

УДК 615.9

**ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ БИОПРОФИЛАКТИКИ ПО ПОКАЗАТЕЛЮ
СПЕРМАТОГЕНЕЗА КРЫС ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДОВ СВИНЦА И КАДМИЯ**

Рябова Ю.В., Клинова С.В., Чернышов И.Н.

ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Россия

Целью данной работы являлась оценка сперматогенеза у крыс, подвергшихся субхроническому воздействию наночастиц оксидов свинца и/или кадмия, и эффективности биопрофилактического комплекса. Эксперимент проводили на аутбредных крысах-самцах. Субхроническая интоксикация моделировалась путем повторных внутрибрюшинных инъекций суспензий наночастиц оксидов свинца и кадмия (полученных методом лазерной абляции). Половина крыс в течение всего периода экспозиции получала биопрофилактический комплекс теоретически обоснованного состава вместе с питьем и кормом. По завершении экспозиции при изучении спермограммы было обнаружено существенное увеличение числа патологически измененных сперматозоидов. Проанализирован характер комбинированного действия изученных металлов по этому показателю. Показано, что вредное действие наночастиц оксидов свинца и кадмия на рассматриваемый показатель ослаблено на фоне приема биопротекторов.

Ключевые слова: наночастицы, свинец, кадмий, токсичность, биопротекция

Для цитирования: Рябова Ю.В., Клинова С.В., Чернышов И.Н. Положительный эффект биопрофилактики по показателю сперматогенеза крыс при субхронической интоксикации наночастицами оксидов свинца и кадмия. Медицина труда и экология человека. 2019; 4:59-67.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10048>

**POSITIVE EFFECT OF BIOPROPHYLLAXIS IN TERMS OF RAT
SPERMATOGENESIS DURING SUBCHRONIC INTOXICATION WITH LEAD AND
CADMIUM OXIDES BY NANOPARTICLES**

Riabova, J.V., Klinova, S.V., Chernyshov I.N.

The Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, Russia

The aim of this work was evaluate spermatogenesis in rats subjected to subchronic exposure to nanoparticles of lead and cadmium oxides and the effectiveness of the bioprevention complex. The experiment was conducted on the outbred male rats receiving repeated intraperitoneal injections with suspensions of PbO and CdO nanoparticles (obtained by laser ablation). Two groups of rats received a bioprophylactic complex along with drinking and food during the all exposure period. After the exposure was over, the semen cytological analysis was performed. It revealed an increased percentage of spermatozoa with

morphological defects. The type of combined spermatotoxic effects of the nanoparticles was described mathematically. We've shown also that the studied combined toxic effect of PbO and CdO nanoparticles could be attenuated by the background administration of bioprotective agents.

Keywords: nanoparticles, lead, cadmium, toxicity, bioprotectors

For citation: Riabova, J.V., Klinova, S.V., Chernyshov I.N. Positive effect of bioprophylaxis in terms of rat spermatogenesis during subchronic intoxication with lead and cadmium oxides by nanoparticles. *Occupational Occupational health and human ecology*. 2019: 4:59-67

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2019-10048>

Введение

Рабочие медеплавильных предприятий и лица, проживающие на прилегающих территориях, подвергаются воздействию токсичных аэрозолей в воздухе рабочей зоны и окружающей атмосферы со значительным вкладом свинца и кадмия, в том числе в форме наночастиц (НЧ) оксидов этих металлов. Известно, что химические и биологические свойства существенно отличаются от свойств их микро- и макроскопических аналогов, в связи с чем наноматериалы представляют собой принципиально новый фактор [1, 2].

Медико-социальная значимость репродуктивной патологии мужчин неуклонно растет. Среди этиологических факторов, вызывающих бесплодие, практически всеми исследователями выделяются факторы внешней среды [3, 4]. Такие тяжелые металлы, как свинец и кадмий, вызывают нарушение сперматогенеза [5]. Однако в литературе мы не нашли данных о влиянии наночастиц свинца и кадмия на репродуктивную систему мужчин.

Материалы и методы

Эксперимент был проведен на аутбредных белых крысах-самцах собственного разведения по 8 животных в каждой группе. На момент начала эксперимента возраст животных составлял 3 месяца, исходная масса тела – около 250 г. Субхроническая интоксикация моделировалась путем повторных внутрибрюшинных инъекций НЧ оксидов свинца и кадмия 3 раза в неделю в течение 6 недель. Суспензии НЧ были получены методом лазерной абляции, средний размер частиц составлял 50 ± 16 нм для НЧ оксида свинца и 57 ± 13 нм для оксида кадмия. Разовая доза НЧ оксида свинца составляла 2,5 мг/кг, оксида кадмия – 0,25 мг/кг массы тела. Контрольные животные получали тот же объем стерильной деионизированной воды.

Половина крыс в течение всего периода экспозиции получала биопрофилактический комплекс (БПК) вместе с питьем и кормом. В состав входили следующие биопротекторы в указанной дозировке: ацетилцистеин (30 мг), витамины А (35,2 мкг), Е (0,27 мг), С (2,8 мг), В1 (0,038 мг), В2 (0,04 мг), В6 (0,04 мг), D₃ (1,7 мкг); Se (1,38 мг), Mg (2,08 мг), J (4,1 мг), Ca (160 мг), рутин (1,4 мг), пектин (200 мг). Рыбий жир, богатый полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) класса омега-3, вводился в корм из расчета 1 капля на 1 животное, что приблизительно соответствует омега-3-ПНЖК

– 13,3 мг, витамин А - 0,013 мг, D₃ – 0,04 мкг. Глутаминовая кислота давалась в виде 1,5% раствора вместо воды, приблизительная доза потребления на одно животное составляла 160 мг. Обоснование состава БПК базировалось на литературных и собственных данных о патогенетических, защитно-компенсаторных механизмах развития интоксикаций и об эффектах биологически активных веществ, которые могут благоприятно вмешиваться в эти механизмы.

Суспензию сперматозоидов получали при продольном разрезании придатка семенника крысы и дозированном (2 минуты) перемешивании его в растворе глюкозы 5% (10 мл). Для подсчета относительного количества патологических форм одну каплю суспензии наносили на предметное стекло, подсушивали на воздухе и окрашивали по Паппенгейму. Подсчет проводился на 200 клеток.

Статистическая значимость межгрупповых различий средних значений оценивалась с помощью *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Было проведено математическое моделирование с использованием методологии поверхности отклика [6, 7].

Результаты и обсуждение

По завершении экспозиции при изучении сперматограммы было обнаружено существенное увеличение количества патологически измененных сперматозоидов в экспонированных группах. Учитываемые нами патологические формы были разделены на три группы: аномалии головки (рис. 1), аномалии шейки (рис. 2) и аномалии хвоста сперматозоида (рис. 3).

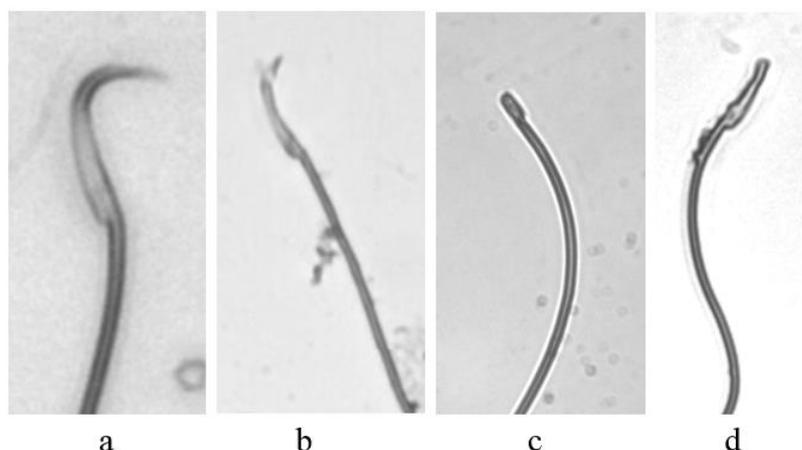


Рис. 1. Головка сперматозоида крысы в норме (а) и при патологии (b, c, d)

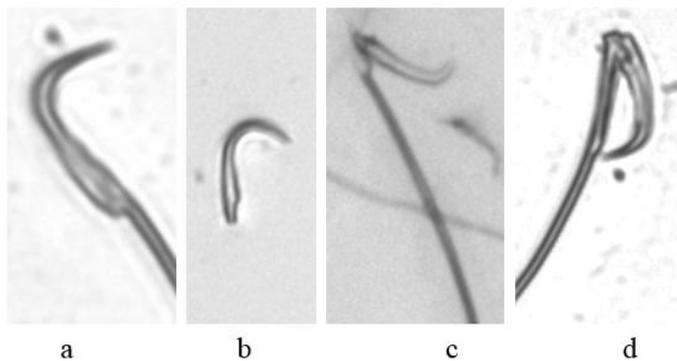


Рис. 2. Шейка сперматозоида крысы в норме (a) и при патологии (b, c, d)

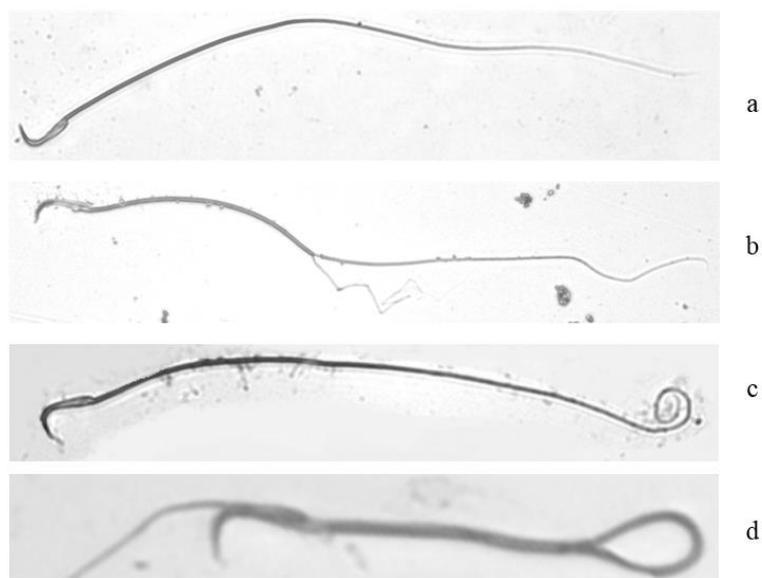


Рис. 3. Хвост сперматозоида крысы в норме (a) и при патологии (b, c, d)

Общепризнанным тестом для оценки мутагенного действия различных факторов на половые клетки млекопитающих является определение числа сперматозоидов с аномальными головками. Деформация головки сперматозоидов может привести к снижению их подвижности, повреждению акросомы, увеличению доминантных летальных мутаций, временной или постоянной стерильности [8]. Наличие в полученных нами образцах подобных клеток может свидетельствовать в том числе о мутагенном воздействии наночастиц оксидов свинца и кадмия на премейотические и ранние постмейотические клетки.

Известно, что при сопоставимом размере металлсодержащих наночастиц цитотоксичность и системная токсичность зависят от их химической природы, включая специфические токсические эффекты, характерные для этого металла [9]. Согласно литературным данным, при интоксикации ионами свинца [10, 5], и кадмия [11] появляется большое количество атипичных сперматозоидов, что подтверждается и в нашем исследовании.

Неблагоприятные сдвиги, статистически значимые по сравнению с контролем, отмечены в группах, подвергшихся как изолированному воздействию наночастиц оксидов свинца и кадмия, так и комбинированному.

Показатели группы, получавшей НЧ на фоне многокомпонентного биопротекторного комплекса и только сам комплекс, статистически не отличаются от контрольных, что подтверждает его безвредность, а исчезновение значимости различий с контрольной группой говорит о положительном влиянии комплекса (табл.).

Таблица

Доля патологических форм сперматозоидов крыс, подвергшихся субхроническому воздействию наночастиц оксидов свинца и/или кадмия, в том числе в комбинации с комплексом биопротекторов, %

Группы животных, получавшие:					
Контроль	НЧ CdO	НЧ PbO	НЧ CdO + НЧ PbO	НЧ CdO+ НЧ PbO + БПК	Контроль на БПК
7,6 ± 1,2	21,5 ± 1,5*	23,5 ± 1,7*	15,8 ± 3,0*♦	14,8 ± 1,8	9,9 ± 0,99
Примечание: * - отличие от контрольной группы, ♦ - от группы nPbO					

Среди возможных механизмов снижения доли патологических форм сперматозоидов крыс, подвергшихся субхроническому воздействию наночастиц оксидов свинца и кадмия, на фоне приема комплекса биопротекторов можно выделить несколько основных.

Во-первых, мы предполагаем снижение концентрации наночастиц изучаемых металлов в организме благодаря использованному пектиновому энтеросорбенту. Защитное действие пектина может быть объяснено его способностью к образованию прочных нерастворимых хелатных комплексов с поливалентными металлами и выведению последних из организма [12].

Во-вторых, вероятно, благодаря введению кальция, токсикокинетического и токсикодинамического антагониста свинца, удалось нивелировать его вредное действие. Витамин D, введенный в том числе для улучшения усвоения кальция, обладает широким спектром цитопротекторных действий, благодаря которым может нейтрализовать токсическое воздействие избытка свинца на клетки яичек [10] и снизить риск фрагментации ДНК сперматозоидов [13].

В-третьих, из антиоксидантов, представленных в составе комплекса, наиболее важными по отношению к нормализации изученного показателя мы считаем витамин А, необходимый в достаточном количестве для нормальной регуляции деятельности семенников, [14] и рутин. Последний является гликозидом кверцетина, который обладает, по данным литературы, способностью снижать количество аномальных сперматозоидов крыс [15].

Было обнаружено значимое снижение количества патологических форм сперматозоидов в группе «НЧ CdO + НЧ PbO» от группы, получавшей только НЧ оксида свинца, а также сходная статистически незначимая тенденция к снижению этого показателя от группы, получавшей только НЧ оксида кадмия.

Была построена и проанализирована изоболограмма, иллюстрирующая неоднозначность типа комбинированного действия наночастиц оксидов свинца и кадмия на число патологически измененных сперматозоидов: аддитивность однонаправленного действия при сочетании наименьших доз НЧ с тенденцией к субаддитивности при увеличении доз, а также разные варианты противонаправленного действия при сочетаниях доз неодинакового уровня (рис. 4).

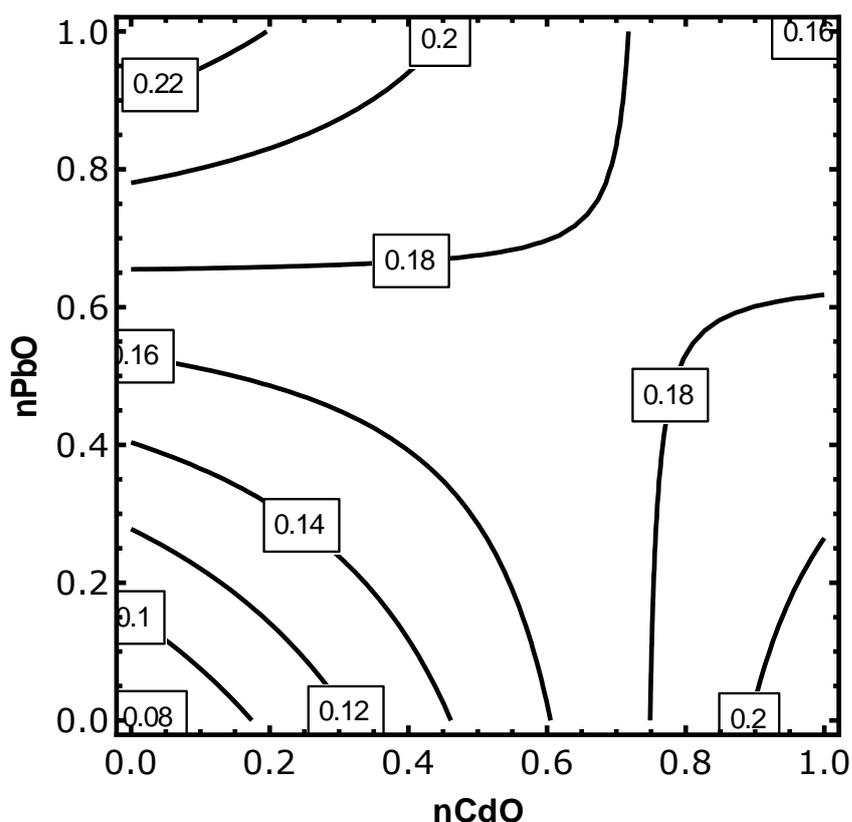


Рис. 4. Неоднозначность типа комбинированного действия наночастиц оксидов свинца и кадмия на число патологически измененных сперматозоидов. На осях – дозы наночастиц оксидов металлов в долях от реальной дозы («nPbO» - НЧ PbO; «nCdO» - НЧ CdO); на изоболах – величина соответствующего эффекта

Выводы:

1. Показано токсическое действие наночастиц оксидов свинца и кадмия на увеличение доли патологических форм сперматозоидов крыс.
2. Обнаружена неоднозначность типа комбинированного действия наночастиц оксидов свинца и кадмия на сперматогенез при разных уровнях доз.
3. Под влиянием биопрофилактического комплекса токсическое действие наночастиц оксидов свинца и кадмия на сперматогенез ослаблено.

Список литературы:

1. Baun A., Hartmann N.B., Grieger K., Kusk K.O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. *Ecotoxicology* 2008;17: 387–395.
2. B. A. Katsnelson, L.I. Privalova, M. P. Sutunkova, I. A. Minigalieva, V. B. Gurvich, V. Y. Shur et al. Experimental Research into Metallic and Metal Oxide Nanoparticle Toxicity In Vivo. *Bioactivity of Engineered Nanoparticles*; 2017: 259-319
3. Галимов Ш.Н., Амирова З.К., Галимова Э.Ф. «Кризис сперматозоида» и техногенное загрязнение окружающей среды: факты и гипотезы. *Проблемы репродукции* 2005; 2: 19-22.
4. Снакин, В.В. Загрязнение биосферы свинцом: масштабы и перспективы для России. *Медицина труда и промышленная экология*. 1999; 5: 21-27.
5. Hew K. W. Cadmium in vivo causes disruption of tight junction-associated microfilaments in rat Sertoli cells / Hew K. W., Heath G. L. and Jiwa A. H. // *Biology of reproduction* Oct 1993; 49: 4.
6. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead *Food and Chemical Toxicology* 2014; 64: 144-156. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.024>
7. Минигалиева, И.А. Характеристика типов комбинированной токсичности металлов и металлоидов как основа гигиенической оценки многокомпонентного загрязнения среды [автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук (14.02.01)]. Москва. ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана; 2019.
8. Мамина В.П. Возможность использования цистеина в качестве протектора от повреждающего действия ионизирующего излучения на сперматогенный эпителий. *Проблемы репродукции*. 2018; 24(5): 113-119.
9. Сутункова М.П. Экспериментальные данные и методические соображения к обоснованию предельно допустимой концентрации железо-оксидных наночастиц в воздухе рабочей зоны. *Токсикологический вестник* 2016; 6 (141): 11-17.
10. BaSalamah MA, Abdelghany AH, El-Boshy M, Ahmad, Idris S, Refaat B. Vitamin D alleviates lead induced renal and testicular injuries by immunomodulatory and antioxidant mechanisms in rats *Sci Rep*. 2018 Mar 19;8(1):4853. doi: 10.1038/s41598-018-23258-w
11. Badr GM, Elsayy H, Sedky A, Eid R, Ali A, Abdallah BM1, Alzahrani AM, Abdel-Moneim AM. Protective effects of quercetin supplementation against short-term toxicity of cadmium-induced hematological impairment, hypothyroidism, and testicular disturbances in albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019 Jan 29. doi: 10.1007/s11356-019-04276-1.
12. Дегтярева Т.Д., Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Кузьмин С.В., Береснева О.Ю. Гурвич В.Б. и соавт. Биологическая профилактика токсического действия некоторых тяжелых металлов, загрязняющих среду обитания. Экологически обусловленные заболевания человека: методологические проблемы и пути их

решения: Матер. пленума Межвед. науч. совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РФ, Москва, 21-22 декабря, 2000 г. Под ред. акад. РАМН Ю.А. Рахманина. М., 2000. 31- 32.

13. O. Merino, R. Sánchez, B. M. Gregorio, F. J. Sampaio, and J. Risopatrón. Effects of Diet-Induced Obesity and Deficient in Vitamin D on Spermatozoa Function and DNA Integrity in Sprague-Dawley Rats. *Biomed Res Int*. Published online 2018 Nov 25. doi: 10.1155/2018/5479057
14. Yang, Y., Luo, J., Yu, D., Zhang, T., Lin, Q., Li, Q., Wu, X., Su, Z., Zhang, Q., Xiang, Q., Huang, Y. Vitamin A promotes Leydig cell differentiation via alcohol dehydrogenase 1. *Frontiers in Endocrinology* Vol. 9, Issue OCT, 29 October 2018
15. Yelumalai, S., Giribabu, N., Karim, K., Omar, S.Z., Salleh, N.B. In vivo administration of quercetin ameliorates sperm oxidative stress, inflammation, preserves sperm morphology and functions in streptozotocin-nicotinamide induced adult male diabetic rats. *Archives of Medical Science*. - Vol. 15, Issue 1 - 2019. - P. 240-249

References:

1. Baun A., Hartmann N.B., Grieger K., Kusk K.O. Ecotoxicity of engineered nanoparticles to aquatic invertebrates: a brief review and recommendations for future toxicity testing. *Ecotoxicology* 2008;17: 387–395.
2. B. A. Katsnelson, L.I. Privalova, M. P. Sutunkova, I. A. Minigalieva, V. B. Gurvich, V. Y. Shur et al. Experimental Research into Metallic and Metal Oxide Nanoparticle Toxicity In Vivo. *Bioactivity of Engineered Nanoparticles*; 2017: 259-319
3. Galimov Sh. N., Amirova Z. K., Galimova E. F. "Crisis of the sperm" and technogenic environmental pollution: facts and hypotheses. *Russian journal of human reproduction*. 2005; 2: 19-22.
4. Snakin, VV Lead pollution of the biosphere: the scope and prospects for Russia. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 1999; 5: 21-27.
5. Hew K. W. Cadmium in vivo causes disruption of tight junction-associated microfilaments in rat Sertoli cells / Hew K. W., Heath G. L. and Jiwa A. H. // *Biology of reproduction* Oct 1993; 49: 4.
6. Varaksin A.N., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Kireyeva E.P., Valamina I.E. Some considerations concerning the theory of combined toxicity: a case study of subchronic experimental intoxication with cadmium and lead *Food and Chemical Toxicology* 2014; 64: 144-156. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.11.024>
7. Minigalieva I.A. Characterization of the types of combined toxicity of metals and metalloids as the basis of a hygienic assessment of multicomponent environmental pollution [dissertation]. Moscow. FBES «FSCH named after F.F. Erisman» of Rosпотребнадзор; 2019
8. Mamina V.P. Cysteine as a possible protective agent against damaging action of ionizing radiation on spermatogenic epithelium. *Russian journal of human reproduction*. 2018; 24(5): 113-119.

9. Sutunkova M.P. Experimental data and methodological considerations to substantiate the maximum permissible concentration of iron oxide nanoparticles in the air of the working zone. *Toxicological Review* 2016; 6 (141): 11-17.
10. BaSalamah MA, Abdelghany AH, El-Boshy M, Ahmad, Idris S, Refaat B. Vitamin D alleviates lead induced renal and testicular injuries by immunomodulatory and antioxidant mechanisms in rats *Sci Rep.* 2018 Mar 19;8(1):4853. doi: 10.1038/s41598-018-23258-w
11. Badr GM, Elsayy H, Sedky A, Eid R, Ali A, Abdallah BM1, Alzahrani AM, Abdel-Moneim AM. Protective effects of quercetin supplementation against short-term toxicity of cadmium-induced hematological impairment, hypothyroidism, and testicular disturbances in albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019 Jan 29. doi: 10.1007/s11356-019-04276-1.
12. Degtyareva T.D., Katsnelson B.A., Privalova L.I., Kuzmin S.V., Beresneva O.Yu. Gurvich V.B. et al. Biological prevention of toxic effects of some heavy metals that pollute the environment. Ecologically caused human diseases: methodological problems and ways to solve them: Mater. Plenum Mezhd. scientific Council on human ecology and environmental health of the Russian Federation, Moscow, December 21-22, 2000, Ed. Acad. RAMS Yu.A. Rachmaninus. M., 2000. 31-32.
13. O. Merino, R. Sánchez, B. M. Gregorio, F. J. Sampaio, and J. Risopatrón. Effects of Diet-Induced Obesity and Deficient in Vitamin D on Spermatozoa Function and DNA Integrity in Sprague-Dawley Rats. *Biomed Res Int.* Published online 2018 Nov 25. doi: 10.1155/2018/5479057
14. Yang, Y., Luo, J., Yu, D., Zhang, T., Lin, Q., Li, Q., Wu, X., Su, Z., Zhang, Q., Xiang, Q., Huang, Y. Vitamin A promotes Leydig cell differentiation via alcohol dehydrogenase 1. *Frontiers in Endocrinology* Vol. 9, Issue OCT, 29 October 2018
15. Yelumalai, S., Giribabu, N., Karim, K., Omar, S.Z., Salleh, N.B. In vivo administration of quercetin ameliorates sperm oxidative stress, inflammation, preserves sperm morphology and functions in streptozotocin-nicotinamide induced adult male diabetic rats. *Archives of Medical Science.* - Vol. 15, Issue 1 - 2019. - P. 240-249

Поступила/Received: 06.11.2019

Принята в печать/Accepted: 07.11.2019