

УДК 616.4:616.681:616.69-008.8

DOI: 10.33396/1728-0869-2019-12-58-64

ВЛИЯНИЕ ЭНДОКРИННОГО ДИЗРАПТОРА ТРИКЛОЗАНА НА ФУНКЦИЮ ЯИЧЕК (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

© 2019 г. ^{1,2} С. В. Чигринец, ¹ Г. В. Брюхин¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск²ООО «ДНК клиника», г. Челябинск

Цель исследования – изучить зависимость герминативной и эндокринной функций яичек у мужчин и экспериментальных животных от уровня концентрации триклозана в семенной жидкости или ткани яичка. *Методы.* Исследованы 53 образца семенной жидкости у мужчин с нормо- и патозооспермией. В семенной жидкости определялась концентрация триклозана методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS). Спермиологическое исследование проводилось согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (2010) с оценкой индекса фрагментации ДНК сперматозоидов. Кроме того, в плазме крови определялся уровень концентрации общего тестостерона. Экспериментальная часть работы была выполнена на белых половозрелых лабораторных крысах самцах Вистар (n = 20). Крысы опытной группы в течение двух месяцев ежедневно получали с пищей триклозан (Sigma-Aldrich, США) в количестве 200 мг/кг. Для оценки генеративной и эндокринной функции яичка использовались функциональные и морфометрические методы исследования. Концентрация триклозана в яичках измерялась методом GC-MS. *Результаты.* В 84,9 % образцов эякулята был обнаружен триклозан со срединной концентрацией 0,13 (0,05–0,22) нг/мл. Группы пациентов, включенные в исследование, статистически значимо различались по концентрации триклозана в семенной жидкости (p = 0,045) и индексу фрагментации ДНК сперматозоидов (p = 0,004). В экспериментальной части работы было показано, что различия между группами сравнения по концентрации триклозана в тканях яичек были статистически значимыми (p < 0,001). Триклозан приводил к статистически значимому снижению массы яичек (p = 0,001), диаметра извитых семенных канальцев и толщины сперматогенного эпителия (p < 0,001), а также общего количества клеток Лейдига (p = 0,001). *Выводы.* Триклозан оказывает негативное влияние на герминативную функцию яичек у мужчин и экспериментальных животных и может проявлять себя как эндокринный дизраптор в эксперименте.

Ключевые слова: бесплодие, эндокринный дизраптор, триклозан, тестостерон, эксперимент

EFFECT OF TRICLOSAN ON TESTICULAR FUNCTIONS: AN EXPERIMENTAL AND AN OBSERVATIONAL STUDIES

^{1,2}S. V. Chigrinets, ¹G. V. Bryukhin¹South-Ural State Medical University of Russian Ministry of Health, Chelyabinsk, Russia;²DNA clinic, Chelyabinsk, Russia

The aim was to study associations between triclosan concentration in seminal fluid or testicular tissue and germinal and endocrine functions of the testes in men. *Methods.* Together, 53 samples of seminal fluid in men with normospermia and pathozoospermia were studied. Concentration of triclosan was determined in the seminal fluid by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). Spermiological assessment was conducted according to the recommendations of the World Health Organization (2010) with an assessment of the sperm DNA Fragmentation Index. In addition, the concentration of total plasma testosterone was estimated. The experimental part of the work was performed on white mature CD Wistar male rats (n = 20). For two months, the rats in the experimental group received 200 mg/kg of triclosan (Sigma-Aldrich, USA) daily with food. Functional and morphometric techniques were used to evaluate the generative and endocrine function of the testes. The concentration of triclosan in the testes was measured by the GC-MS method. *Results.* In 84.9 % of ejaculate samples, triclosan was found with a median concentration of 0.13 (0.05-0.22) ng/ml. Men with normospermia and pathozoospermia had statistically significantly different concentrations of triclosan in seminal fluid (p = 0.045) and sperm DNA Fragmentation Index (p = 0.004). In the experimental part of the study, rats receiving triclosan had significantly lower testicular mass (p = 0.001), smaller diameter of convoluted seminiferous tubule and lower thickness of seminiferous epithelium (p < 0.001), as well as lower total number of Leydig cells (p = 0.001). *Conclusions:* triclosan has a negative effect on the germinal function of the testes in men and experimental animals and can be considered as an endocrine disruptor.

Key words: infertility, endocrine disruptor, triclosan, testosterone, experiment

Библиографическая ссылка:

Чигринец С. В., Брюхин Г. В. Влияние эндокринного дизраптора триклозана на функцию яичек (экспериментально-клиническое исследование) // Экология человека. 2019. № 12. С. 58–64.

Chigrinets S. V., Bryukhin G. V. Effect of Triclosan on Testicular Functions: an Experimental and an Observational Studies. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2019, 12, pp. 58-64.

Мужское бесплодие и/или патозооспермию следует рассматривать, с одной стороны, как интегральный показатель нездоровья мужчин репродуктивного возраста, а с другой стороны, как лимитирующий фактор суммарного коэффициента рождаемости. Вместе с этим доля фактора мужского бесплодия составляет

не менее 50 %. Среди причин мужского бесплодия неизвестной этиологии (30–40 %) упоминаются активные формы кислорода (ROS), генетические, эпигенетические факторы и эндокринные дизрапторы (endocrine disruptors, EDs) [9, 12, 15, 23].

В 1993 году впервые в литературу был введен

термин «эндокринные дизрапторы» (эндокринные дизрегуляторы, гормоноподобные ксенобиотики), к которым были отнесены химические соединения, способные нарушать функцию эндокринной системы [9]. На сегодняшний день значение эндокринных дизрапторов в регуляции деятельности систем жизнеобеспечения и размножения изучено не до конца.

К наиболее известным нестойким убиквитарным эндокринным дизрапторам относятся: фталаты, бисфенол А (BPA), триклозан (TCS) и 4-нонилфенол (4-NP).

Источником TCS являются средства личной гигиены: дезодоранты, зубная паста, крем для бритья, жидкость для полоскания рта, косметика, мыло для рук, а также бытовые чистящие средства [27, 35]. Допускается, что не менее 75 % населения США подвержены воздействию данного ксенобиотика [32]. После убедительных доказательств о негативном влиянии триклозана на микробиом животных и способность вызывать устойчивость микрофлоры к различным антимикробным средствам FDA (Food and Drug Administration) в сентябре 2016 года выносит запрет на его использование в составе мыла [20, 22]. Европейский союз выносит запрет на использование TCS во всех средствах личной гигиены с января 2017 года [16].

В организм человека TCS попадает главным образом через кожу и желудочно-кишечный тракт и может быть обнаружен в различных биологических жидкостях и тканях организма (Wang and Tian 2015; Geens et al., 2012) [6, 7, 14, 31]. Вместе с этим объемом TCS, который попадает в сточные воды в США, был оценен более чем $1,1 \times 10^5$ кг/год. Данный факт имеет значение, так как известно, что TCS способен накапливаться в морепродуктах и растениях, попадая таким образом на стол человека [25, 28].

Считается, что TCS является потенциальным ED, который угнетает активность ферментов, участвующих в синтезе стероидных гормонов [11, 18]. Показано, что TCS может приводить к гипоплазии яичек, накапливаться в тканях придатка яичка и снижать концентрацию сперматозоидов у экспериментальных животных [19, 21]. В другом исследовании, проведенном на половозрелых самцах крыс, TCS не показал себя в роли эндокринного дизраптора и не ухудшал качество спермы и гистоморфометрические характеристики яичка [26].

Вместе с тем количество исследований по изучению эффекта TCS на репродуктивную функцию человека весьма ограничено, а результаты весьма противоречивы [8, 17]. Кроме того, эти немногочисленные исследования ограничены определением TCS исключительно в образцах мочи и/или сыворотке крови [10, 17, 35].

Однако T. Geens и соавт. [13] показали, что BPA, TCS и 4-NP неодинаково накапливаются в тканях организма человека, и поэтому измерение этих соединений в образцах мочи не может отражать истинного влияния их на репродуктивные органы и репродуктивное здоровье человека в целом.

Цель исследования — изучить зависимость герминативной и эндокринной функций яичек у мужчин и экспериментальных животных от уровня концентрации триклозана в семенной жидкости или в тканях яичка.

Методы

В обсервационном одноцентровом одномоментном (поперечном) исследовании, которое было проведено в ДНК-клинике (г. Челябинск) с ноября 2017 по июнь 2018 года, приняли участие 53 мужчины молодого возраста. Пациенты обратились в клинику для выполнения спермиологического анализа в связи с бесплодием в браке, невынашиванием беременности партнершей, а также планированием беременности или донорством спермы. При оценке качества 53 образцов эякулята испытуемые были разделены на две группы: 1-я группа ($n = 19$) — мужчины с нормозооспермией, планирующие беременность в супружеской паре, и доноры спермы; 2-я группа ($n = 34$) — мужчины с патозооспермией, идиопатической формой бесплодия. Спермиологическое исследование проводилось согласно рекомендациям ВОЗ (2010) с учетом оценки количества сперматозоидов, их подвижности и морфологии, а также индекса фрагментации их ДНК [33]. Заключение по спермограмме «нормозооспермия» или «патозооспермия» основывалось на критериях, изложенных в тех же рекомендациях ВОЗ (2010) [33]. Для оценки индекса фрагментации ДНК сперматозоидов использовался метод дисперсии хроматина спермы (sperm chromatin dispersion, SCD) с помощью набора GoldCyto DNA Assist Kit (laboratories AG, Германия). Нормативным значением степени фрагментации ДНК сперматозоидов считали 15 % и менее (низкий риск нарушения фертильности). Бисфенол А в семенной жидкости определяли на газовом хроматографе с масс-спектрометром Shimadzu GCMS-QP2010Ultra (Shimadzu Corporation, Япония). Данные обрабатывались с помощью программы GCMSsolution 4,3 (Shimadzu Corporation, Япония). Уровень общего тестостерона плазмы крови оценивался на приборе Immulite 1000 (США).

С целью оценки морфофункциональных изменений в герминативном и эндокринном аппаратах яичек, обусловленных действием TCS, была выполнена экспериментальная часть работы на белых половозрелых лабораторных крысах самцах Вистар ($n = 20$). Экспериментальные животные были разделены на две группы: 1-я группа — контрольная, интактная ($n = 10$) и 2-я группа — опытная ($n = 10$). Крысы опытной группы в течение двух месяцев ежедневно получали с пищей TCS со степенью гомогенности > 97 % (Sigma-Aldrich, США) в количестве 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).

После взвешивания яичек зрелые сперматозоиды получали из придатка по общепринятой методике

[2] с оценкой общего их количества в 1 мл и подсчетом их атипичных форм и количества фертильных сперматозоидов [1, 3, 34]. Серийные срезы яичек окрашивали гематоксилин-эозином. При помощи лицензированного программного обеспечения «Видео Тест-Морфология 5.0» выполнялись морфометрические измерения диаметра и площади извитых семенных канальцев, площади паренхимы и стромы яичек, толщины сперматогенного эпителия, общего количества канальцев, количества канальцев со слущенным эпителием. Также подсчитывали общее количество и площадь клеток Лейдига с их ядерно-цитоплазматическим отношением в десяти полях зрения (площадь одного поля зрения – $8,8 \times 10^5$ мкм²) с вычислением средних значений.

Для измерения концентрации исследуемого EDs в тканях яичек левое яичко полностью гомогенизировалось в стеклянно-тефлоновом гомогенизаторе, а затем было подвергнуто центрифугированию при 700 x g в течение 10 минут при температуре 4 °С, чтобы удалить детрит и ядра. Образовавшаяся в результате надосадочная жидкость использовалась для измерения концентрации TCS методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS).

Проведение исследования одобрено Локальным комитетом по этике ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава России 21.11.2017 года (выписка из протокола № 9).

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистический анализ полученных данных выполнялся с помощью программы IBM SPSS Statistics v.21 (IBM Corp., Armonk, NY, США). Проверка нормальности распределения переменных проводилась с учетом объема выборки с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. Результаты исследования представлены как медиана с интерквартильным размахом Me (Q; Q3) или как средняя со стандартным отклонением ($M \pm \sigma$) при нормальном распределении. 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

Средний возраст пациентов ($\pm \sigma$) составил ($30,8 \pm 3,6$) года, средний индекс массы тела (ИМТ; $\pm \sigma$) – ($25,4 \pm 2,9$) кг/м², при этом 42 % мужчин были с избыточной массой тела (ИМТ 25–30) и 11 % – с ожирением I степени (ИМТ > 30).

Группы сравнительного анализа были сопоставимы по возрасту, периоду воздержания от семяизвержений, ИМТ, курению и приему алкоголя (табл. 1). При этом частота патозооспермии среди курящих и употребляющих алкоголь составила 53,8 и 55,6 %, среди некурящих и не употребляющих алкоголь – 56,0 и 55,6 % соответственно.

В 84,9 % образцов эякулята был обнаружен TCS со срединной концентрацией 0,13 (0,05–0,22) нг/мл.

Таблица 1

Сопоставление групп по возрасту, индексу массы тела, периоду воздержания, статусу курения и употребления алкоголя

Параметры	1 группа (n = 19) нормозооспермия	2 группа (n = 34) патозооспермия	P
	Me (Q1–Q3)	Me (Q1–Q3)	
Возраст, лет	32,0 (29,5–34,0)	31,0 (28,0–33,0)	0,157
Период воздержания, сут.	3,0 (3,0–4,0)	4,0 (3,0–4,0)	0,105
ИМТ, кг/м ²	25,1 (22,4–26,7)	25,5 (24,2–26,8)	0,356
Курение	Некурящие 11 (44 %)	14 (56 %)	0,901
	Курящие 6 (46,2 %)	7 (53,8 %)	
Алкоголь	Непьющие 8 (44,4 %)	10 (55,6 %)	1,0
	Пьющие 8 (44,4 %)	10 (55,6 %)	

Примечание. *p < 0,05.

Группа мужчин с патозооспермией (64 %) была представлена следующим образом: частота встречаемости тератозооспермии – 30 % (n = 16), астенотератозооспермии – 22,5 % (n = 12), олиготератозооспермии – 7,5 % (n = 4), олигоастенотератозооспермии (OAT-синдром) – 4 % (n = 2).

Группы пациентов, включенных в исследование, статистически значимо различались по концентрации TCS в семенной жидкости (p = 0,045), а также индексу фрагментации ДНК сперматозоидов (p = 0,004). Так, у мужчин с нормозооспермией концентрация TCS в семенной жидкости 0,09 (0,0–0,19) нг/мл оказалась меньше, чем у мужчин с патозооспермией 0,20 (0,11–0,36) нг/мл, то же самое было справедливо и в отношении индекса фрагментации ДНК сперматозоидов – 14,0 (9,0–18,0) против 18,5 % (16,0–25,0) (рис. 1, 2). В отношении концентрации тестостерона в крови статистически значимых различий не обнаружено.

С помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена между концентрацией триклозана в семенной жидкости и параметрами эякулята, а также уровнем общего тестостерона в плазме крови были

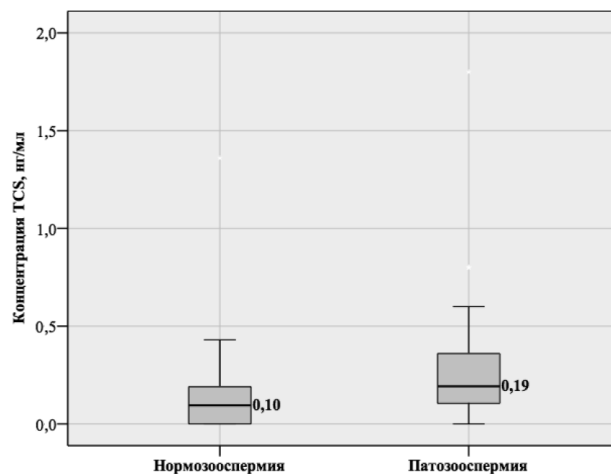


Рис. 1. Сравнение групп по концентрации триклозана в семенной жидкости

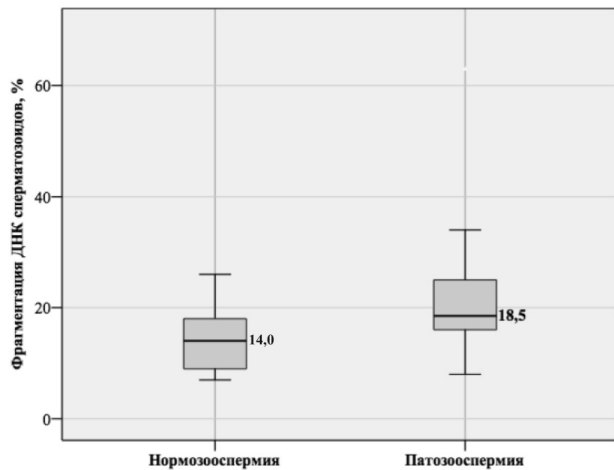


Рис. 2. Сравнение групп по степени фрагментации сперматозоидов

обнаружены статистически значимые корреляционные связи: прямая с индексом фрагментации ДНК сперматозоидов ($r = 0,604$; $p < 0,001$) и обратная с долей сперматозоидов с нормальной морфологией ($r = -0,420$; $p = 0,004$) (табл. 2).

Таблица 2

Корреляционные связи между концентрацией триклозана в семенной жидкости и параметрами эякулята, уровнем общего тестостерона крови

Параметр	Триклозан, нг/мл	
	r	p
Общее количество сперматозоидов, млн	-0,188	0,211
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	-0,206	0,170
Прогрессивно подвижные сперматозоиды (a + b), %	-0,237	0,113
Сперматозоиды с нормальной морфологией, %	-0,420	0,004*
Индекс ДНК фрагментации сперматозоидов, %	0,604	< 0,001*
Уровень общего тестостерона крови, нмоль/л	-0,019	0,926

Примечание. * $p < 0,05$.

В экспериментальной части работы было обнаружено, что различие между группами сравнения (опытной и интактной) по концентрации TCS в тканях яичек было статистически значимым ($p < 0,001$). Полученные результаты убедительно свидетельствуют о снижении абсолютной массы яичек в опытной группе по сравнению с группой контроля. Опытная группа крыс, подвергшихся воздействию TCS, продемонстрировала снижение доли фертильных сперматозоидов (прогрессивно и слабо подвижные) по сравнению с группой интактных животных (табл. 3). Вместе с тем группы существенно различались по гистоморфологическому состоянию яичек (площадь паренхимы и стромы, количество извитых семенных канальцев со слущенным эпителием, диаметр и площадь извитых семенных канальцев, толщина сперматогенного эпителия, а также общее количество клеток Лейдига и их ядерно-цитоплазматическое отношение) (табл. 4).

Таблица 3

Сопоставление групп по концентрации триклозана в тканях яичка, массе яичек и параметрам спермы

Параметр	Контроль (n = 10)	Опыт (TCS) (n = 10)	p
	Me (Q ₁ -Q ₃)	Me (Q ₁ -Q ₃)	
TCS, нг/мл	0,01 (0,00-0,03)	0,27 (0,23-0,46)	<0,001*
Масса правого яичка, г	1,61 (1,55-1,78)	1,45 (1,42-1,49)	0,001*
Масса правого яичка/масса тела, %	0,93 (0,84-0,94)	0,88 (0,84-0,91)	0,284
Общее количество сперматозоидов, млн	15,90 (14,70-17,40)	15,30 (12,15-17,00)	0,475
Прогрессивно подвижные сперматозоиды, %	58,0 (56,5-61,5)	53,0 (50,5-56,0)	0,011*
Слабо подвижные сперматозоиды, %	26,5 (23,5-27,0)	34,0 (30,5-37,0)	0,001*
Атипичные формы сперматозоидов, %	12,0 (9,0-12,0)	12,5 (11,0-13,5)	0,202

Примечание. * $p < 0,05$.

Таблица 4

Сопоставление групп по концентрации триклозана в тканях яичка и морфофункциональным характеристикам сперматогенеза

Параметр	Контроль (n = 10)	Опыт (TCS) (n = 10)	p
	Me (Q ₁ -Q ₃)	Me (Q ₁ -Q ₃)	
Площадь паренхимы яичка, мкм ²	4035478,48 (4027847,89-4060018,02)	3998191,98 (3974000,13-4013347,12)	0,012*
Площадь стромы яичка, мкм ²	380064,82 (355525,28-387695,41)	417351,33 (402196,19-441543,17)	0,012*
Общее количество канальцев, п	133 (132-139)	131 (129-132)	0,069
Количество канальцев со слущенным эпителием, п	2 (1-4)	4 (3-6)	0,046*
Толщина сперматогенного эпителия, мкм	98,43 (97,42-100,20)	93,22 (92,11-94,29)	<0,001*
Диаметр извитых семенных канальцев, мкм	284,99 (284,45-285,29)	306,28 (302,64-309,63)	<0,001*
Площадь извитых семенных канальцев, мкм ²	67233,10 (67126,58-67497,53)	73122,14 (72888,35-74024,35)	<0,001*
Общее количество клеток Лейдига (n)	154,8 (149,8-159,2)	142,1 (137,2-146,6)	0,001*
Площадь клеток Лейдига, мкм ²	1410,65 (1396,87-1431,13)	1363,55 (1340,54-1401,58)	0,153
Ядерно-цитоплазматич. отношение	0,48 (0,48-0,49)	0,54 (0,53-0,58)	<0,001*

Примечание. * $p < 0,05$.

С использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена между концентрацией TCS в тканях яичка и морфометрическими показателями сперматогенеза и клетками Лейдига были обнаружены следующие корреляционные связи: прямая, высокой тесноты (по шкале Чеддока) с диаметром извитых семенных канальцев ($r = 0,866$; $p = 0,001$); долей

слабо подвижных сперматозоидов (0,883; $p < 0,001$); ядерно-цитоплазматическим индексом (ЯЦИ) клеток Лейдига ($r = 0,866$; $p < 0,001$); обратная высокой тесноты с толщиной сперматогенного эпителия ($r = -0,866$; $p < 0,001$); общим количеством клеток Лейдига ($r = -0,779$; $p < 0,001$) (табл. 5).

Таблица 5

Корреляционные связи между концентрацией триклозана в тканях яичка и морфофункциональными характеристиками сперматогенеза

Параметр	Триклозан, нг/мл	
	г	р
Масса правого яичка, г	-0,779	< 0,001*
Масса правого яичка/масса тела, %	-0,260	0,298
Общее количество сперматозоидов, млн	-0,173	0,492
Доля прогрессивно подвижных сперматозоидов, %	-0,655	0,006*
Доля слабо подвижных сперматозоидов, %	0,883	< 0,001*
Атипичные формы сперматозоидов, %	0,310	0,211
Площадь паренхимы яичка, мкм ²	-0,606	0,008*
Площадь стромы яичка, мкм ²	0,606	0,008*
Общее количество канальцев, п	-0,440	0,067
Количество канальцев со слущенным эпителием, п	0,484	0,042*
Толщина сперматогенного эпителия, мкм	-0,866	< 0,001*
Паренхима/строма яичка, %	-0,606	0,008*
Диаметр извитых семенных канальцев, мкм	0,866	0,001*
Площадь извитых семенных канальцев, мкм ²	0,866	0,001*
Общее количество клеток Лейдига (п)	-0,779	< 0,001*
Площадь клеток Лейдига, мкм ²	-0,346	0,159
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,866	< 0,001*

Примечание. * $p < 0,05$.

Вместе с этим установлено, что исследуемый дизраптор имеет склонность накапливаться в тканях яичек, о чем свидетельствует шестикратное увеличение его концентрации в тканях яичка у опытных животных по сравнению с группой контроля.

Обсуждение результатов

В данном исследовании были установлены корреляционные связи между концентрацией TCS в семенной жидкости и параметрами эякулята (морфология и фрагментация ДНК сперматозоидов) у мужчин.

Кроме того, выявили, что данный эндокринный дизраптор вызывает нарушение генеративного (уменьшение размеров яичек, площади паренхимы яичка, толщины сперматогенного эпителия на фоне увеличения диаметра извитых семенных канальцев и ухудшение параметров спермы), а также эндокринного аппаратов (уменьшение количества и размеров клеток Лейдига с увеличением их ЯЦИ) яичек половозрелых крыс.

Впервые в данном исследовании была оценена концентрация TCS непосредственно в семенной

жидкости у мужчин и яичках животных и показано его влияние на качество спермы, а также тестикулярные гистоморфометрические характеристики в эксперименте. По нашему мнению, обнаружение TCS именно в семенной жидкости и в тканях яичка в условиях эксперимента может отражать прямое токсическое действие данного эндокринного дизраптора на сперматогенез и эндокринную функцию яичка. Так, ранее нами была установлена точка разделения (cut-off) уровня концентрации TCS в семенной жидкости между нормозооспермией и патозооспермией у мужчин с идиопатической формой бесплодия [4].

Jurewicz и соавт. [17] показали корреляционную зависимость морфологии сперматозоидов от концентрации TCS выше 50-го и 75-го перцентилей в моче. Результаты исследования, полученные Zhu и соавт. [35], свидетельствуют о наличии статистически значимой связи между концентрацией TCS в нижнем квартиле (< 0,66 нг/мг) в моче и параметрами эякулята (концентрация, подвижность и морфология сперматозоидов).

Результаты нашего эксперимента согласуются с этими данными и подтверждают наличие статистически значимой корреляционной связи между концентрацией TCS в семенной жидкости и морфологией сперматозоидов ($p = 0,004$).

В многочисленных исследованиях *in vitro* были убедительно продемонстрированы проапоптотический и цитотоксический эффекты TCS на культуре опухолевых и здоровых клеток человека и животных [5, 24]. Считается, что проявлением апоптоза сперматозоидов является фрагментация их ДНК, что и было показано в нашем исследовании. Антиандрогенная или андрогенная активность TCS была продемонстрирована исключительно *in vitro* или *in vivo* у экспериментальных животных [19, 29]. В данном исследовании нам не удалось обнаружить корреляционную зависимость уровня общего тестостерона у мужчин от концентрации TCS в семенной жидкости. Однако в эксперименте было продемонстрировано влияние TCS на эндокринный аппарат яичек крыс в виде снижения общего количества клеток Лейдига и увеличения их ядерно-цитоплазматического отношения, последнее мы расценили как преходящий адаптивный процесс к действию ксенобиотика. Предсказать действие эндокринного дизраптора на эндокринную функцию достаточно проблематично из-за существующего немоного ответа на дозу EDs (NMDR, non-monotonic dose-response) – это означает, что ответ (негативный) не всегда повышается/снижается при повышении/снижении дозы и имеет форму U-образной или перевернутой U-образной кривой [30]. Так, Perponcini и соавт. [26] в эксперименте на крысах при использовании низких доз TCS (0,8–8,0 мг/кг) не выявили негативного эффекта TCS на фертильность, что противоречит результатам данного исследования и исследований других авторов [21, 36], в которых TCS применялся в больших дозах 50–200 мг/кг.

Основным фактором, который может значимо повлиять на результаты данного эксперимента, является воздействие на репродуктивное здоровье мужчин других эндокринных дизрапторов («коктейль» репротоксикантов), в частности сравнительно высокая общая токсическая нагрузка на испытуемых пациентов. Исследование было ограничено оценкой влияния одного эндокринного дизраптора на репродуктивную функцию, поэтому не позволило анализировать эффект синергизма репротоксикантов, воздействующих на организм человека, особенно в крупных промышленных городах. Следует сказать, что недостаточный объем выборки пациентов, а также лабораторных животных, у которых изучали содержание TCS в семенной жидкости или тканях яичек, связан с трудоемкостью и финансовой затратностью данной процедуры.

Выводы

Триклозан в семенной жидкости нарушает сперматогенную и эндокринную функции яичка в условиях клиники и эксперимента, что подтверждено снижением параметров спермы и ухудшением гистоморфологических характеристик яичек. Кроме того, отмечено повышение индекса фрагментации ДНК сперматозоидов.

Вместе с этим показано избирательное накопление репротоксиканта (TCS) в тканях яичка в эксперименте и в семенной жидкости у мужчин, что создает необходимые условия для его прямого и длительного токсического действия.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет рассматривать повышенный уровень концентрации TCS в семенной жидкости как один из причинных факторов идиопатической формы infertility/субфертильности у мужчин. В связи с этим данный показатель, на наш взгляд, можно рекомендовать для включения в алгоритм диагностического поиска причин при идиопатической форме бесплодия.

Авторство

Чигринец С. В. внес вклад в концепцию и дизайн исследования, получение, анализ и интерпретацию данных, подготовил первый вариант статьи; Брюхин Г. В. внес существенный вклад в концепцию и дизайн исследования, участвовал в анализе данных, окончательно утвердил приложенную в редакцию рукопись.

Чигринец Станислав Владимирович – ORCID 0000-0002-7072-8289; SPIN 2278-8992

Брюхин Геннадий Васильевич – ORCID 0000-0002-3898-766X; SPIN 7691-8383

Список литературы/References

1. Ласков Д. С., Брюхин Г. В., Сизоненко М. Л., Алымов Е. А. Особенности морфофункциональных характеристик сперматозоидов у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени алкогольного генеза // Проблемы репродукции. 2014. Т. 20, № 2. С. 18–22.
Las'kov D. S., Bryukhin G. V., Sizonenko M. L., Alymov E. A. Features of morphofunctional characteristics of

spermatozoa in the offspring of female rats with experimental liver damage of alcoholic origin. *Problemy reprodukcii*. 2014, 20 (2), pp. 18-22. [In Russian]

2. Луцкий Д. Л., Николаев А. А. Морфологическое исследование эякулята: методическое пособие. Астрахань, 1999. 47 с.

Lutskiy D. L., Nikolaev A. A. *Morfologicheskoe issledovanie eyakulyata: metodicheskoe posobie* [Morphological examination of the ejaculate: a methodological guide]. Astrakhan', 1999, 47 p.

3. Тинктинский О. Л., Михайличенко В. В. Андрология. Санкт-Петербург: Медиа-пресс, 1999. 431 с.

Tinktinskiy O. L., Mikhaylichenko V. V. *Andrologiya* [Andrology]. Saint-Petersburg, 1999, 431 p.

4. Чигринец С. В., Брюхин Г. В. Оценка риска патозооспермии у мужчин при измерении эндокринных дизрапторов – бисфенола А и триклозана в семенной жидкости методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией // Экспериментальная и клиническая урология. 2018. № 3. С. 48–50.

Chigrinets S. V., Bryukhin G. V. Risk assessment of pathozoospermia in men when measuring endocrine disruptors-bisphenol A and triclosan in seminal fluid by gas chromatography with mass spectrometry. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya urologiya*. 2018, 3, pp. 48-50. [In Russian]

5. Ajaó C., Andersson M. A., Teplova V. V., Nagy S., Gahmberg C. G., Andersson L. C., Hautaniemi M., Kakasi B., Roivainen M., Salkinoja-Salonen M. Mitochondrial toxicity of triclosan on mammalian cells. *Toxicology Reports*. 2015, 2, pp. 624-637.

6. Allmyr M., Adolffsson-Erici M., McLachlan M. S., Sandborgh-Englund G. Triclosan in plasma and milk from swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. *Sci. Total Environ*. 2006, 372, pp. 87-93.

7. Calafat A. M., Ye X., Wong L. Y., Reidy J. A., Needham L. L. Urinary concentrations of triclosan in the U.S. Population: 2003-2004. *Environ. Health Perspect*. 2008, 116 (3), pp. 303-307.

8. Chen M., Tang R., Fu G., Xu B., Zhu P., Qiao S., Chen X., Xu B., Qin Y., Lu C., Hang B., Xia Y., Wang X. Association of exposure to phenols and idiopathic male infertility. *J. Hazard Mater*. 2013, 250-251, pp. 115-121.

9. Colborn T., von Saal F. S., Soto A. M. Development effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect*. 1993, 101 (5), pp. 378-384.

10. Den Hond E., Tournaye H., De Sutter P., Ombelet W., Baeyens W., Covaci A., Cox B., Nawrot T. S., Van Larebeke N., D'Hooghe T. Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: A case-control study in male subfertility patients. *Environment International*. 2015, 84, pp. 154-160.

11. Forgacs A. L., Ding Q., Jaremba R. G., Huhtaniemi I. T., Rahman N. A., Zacharewski T. R. Blt1 murine leydig cells: A novel steroidogenic model for evaluating the effects of reproductive and developmental toxicants. *Toxicol Sci*. 2012, 127, pp. 391-402.

12. Garg H., Kumar R. Empirical drug therapy for idiopathic male infertility: what is the new evidence? *Urology*. 2015, 86 (6), pp. 1065-1075.

13. 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), pp. 796-802.

14. Geens T., Neels H., Covaci A. Sensitive and selective method for the determination of bisphenol-a and triclosan

in serum and urine as pentafluorobenzoate-derivatives using gc-ecni/ms. *J. Chromatogr. B. Ana. Technol. Biomed. Life Sci.* 2009, 877, pp. 4042-4046.

15. Gunes S., Arslan M. A., Hekim G. N., Asci R. The role of epigenetics in idiopathic male infertility. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2016, 33 (5), pp. 553-569.

16. Juncker J.-C. Commission implementing decision not approving triclosan as an existing active substance for use in biocidal products for product-type 1. In 528/2012 / ed. by European Union. *Brussels: Jean-Claude Juncker*, 2016.

17. Jurewicz J., Radwan M., Wielgomas B., Kałużny P., Klimowska A., Radwan P., Hanke W. Environmental levels of triclosan and male fertility. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018, 25 (6), pp. 5484-5490.

18. Kumar V., Balomajumder C., Roy P. Disruption of lh-induced testosterone biosynthesis in testicular leydig cells by triclosan: Probable mechanism of action. *Toxicology.* 2008, 250, pp. 124-131.

19. Kumar V., Chakraborty A., Kural M. R., Roy P. Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. *Reprod. Toxicol.* 2009, 27, pp. 177-185.

20. Kux L. 2016. *Federal Register*. Vol. 81 No. 126. URL: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2016-06-30/pdf/2016-15410.pdf>.

21. Lan Z., Hyung Kim T., Shun Bi K., Hui Chen X., Sik Kim H. Triclosan exhibits a tendency to accumulate in the epididymis and shows sperm toxicity in male sprague-dawley rats. *Environ. Toxicol.* 2015, 30, pp. 83-91.

22. Narro A. B., Albuti-Lantz M., Smith E. P., Bower K. J., Roane T. M., Vajda A. M., Miller C. S. Perturbation and restoration of the fathead minnow gut microbiome after low-level triclosan exposure. *Microbiome.* 2015, 3, p. 6.

23. Nieschlag E., Behre H. M. *Andrology: male reproductive health and dysfunction*. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2010, 629 p.

24. Olaniyan L. W. B., Mkwetshana N., Okoh A. I. Triclosan in water, implications for human and environmental health. *Springer Plus.* 2016, 5, p. 1639.

25. Pannu M. W., Toor G. S., O'Connor G. A., Wilson P. C. Toxicity and bioaccumulation of biosolids-borne triclosan in food crops. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, 31, pp. 2130-2137.

26. Pernoncini K. V., Montagnini B. G., de Góes M. L. M., Garcia P. C., Gerardin D. C. C. Evaluation of reproductive toxicity in rats treated with triclosan. *Reproductive Toxicology.* 2018, 75, pp. 65-72.

27. Rodricks J. V., Swenberg J. A., Borzelleca J. F., Maronpot R. R., Shipp A. M. Triclosan: A critical review of

the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Crit. Rev. Toxicol.* 2010, 40, pp. 422-484.

28. Rüdell H., Böhmer W., Müller M., Flidner A., Ricking M., Teubner D., Schröter-Kermani C. Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter: results from the German Environmental Specimen Bank. *Chemosphere.* 2013, 91 (11), pp. 1517-1524.

29. Schiffer C., Muller A., Egeberg C. L., Alvarez L., Brenker C. A., Frederiksen H., Waschle B., Kaupp U. B., Balbach M., Wachten D., Skakkebaek N. E., Almstrup K., Strunker T. Direct action of endocrine disrupting chemicals on human sperm. *EMBO Rep.* 2014, 15 (7), pp. 758-765.

30. Vandenberg L. N., Colborn T., Hayes T. B., Heindel J. J., Jacobs D. R., Lee D. H., Shioda T., Soto A. M., vom Saal F. S., Welshons W. V., Zoeller R. T., Myers J. P. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine Review.* 2012, 33 (3), pp. 378-455.

31. Wang C.-F., Tian Y. Reproductive endocrine-disrupting effects of triclosan: population exposure, present evidence and potential mechanisms. *Environ. Pollut.* 2015, 206, pp. 195-201.

32. Weatherly L. M., Gosse J. A. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* 2017, 20 (8), pp. 447-469.

33. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva, WHO, 2010, 287 p.

34. Wyrobek A. J., Bruce W. R. Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1975, 72 (11), pp. 4425-4429.

35. Zhu W., Zhang H., Tong C., Xie C., Fan G., Zhao S., Yu X., Tian Y., Zhang J. Environmental Exposure to Triclosan and Semen Quality. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2016, 13 (12), p. 224.

36. Zorrilla L. M., Gibson E. K., Jeffrey S. C., Crofton K. M., Setzer W. R., Cooper R. L., Stoker T. E. The effects of triclosan on puberty and thyroid hormones in male wistar rats. *Toxicol. Sci.* 2009, 107, pp. 56-64.

Контактная информация:

Чигринец Станислав Владимирович – аспирант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, д. 64

E-mail: chigrinstas@gmail.com