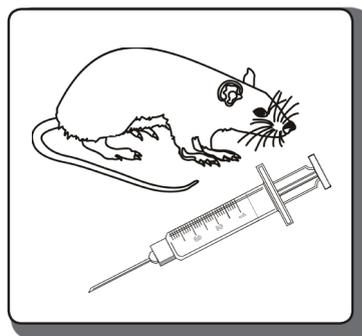


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 611.632:613.632.4

И.С. Волошина

ИЗМЕНЕНИЯ В ПРИДАТКАХ ЯИЧКА ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ИНГАЛЯЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ ЭПИХЛОРГИДРИНА

*Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки,
91045, кв. 50-летия Обороны, 1, г. Луганск*

Резюме

В работе приведены данные о морфологических изменениях придатка яичек половозрелых крыс после воздействия паров эпихлоргидрина в эксперименте. Материалом послужили 90 белых крыс-самцов в возрасте 12 недель с начальной массой 130-150 г. Крысы были разделены на контрольную (К) и экспериментальную (И) серии. Контрольную серию составляли интактные крысы. Серия I была представлена крысами, которые подвергались воздействию паров эпихлоргидрина в концентрации 10 мг/м³ в течение 60 дней. Полученные данные, позволяют утверждать, что на фоне токсического воздействия токсиканта, относительная масса и линейные размеры придатка яичка уменьшаются, при этом диаметр канальцев увеличивается, а высота эпителия снижается. Что, в свою очередь, ведет к нарушению эпидидимального созревания сперматозоидов.

Ключевые слова: придаток яичка, эпихлоргидрин, крыса.

I.S. Voloshina

CHANGES IN THE EPIDIDYMISS OF MATURE RATS AFTER INHALATION EXPOSURE WITH EPICHLOROHYDRIN

State institution of the Lugansk People's Republic «Lugansk State Medical University. St. Luke», Lugansk

Summary

The paper presents data on the morphological changes in the epididymis of mature sex rats after exposure to epichlorohydrin vapors in the experiment. The material included 90 white male rats aged 12 weeks with an initial weight of 130-150 g. The rats were divided into control (C) and experimental (E) groups. The control group consisted of intact rats. Experimental group included rats that were exposed to epichlorohydrin vapors at the concentration of 10 mg/m³ for 60 days. The study was conducted according to the recommendations «On legal, legislative and ethical norms and requirements while conducting scientific morphological studies». The data obtained make it possible to assert that against the background of the toxic effect of the toxicant, the relative mass and linear dimensions of the epididymis were reduced, with the diameter of the tubules increasing and the height of the epithelium decreasing. That, in turn, leads to a violation of epididymal maturation of spermatozoa.

Key words: epididymis, epichlorohydrin, rat.

Исследования разных стран утверждают, что в последнее десятилетие наблюдается постоянное снижение качества спермы мужчин и животных [6, 12]. Большинство авторов отмечают связь этой тенденции с факторами внешней среды, и, прежде всего, с прогрессивным ростом уровня загрязненности окружающей среды [5, 9]. Особое место среди экополлютантов занимают эпоксидные смолы, главным сырьевым продуктом которых является эпихлоргидрин (ЭХГ). Ана-

лиз литературы за последние 10 лет по изучению половой системы крыс после ингаляционного воздействия ЭХГ на организм свидетельствует о том, что работ, которые были бы посвящены выбранной нами проблеме, нет. *Цель настоящей работы* состояла в определении морфологических изменений в придатках яичка половозрелых крыс в отдаленные сроки после ингаляционного воздействия эпихлоргидрина.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 90 белых крысах-самцах, которые были введены в эксперимент в возрасте 12 недель с начальной массой 130-150 г. Животные были получены из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет». Содержание и манипуляции над животными выполнялись в соответствии с основными этическими принципами в сфере биоэтики, которые изложены в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», которая была ратифицирована в 1985 году в Страсбурге [7], согласно стандарту идентичному международному документу OECD Test № 421 «Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test» (ОЕСР Тест № 421 «Скрининговое исследование репродуктивной/эмбриональной токсичности») [3], согласно рекомендациям «Про правовые, законодательные и этические нормы и требования при выполнении научных морфологических исследований» [4].

Крысы были разделены на контрольную и экспериментальную серии. Контрольную серию (К) составляли интактные крысы. Экспериментальная серия I была представлена крысами, которые подвергались ингаляционному воздействию эпихлоргидрина в концентрации 10 мг/м³ в течение 60 дней, 5 дней в неделю, 5 часов в сутки. Условия создавались с помощью специальной установки, которая состоит из затравочной камеры и камеры, в которой поддерживалась необходимая концентрация действующего вещества; датчика толуола и вспомогательного оборудования. Каждая серия была разделена на пять групп (по 6 крыс в каждой) в соответствии со сроками выведения животных из эксперимента на 1-е, 7-е, 15-е, 30-е и 60-е сутки.

После окончания эксперимента животных взвешивали на лабораторных весах и выводили путем

декапитации под эфирным наркозом, соблюдая «Методические рекомендации по выводу лабораторных животных из эксперимента».

Внутренние органы половой системы крыс извлекали единым комплексом с окружающей жировой тканью и тщательно препарировали, взвешивали на аналитических весах ВЛА-200 с точностью до 1 мг. С помощью Video Presenter SVP-5500 фотографировали полученные органы для создания обзорных фотографий, а также для дальнейшего макроморфометрического анализа, который осуществляли с помощью оригинальной компьютерной программы «Master of Morphology, 2008». С помощью вышеупомянутой программы были определены линейные размеры придатков яичка: длина придатка яичка, ширина головки и хвоста придатка. Кроме того, определялись такие показатели, как абсолютная и относительная масса органов.

Фиксацию органов проводили в 10 % растворе нейтрального формалина. Материал заливали в парафиновые блоки. На микротоме получали срезы толщиной 4-5 мкм. Окраска препаратов осуществлялась гематоксилином и эозином. Детали гистологического строения срезов изучали с помощью микроскопа Olympus BX-41 с использованием объективов Plan 4× ∞ / -, Plan 10× ∞ / 0,25, Plan 40× ∞ / 0,65 ∞ / 0.17.

С помощью статистических методов исследования и программы «Basic Statistic 6.0» определяли среднюю (Mean), среднее квадратическое отклонение вариант (SD) в каждой группе, критерий Стьюдента (t). Достоверной считали статистическую погрешность менее 5 % (p<0,05). Коэффициент Стьюдента и уровень значимости выражали как p1 и t1 соответственно при сравнении значений групп контрольной и экспериментальной серии I.

Результаты и обсуждение

Средний показатель конечной массы крыс, которые подвергались воздействию эпихлоргидрина, на 1-е и 7-е сутки после прекращения действия указанного фактора был ниже контрольных значений. Так, в 1-й группе он равнялся 218 г, что на 13,8 % (p=0,030) меньше данных контроля, а во 2-й группе составлял 84,7 % (p=0,024).

Влияние различных факторов, в том числе химических, на структуру органов репродуктивной системы, несмотря на количество работ, посвященных этой проблеме, мало изучено. В результате исследования было установлено, что абсолютная масса придатков яичек крыс, которые в эксперименте подвергались воздействию паров эпихлоргидрина, была ниже показателей контрольной серии во все периоды реадaptации. Так, средний показатель абсолютной массы правого придатка яичка на 1-е и 7-е сутки после прекращения действия эпихлоргидрина был равен 479 мг и 497 мг, что составляет 86,41 % (p=0,048) и 88,97 % (p=0,048) по отношению к данным контроля соответственно. Наименьшая разница между абсолютной массой правого придатка яичка была отмечена на 60-е сутки после прекращения действия токсиканта и составила 18,8 мг (p=0,603). Относительная масса правого эпидидими-

са не достоверно превышала показатели соответствующих групп контроля во всех исследуемых группах, кроме 1-й и 3-й. Крысы, которые подвергались воздействию ЭХГ, на 1-е и 15-е сутки после прекращения действия ксенобиотика имели достоверно более низкую абсолютную массу левого придатка яичка на 11,12 % (p=0,034) и 11,23 % (p=0,048) соответственно к показателям групп контроля (рисунок).

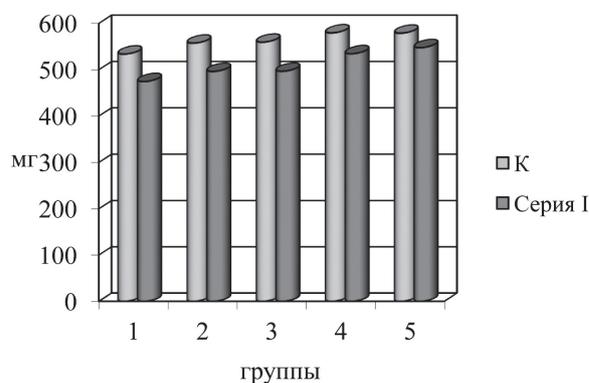


Рис. Показатели абсолютной массы левого придатка яичка половозрелых крыс контрольной серии и крыс, которые подвергались воздействию паров эпихлоргидрина

Предыдущие исследования показали, что эпихлоргидрин имеет антифертильную способность и действует как токсикант на уровне придатка, что непосредственно снижает подвижность сперматозоидов [13] и, в нашем случае, влияет на изменение массы органа в сторону ее уменьшения.

Линейные размеры органов под воздействием токсиканта также уменьшаются во всех группах. Например, длина правого придатка яичка половозрелых крыс I серии 1-й группы после прекращения действия эпихлоргидрина была равна 41 мм, что меньше контрольных значений на 9,25 % ($p=0,280$). Ширина головки правого эпидидимиса на 15-е сутки после прекращения действия ЭХГ меньше показателей соответствующей группы контрольной серии на 6,56 % ($p=0,113$), а на 30 сутки – на 6,13 % ($p=0,341$). Средний показатель ширины хвоста правого придатка яичка крыс I группы был отмечен на уровне 5,59 мм, что ниже показателя серии контрольной группы на 8,51 % ($p=0,134$).

Статистически достоверная разница между показателями длины левого эпидидимиса была отмечена у крыс 1-й группы. А на 30-е сутки периода реадaptации указанный показатель равнялся 42,2 мм, что меньше показателя контроля на 5,6 % ($p=0,201$). Ширина головки левого придатка яичка крыс I серии на 7-е сутки была зафиксирована на уровне 5,09 мм, что составляет 91,7 % ($p=0,138$) от показателя контрольной серии. Средний показатель ширины хвоста левого придатка яичка крыс I серии на 1-е и 7-е сутки после прекращения действия токсиканта находился на уровне 5,83 мм и 5,63 мм соответственно, что ниже контрольных значений на 8,62 % ($p=0,157$) и 8,31 % ($p=0,154$).

Как видно, и масса органа, и его линейные показатели под действием паров эпихлоргидрина уменьшаются. Это подтверждают данные предыдущих исследований, которые показали, что сперма и придатки являются основными мишенями токсичности α -хлоргидрин (АСН), метаболита эпихлоргидрина [11].

Морфометрические данные были подтверждены на микроскопическом уровне. Как известно, придаток яичка половозрелых крыс представлен многочисленными инвагинациями канальцев, в просвете которых

размещается значительное количество сформированных сперматозоидов.

После прекращения ингаляционного воздействия эпихлоргидрина в придатках яичка половозрелых крыс 1-й, 2-й и 3-й групп было отмечено наличие канальцев без сперматозоидов, а также канальцев с эозинофильными конгломератами внутри, канальцы расширены и их просвет увеличен. Обращает на себя внимание отек интерстиция, а иногда и его расслоение и уменьшение высоты эпителия. На 7-е и 15-е сутки периода реадaptации диаметр просвета канальца придатка яичка составлял соответственно 165 мкм и 169 мкм, что больше контрольных значений на 17,42 % ($p=0,002$) и 16,32 % ($p=0,006$). В канальцах придатка яичка животных I серии толщина эпителия уменьшается. Так, например, через 15 и 30 дней после прекращения действия эпихлоргидрина она составляла 36,7 мкм и 38,2 мкм, что ниже контрольных значений соответствующих групп на 17,46 % ($p=0,001$) и 17,23 % ($p=0,003$) соответственно.

Механизмы влияния растворителей (толуол, ксилол, бензол, эпихлоргидрин) на фертильность различны [10]. Однако существует несколько основных механизмов развития: 1) появляясь в крови, растворители могут проникать через гематотестикулярный барьер, таким образом, вызывая изменения в самом яичке, поскольку он обеспечивает защитную, трофическую и регуляторную функции для клеток сперматогенного ряда; 2) изменение уровней фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, влияющих на развитие зародышевых клеток; 3) растворители могут быть переданы половым путем женщинам через сперму мужчин, занятых на производстве, тем самым, осуществляя негативное влияние на яйцеклетки и развитие эмбриона [8]. Экспозиция из токсичных химических веществ может привести к непосредственному поражению сперматозоидов, которые развиваются.

Таким образом, на фоне токсического воздействия паров эпихлоргидрина, относительная масса и линейные размеры придатка яичка уменьшаются, при этом диаметр канальцев придатка увеличивается, а высота эпителия снижается.

Литература

1. Геруш І.В. Вплив спиртової настоянки ехінацеї пурпурової на стан антиоксидантної системи печінки при експериментальному ерозивно-виразковому ураженні гастродуоденальної зони // Фармакологічний вісник. – 1998. – Вересень-жовтень. – С. 34-37.
2. Дейнека С.Є. Цитопротекторний ефект ехінацеї пурпурової стосовно токсичного впливу свинцю та кадмію // Сучасні проблеми токсикології. – 2000. – № 1. – С. 47-48.
3. Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС). Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод). – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 18.
4. Мишалов В.Д., Чайковский И.В., Твердохлеб Ю.Б. О правовых, законодательных и этических

нормах и условиях при выполнении научных морфологических исследований // Морфология. – 2007. – Т. 1, № 2. – С. 108-115.

5. Comhaire F. Sperm quality, birth rates and the environment in Flanders (Belgium) // *Reprod. Toxicol.* – 2007. – Vol. 23 (2). – P. 133-137.

6. De Supriyo, Pramanik Saroj K., Williams Arthur L., et al. Toxicity of polychlorobiphenyls and its bioremediation // *Int. J. of Human Genetics.* – 2004. – Vol. 4. – P. 281-290.

7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experiments and other scientific purposes // *Coun. of Europe, Strasbourg*, 1986. – 53 p.

8. Guo Bing Xiao, Cui Bao Pan, Yao Zhang Cai. Effect of Benzene, Toluene, Xylene on the Semen Quality and the Function of Accessory Gonad of Exposed Workers // *Industrial Health.* – 2001. – № 39. – P. 206-210.

9. Hauser R. Environmental organochlorines and semen quality: results of a pilot study // *Environ. Health Perspect.* – 2002. – Vol. 110 (3). – P. 229-233.
10. Lindbohm M.L., Hemminki K., Bonhomme M.G., et al. Effects of paternal exposures on spontaneous abortions // *Am. J. Public. Health.* – 1991. – № 81. – P. 1029-1033.
11. Shin I.S., Park N.H., Lee J.C. One-generation reproductive toxicity study of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats // *Drug Chem. Toxicol.* – 2010. – № 33(3). – P. 291-301.
12. Sripada S., Fonseca S. Trends in semen parameters in the northeast of Scotland // *J. Androl.* – 2007. – Vol. 28 (2) – P. 313-319.
13. Toth G.P., Zenick H., Smith M.K. Effects of epichlorohydrin on male and female reproduction in Long-Evans rats // *Fundam. Appl. Toxicol.* – 1989. – № 13. – P. 16-25.

Literature

1. Herush I.V. Effect of alcohol tincture of Echinacea purpurea on antioxidant system of the liver in experimental erosive and ulcerative lesions of gastroduodenal area // *Pharmacological Bulletin.* – 1998. September-October. – P. 34-37.
2. Deineka S.E. Cytoprotective effect of Echinacea purpurea regarding the toxic effects of lead and cadmium // *Modern problems of toxicology.* – 2000. – № 1. – P. 47-48.
3. Eurasian Council for Standardization, Metrology and Certification (EASC). Methods for testing the effects of chemical products on the human body. Tests to assess reproductive / fetal toxicity (screening method). – M.: Standartinform, 2013. – 18 p.
4. Mishalov V.D., Tchaikovsky I.V., Tverdokhleb Yu.B. On legal, legislative and ethical norms and conditions in the performance of scientific morphological research // *Morphology.* – 2007. – Vol. 1, № 2. – P. 108-115.
5. Comhaire F. Sperm quality, birth rates and the environment in Flanders (Belgium) // *Reprod. Toxicol.* – 2007. – Vol. 23 (2). – P. 133-137.
6. De Supriyo, Pramanik Saroj K., Williams Arthur L., et al. Toxicity of polychlorobiphenyls and its bioremediation // *Int. J. of Human Genetics.* – 2004. – Vol. 4. – P. 281-290.
7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experiments and other scientific purposes // *Coun. of Europe, Strasbourg, 1986.* – 53 p.
8. Guo B.X., Cui B.P., Yao Z.C. Effect of Benzene, Toluene, Xylene on the Semen Quality and the Function of Accessory Gonad of Exposed Workers // *Industrial Health.* – 2001. – № 39. – P. 206-210.
9. Hauser R. Environmental organochlorines and semen quality: results of a pilot study // *Environ. Health Perspect.* – 2002. – Vol. 110 (3). – P. 229-233.
10. Lindbohm M.L., Hemminki K., Bonhomme M.G., et al. Effects of paternal exposures on spontaneous abortions // *Am. J. Public. Health.* – 1991. – № 81. – P. 1029-1033.
11. Shin I.S., Park N.H., Lee J.C. One-generation reproductive toxicity study of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats // *Drug Chem. Toxicol.* – 2010. – № 33 (3). – P. 291-301.
12. Sripada S., Fonseca S. Trends in semen parameters in the northeast of Scotland // *J. Androl.* – 2007. – Vol. 28 (2) – P. 313-319.
13. Toth G.P., Zenick H., Smith M.K. Effects of epichlorohydrin on male and female reproduction in Long-Evans rats // *Fundam. Appl. Toxicol.* – 1989. – № 13. – P. 16-25.

Координаты для связи с авторами: Волошина Ирина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент кафедры онкологии, радиологии и трансфузиологии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», тел. +380666330139, e-mail: is_voloshina@mail.ru.

