assistant professor of histology and microbiology, Medical institute of North-Eastern Federal University.E-mail: [b\\_d\\_st@mail.ru](mailto:b_d_st@mail.ru)*СЛЕПЦОВ Алексей Юрьевич* – студент 5-го курса отделения «Лечебное дело» МИ СВФУ.E-mail: [Slepcovi4@rambler.ru](mailto:Slepcovi4@rambler.ru)*SLEPTSOV ALEKSEY YURYEVICH* – 5th year student branch of Medical institute of North-Eastern Federal University.E-mail: [Slepcovi4@rambler.ru](mailto:Slepcovi4@rambler.ru)*СОКОРУТОВ Денис Андреевич* – студент 6-го курса отделения «Лечебное дело» МИ СВФУ.*SOKORUTOV DENIS ANDREEVICH* – 6th year student branch of the Medical institute of North-Eastern Federal University.*НИКОЛАЕВА Ирина Васильевна* – к.б.н., доцент кафедры гистологии и микробиологии МИ СВФУ.E-mail: [ysu-gistology@mail.ru](mailto:ysu-gistology@mail.ru)*NIKOLAEVA IRINA VASILYEVNA* – PhD, associate professor of histology and microbiology, Medical institute of North-Eastern Federal University.E-mail: [ysu-gistology@mail.ru](mailto:ysu-gistology@mail.ru)

sharp decrease in the index of spermatogenesis reflecting disorders maturation of sperm, reducing the number of rows of germinal cells and area of epithelium of convoluted seminiferous tubules . Indicators sectional area of spermatogenic cells showed a slight increase in the formation of the nuclei of spermatogonia and spermatids in the group of animals inoculated at a dose of 1 mg / kg, and a significant decline in the 10 mg / kg. Morphometric measurement of Leydig cells showed that the size of kernels increases as the concentration of fluorine and 10 mg / kg, significantly higher than normal. Thus, the effect of low doses of p-nitrophenol on fertility of male albino rats leads to a dose-dependent morphological changes in the seminiferous epithelium and leads to changes in endocrine function of sexual glands.

*Keywords:* testicles, p-nitrophenol, endocrine disruptors, reproductive functions, pesticides, spermatogenesis, Leydig cells, spermatogenic cells, morphometry.

## Введение

Учащение обращений в центры планирования семьи и рост общего процента семей, страдающих бесплодием, являются тревожными знаками для перспективы будущего нации [1]. «Критерий настороженности», установленный ВОЗ, или доля бесплодных семей, составляет 15% от общего количества. В Российской Федерации этот показатель еще больше и составляет 17%. В 25-30% причиной бесплодия являются патологии со стороны мужского населения. При этом заметна тенденция к снижению фертильности порядка на 3% [2].

В настоящее время причины этих проблем все больше связываются с индустриализацией, а также с бурным развитием сельскохозяйственной промышленности, сопровождающимся получением тысяч новых синтетических органических веществ и их массовым внедрением в производство. По мнению большинства исследователей, одним из главных факторов развития патологий мужской репродуктивной системы признается воздействие на мужской организм пестицидов. Недавние исследования показывают, что пестициды и, в особенности, их производные полураспада обладают гормоноподобными свойствами [3]. По механизму действия они относятся к числу наиболее распространенных эндокринных дизрапторов – экзогенных веществ антропогенного происхождения, которые, поступая в организм, связываются с рецепторами гормонов. Так, дихлордифенилтрихлорэтан и его метаболиты способны изменять секрецию стероидных гормонов, включающих в себя кортикостероиды и половые гормоны, а также тиреоидных гормонов, гормональные рецепторы которых также имеют ядерную локализацию [4]. Способность пестицидов оказывать эффект даже при самом незначительном содержании без прямой зависимости от концентрационного фактора приводит к особой уязвимости репродуктивной системы действию неблагоприятных экологических факторов [1, 3].

Паранитрофенол, являясь токсичным продуктом разложения пестицидов, в частности, паратиона, широко распространен в окружающей среде. Известно, что при попадании в организм человека он проявляет дизрапторные свойства, оказывая эстрогеноподобные и антиандрогенные эффекты [5]. Вопрос влияния паранитрофенола на процессы сперматогенеза и фертильный потенциал мужского населения в настоящее время остается недостаточно изученным и актуальным, поскольку значение эндокринных дизрапторов в функционировании репродуктивной системы человека изучено еще очень мало.

В связи с этим **целью** настоящего исследования является изучение морфометрических показателей семенников самцов белых крыс, подвергнутых воздействию паранитрофенола.

## Материалы и методы

В работе использованы 4-5-месячные белые беспородные крысы-самцы. Животные были разделены на группы (n=15): 1-я группа – интактный контроль, 2-я и 3-я группы – животные, получавшие в течение 14 дней ежедневно паранитрофенол подкожно в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг соответственно. Забой осуществляли декапитацией на 30-е сутки. Материал фиксировали в жидкости Карнуа, последующую заливку в парафин осуществляли стандартным способом. Серийные срезы семенников окрашивали гематоксилин-эозином. Проводилось обзорное морфологическое исследование с подсчетом индекса сперматогенеза. Морфометрические измерения выполнялись при помощи программы PhotoM1.21 и включали измерение диаметра и площади извитых семенных канальцев, площади сперматогенного эпителия, площадей сечения ядер

сперматогенных клеток. Статистический анализ полученных данных проводился с помощью программы Statistica 10. Достоверность различий определялась по критерию Стьюдента, различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

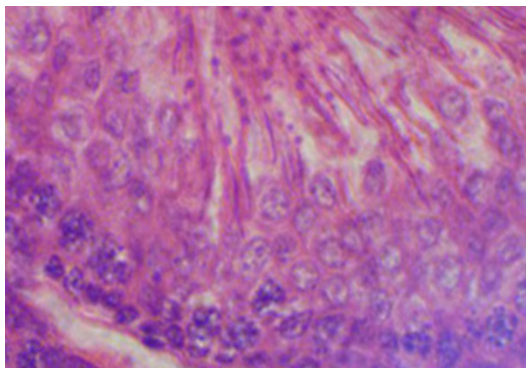
### Результаты исследования

При изучении серийных срезов семенников крыс экспериментальных групп наблюдалось уменьшение количества рядов герминативных клеток, более выраженное во 2-й группе, причем в некоторых канальцах отмечалось резко выраженное уменьшение количества всех созревающих сперматид. Так, в группе животных, получавших паранитрофенол в дозе 1 мг/кг (рис. 2), площадь сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев была достоверно меньше, чем в контроле (рис. 1). Тот же показатель в 3-й группе не отличался от нормы (рис. 3), но имел достоверные различия с данными 2-й группы, что свидетельствует о дозозависимых механизмах повреждения паранитрофенолом процессов сперматогенеза.

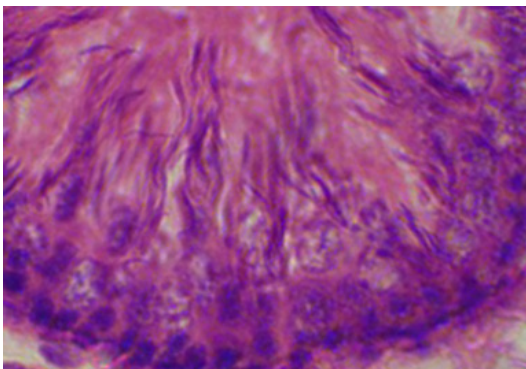
Показатели площадей сечений ядер клеток сперматогенного пласта животных, получавших паранитрофенол в дозе 1 мг/кг (2-я группа), не выявили достоверных различий от показателей контроля, однако площади ядер сперматогоний и сперматид животных, получавших паранитрофенол в дозе 10 мг/кг, были достоверно меньше по сравнению с данной группой.

При морфометрическом измерении ядер клеток Лейдига выявлено, что их размеры увеличиваются по мере увеличения концентрации токсиканта, и в 3-й группе, получавшей 10 мг/кг паранитрофенола, площадь сечения ядер достоверно больше, чем в норме (табл. 1). Активизация клеток Лейдига косвенно свидетельствует об увеличении ими секреции тестостерона у экспериментальных групп, что можно расценивать как проявление дизрапторных свойств паранитрофенола на репродуктивные функции.

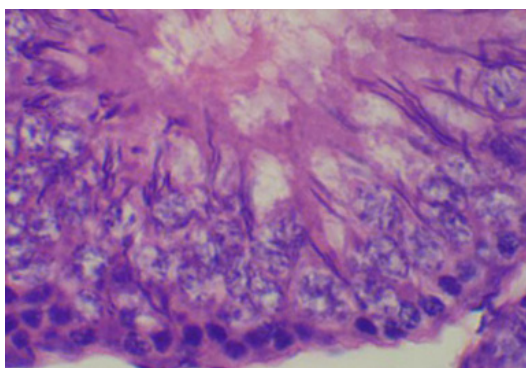
Индекс сперматогенеза, отражающий количество генераций сперматогенных клеток в стенке извитых семенных канальцев, является важнейшим количественным показателем, характеризующим генеративную активность семенника. У животных, подвергнутых действию паранитрофенола, наблюдалось резкое снижение индекса, что свидетельствует о нарушении процессов сперматогенеза (табл. 1). В группах экспериментальных крыс наряду с уменьшением площадей сперматогенного эпителия и его гипотрофией при морфологическом исследовании отмечались дегенеративные изменения сперматогенных клеток.



**Рис. 1.** Извитой семенной каналец интактной крысы. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: 10×40



**Рис. 2.** Извитой семенной каналец крысы, получавшей паранитрофенол в дозе 1 мг/кг. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: 10×40



**Рис. 3.** Извитой семенной каналец крысы, получавшей паранитрофенол в дозе 10 мг/кг. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение: 10×40

**Морфометрические показатели сперматогенеза белых крыс,  
подвергнутых воздействию паранитрофенола**

Показатели	Группа 1 группа Контроль	2 группа Паранитрофенол 1 мг/кг	3 группа Паранитрофенол 10 мг/кг
Масса семенников, мг	1180±147,8	1247±169,5	1230±167,6
Диаметр извитых семенных канальцев, мкм	191,7±14,22	184±19,96	203,3±14,51
Площадь извитых семенных канальцев, мкм <sup>2</sup>	34701±3853,7	34111±924	39689±2938,6
Площадь сперматогенного эпителия, мкм <sup>2</sup>	28752±749,5	24365±1175*	27882±1026**
Площади сечения ядер, мкм <sup>2</sup> :			
- сперматогоний	16,2±0,79	17,9±0,82	16,07±0,18**
- сперматоцитов	53,97±1,32	56,34±0,68	55,48±3,92
- сперматид	24,21±1,57	27,1±1,42	20,92±1,82**
- клеток Лейдига	16,85±0,36	18,46±0,81	18,91±0,89*
Индекс сперматогенеза	3,8±0,25	2,5±0,44*	2,7±0,43*

Примечание: \* – отличия статистически достоверны по сравнению с 1-й группой;

\*\* – отличия статистически достоверны по сравнению со 2-й группой (P<0,05).

### Заключение

Таким образом, воздействие паранитрофенола на фертильность самцов белых крыс приводит к дозозависимым морфологическим изменениям в сперматогенном эпителии, а также приводит к изменению эндокринных функций половых желез. Связь широкой распространенности в окружающей среде веществ, являющихся эндокринными дизрапторами, и постепенного снижения фертильного потенциала населения вызывает несомненный интерес и требует дальнейших исследований механизмов возникновения нарушений генераций герминативных клеток и стероидогенеза в клетках Лейдига.

### Литература

1. Никитин А.И. Гормоноподобные ксенобиотики и их роль в патологии репродуктивной функции человека // Экология человека. – 2006. – № 1. – С. 9-16.
2. Щелочков А.М. Региональные показатели фертильности у мужчин Самарской области, а также факторы, являющиеся причинами их изменения / А.М. Щелочков, И.Ф. Неведова, С.Н. Чернова, О.В. Вартанова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 8. – С. 25-29.
3. Chiu Y.H., Afeiche M.C., Gaskins A.J., Williams P.L., Petrozza J.C., Tanrikut C., Hauser R., Chavarro J.E.. Fruit and vegetable intake and their pesticide residues in relation to semen quality among men from a fertility clinic // Hum Reprod. – 2015. – № 30 (6). – P. 1342-1351.
4. Song Y., Wu N., Wang S., Gao M., Song P., Lou J., Tan Y., Liu K. Transgenerational impaired male fertility with an Igf2 epigenetic defect in the rat are induced by the endocrine disruptor p,p'-DDE // Hum Reprod. – 2014. – № 29. – P. 2512-2521.
5. Li X., Li C., Suzuki A.K., Taneda S., Watanabe G., Taya K.. 4-Nitrophenol isolated from diesel exhaust particles disrupts regulation of reproductive hormones in immature male rats. // Endocrine. – 2009. – № 36 (1) – P. 98-102.

### References

1. Nikitin A.I. Gormonopodobnye ksenobiotiki i ih rol' v patologii reproduktivnoj funkcii cheloveka // Jekologija cheloveka. – 2006. – № 1. – S. 9-16.
2. Shhelochkov A.M., Nefedova I.F., Chernova S.N., Vartanova O.V. Regional'nye pokazateli fertil'nosti u muzhchin Samarskoj oblasti, a takzhe faktory, javljajushiesja prichinami ih izmenenija // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. – 2012. – № 8. – S. 25-29.
3. Chiu Y.H., Afeiche M.C., Gaskins A.J., Williams P.L., Petrozza J.C., Tanrikut C., Hauser R., Chavarro J.E.. Fruit and vegetable intake and their pesticide residues in relation to semen quality among men from a fertility clinic // Hum Reprod. – 2015. – № 30 (6). – P. 1342-1351.
4. Song Y., Wu N., Wang S., Gao M., Song P., Lou J., Tan Y., Liu K. Transgenerational impaired male fertility with an Igf2 epigenetic defect in the rat are induced by the endocrine disruptor p,p'-DDE // Hum Reprod. – 2014. – № 29. – P. 2512-2521.
5. Li X., Li C., Suzuki A.K., Taneda S., Watanabe G., Taya K.. 4-Nitrophenol isolated from diesel exhaust particles disrupts regulation of reproductive hormones in immature male rats. // Endocrine. – 2009. – № 36 (1) – P. 98-102.