

УДК: 57.044

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕННИКОВ КРЫС
НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА**

Л.А. ШАРАФУТДИНОВА*, К.Н. СИНЕЛЬНИКОВ*, В.В. ВАЛИУЛЛИН**

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», ул. Заки Валиди, д. 32 г. Уфа, 450008, Россия

**ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России,
ул. Бутлерова, д. 49, г. Казань, 420012, Россия, e-mail: sharafla@yandex.ru

Аннотация. На сегодняшний день среди наноматериалов в наиболее значительных масштабах используются наночастицы диоксида титана. Вместе с тем, результаты исследований последних лет показали, что эти частицы оказывают негативное влияние на половые клетки организма. Тем не менее, механизмы, лежащие в основе нарушения процессов гаметогенеза под влиянием наночастиц остаются недостаточно изученными. В статье представлены результаты исследования влияния наночастицы TiO_2 на иммуногистохимические и морфометрические характеристики семенников крыс. Показано, что в условиях перорального введения наночастицы TiO_2 (50 мг/кг массы тела, 14 и 30 дней) определяются дистрофические изменения сперматогенного эпителия, заключающиеся в уменьшении его толщины, дезорганизации слоев и отрыве сперматогенных клеток от базальной мембраны, уменьшение площади ядер интерстициальных клеток Лейдига. Иммуногистохимические исследования выявили уменьшение экспрессии маркеров пролиферации (*ki-67*) и стволовых клеток (*c-kit*), что указывает на снижение пролиферативной активности клеток и их способности к дифференцировке. Полученные нами данные свидетельствуют о негативном влиянии наночастицы TiO_2 на морфофункциональные характеристики репродуктивной системы самцов крыс и как следствие, нарушениях сперматогенеза.

Ключевые слова: наночастицы, диоксид титана, токсичность, сперматогенный эпителий, клетки Лейдига.

**MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF RATS TESTES AGAINST THE BACKGROUND
OF EXPOSURE TO TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES**

L.A. SHARAFUTDINOVA*, K.N. SINELNIKOV*, V.V. VALIULLIN**

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Bashkir State University",
Zaki Validi Str., 32, Ufa, 450008, Russia

**Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Kazan Medical University"
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Butlerov Str., 49, Kazan, 420012, Russia,
e-mail: sharafla@yandex.ru

Abstract. To date, among nanomaterials, titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles are used on the most significant scale. At the same time, the results of recent studies have shown that these particles have a negative impact on the body's germ cells. However, the mechanisms underlying the disruption of gametogenesis under the influence of nanoparticles remain insufficiently studied. The article presents the results of the study of the influence of TiO_2 on the immunohistochemical and morphometric characteristics of rat testes. It is shown that under the conditions of oral administration of TiO_2 LF (50 mg/kg body weight, 14 and 30 days) dystrophic changes of the spermatogenous epithelium are determined, which consist in reducing its thickness, disorganization of layers and separation of spermatogenic cells from the basal membrane, reducing the area of nuclei of interstitial Leydig cells. Immunohistochemical studies revealed a decrease in the expression of proliferation markers (*ki-67*) and stem cells (*c-kit*), indicating a decrease in cell proliferative activity and their ability to differentiate. The data obtained by us indicate the negative impact of low-frequency TiO_2 on the morphological and functional characteristics of the reproductive system of male rats and as a consequence, violations of spermatogenesis.

Keywords: nanoparticles, titanium dioxide, toxicity, spermatogenic epithelium, Leydig cells.

Введение. Сперматогенез представляет собой сложный биологический процесс, который особенно чувствителен к любым неблагоприятным воздействиям [1, 2]. Исследования последних лет убедительно доказывают, что в неблагоприятных экологических условиях контакт с различными химическими соединениями приводит к снижению качества спермы, уменьшению количества сперматозоидов и в конечном счете к снижению мужской фертильности [14]. Среди появившихся в последнее время токсикантов, вызывающих особую тревогу у врачей репродуктологов, серьезное внимание уделяют наноматериалам и наночастицам [8]. На сегодняшний день в наиболее значительных масштабах используются *наночасти-*

цы диоксида титана (НЧ TiO_2). Вместе с тем, результаты исследований последних лет показали, что НЧ TiO_2 оказывают негативное влияние как на соматические, так и на половые клетки организма человека и животных [3, 12]. Тем не менее, механизмы, лежащие в основе нарушения сперматогенеза под влиянием НЧ остаются недостаточно изученными. С появлением специфичных маркеров, позволяющих адекватно идентифицировать не только сами клетки, но и их функциональное состояние, стало возможным исследование клеточных основ токсического воздействия наночастиц на органы и ткани. Применительно к *сперматогенному эпителию* (СЭ) семенников целесообразно использование маркера стволовых клеток – *c-kit*, экспрессия которого позволяет отслеживать количество стволовых клеток СЭ, расположенных на его базальной мембране. Одним из ключевых показателей эффективности сперматогенеза является скорость пролиферации клеток, входящих в его состав, что можно оценить, используя маркер пролиферации, например, *ki-67*. В связи с чем, целью настоящей работы явилось исследование иммуногистохимических и морфометрических характеристик семенников крыс на фоне перорального введения НЧ TiO_2 .

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись половозрелые самцы крыс линии *Wistar* массой 170-210 г ($n=38$). Изучение влияния НЧ TiO_2 на морфофункциональные показатели семенников проводили после перорального введения крысам изучаемого соединения в дозе 50 мг/кг веса животного. В работе использовалась дисперсия диоксида титана (рутильная форма, 40-60 нм), полученная разведением порошка TiO_2 в дистиллированной воде. Агрегацию наночастиц предотвращали обработкой суспензии нанодисперсного TiO_2 в ультразвуковой ванне. Животных опытных групп выводили из эксперимента на 14-й (опытная группа 1, $n=10$) и 30-й дни (опытная группа 2, $n=10$) декапитацией с соблюдением основных требований к эвтаназии, изложенных в Приложении № 4 к «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных». Всех животных содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном сбалансированном рационе, при свободном доступе к воде и пище, в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Для гистологического исследования семенники фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы готовили на микротоме *LEICA RM 2145* (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием микроскопа *Axiolmager Z1* (*C. Zeiss*, Германия). Иммуногистохимические исследования осуществляли на парафиновых срезах толщиной 6-8 мкм. Окраску проводили на автоматизированном стайнере для иммуногистохимии и гибридизации *in situ* *Leica Microsystems Bond™* (Германия). В качестве первичных поликлональных антител применяли: *C-kit* и *ki-67* (*SantaCruzBiotechnology*, США). Использовали поликлональную непрямую стрептавидин-биотиную систему детекции *Leica BOND (Novocastra™)*, Германия). Оценку специфичности реакции проводили при окрашивании срезов без первичных антител. Подсчет клеток производили в 20-и полях зрения каждого образца при увеличении $\times 400$ на поперечно ориентированных срезах. Проллиферативную клеточную активность оценивали по процентному соотношению позитивно окрашенных на *ki-67* клеток к негативно окрашенным клеткам (на 100 просчитанных клеток). Морфометрические исследования осуществляли на светоптическом уровне. Подсчитывали толщину СЭ, диаметр поперечного сечения *извитых семенных канальцев* (ИСК), площадь ядер клеток Лейдига.

Математико-статистическую обработку данных производили с использованием лицензионного пакета прикладных программ «*STATISTICA*» v.7.0 (*Stat Soft Inc.*, США). В модуле «Основные статистики» («*Basic Statistics*») для всех изученных количественных показателей были подсчитаны выборочное среднее (среднее арифметическое, *Mean, M*) и стандартная ошибка среднего (*Standard Error of Mean, m*). С помощью критерия Шапиро-Уилка (*Shapiro-Wilk's W test*) проводили анализ соответствия вида распределения количественных признаков закону нормального распределения. Поскольку распределение признаков в группах являлось нормальным, сравнительный анализ групп проводился с помощью параметрических методов (t-критерий Стьюдента). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Количественные данные в таблице представлены в виде $M \pm m$.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования показали, что морфологическая картина семенников крыс контрольной группы соответствовала типичной для этих животных. На гистологических препаратах четко визуализируются плотно расположенные ИСК округлой формы. Пространство между ИСК заполнено интерстициальной тканью, содержащей клетки Лейдига, расположенные вокруг сосудов микроциркуляторного русла. На базальной мембране СЭ определяются сперматогенные клетки на разных стадиях сперматогенеза, связанные с клетками Сертоли.

При исследовании семенников крыс, подвергшихся воздействию НЧ TiO_2 , были выявлены выраженные морфологические изменения в тканях органа. Так, к 14-му дню эксперимента в ИСК отмечались дистрофические изменения СЭ, проявляющиеся в его деструкции: появлении пустот в цитоплазме клеток Сертоли и отрыве сперматогенного эпителия от базальной мембраны. Возможно, что вакуолизация косвенно свидетельствует о нарушении интегративных связей развивающихся гамет и sustentоцитов, причем к 30-му дню экспериментального воздействия указанные морфологические изменения были более

выраженными. Кроме того, в указанные сроки было отмечено резкое уменьшение числа зрелых сперматид, в результате чего эпителиосперматогеный слой был представлен только тремя генерациями половых клеток: сперматогонии, сперматоциты первого и второго порядков. Отсутствие зрелых сперматид в семенниках животных опытных групп нашло отражение в изменении морфометрических параметров СЭ (табл. 1). Установлено, что в семенниках обеих опытных групп снижается толщина СЭ, что может свидетельствовать о негативном воздействии НЧ TiO_2 на структурные характеристики семенников, связанное с уменьшением количества клеток в эпителии. Естественно, что такие изменения не могут не сказаться на процессах сперматогенеза. На угнетение сперматогенеза косвенно указывает и уменьшение диаметра ИСК к 14-му дню эксперимента. К 30-му дню наблюдений отмечается тенденция увеличения указанного параметра, что по-видимому связано с вакуолизацией клеток Сертоли, дезорганизацией слоев и отрыва сперматогенных клеток от базальной мембраны.

Результаты проведенного сравнительного морфометрического анализа площади ядра клеток Лейдига на фоне введения НЧ TiO_2 показали, что по сравнению с контрольной группой, значение данного параметра уменьшается ($p < 0,05$).

Таблица 1

Морфометрические показатели семенников крыс в условиях воздействия НЧ TiO_2

	контроль	14 дней	30 дней
Толщина СЭ, мкм	106,71±2,18	86,19±1,44*	82,31±1,51*
Диаметр ИСК, мкм	262,5±5,57	239,04±2,69*	245,64±1,95*
Площадь ядра клеток Лейдига, мкм ²	29,94±0,73	25,14±0,71*	27,42±1,02*

Примечание: * – статистически значимые отличия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$)

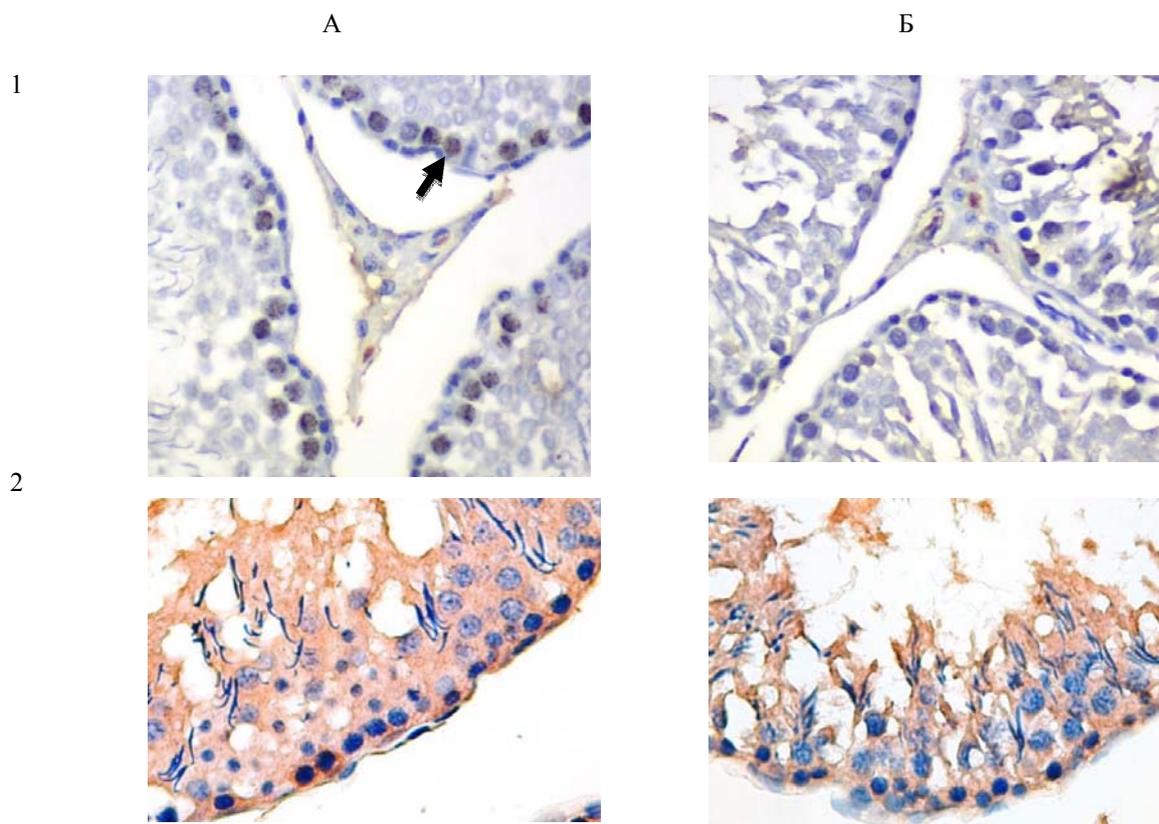


Рис. 1. Извитые семенные канальца семенников крыс контрольной (А) и опытной группы 2 (Б). 1 – иммуногистохимическое окрашивание антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток (*ki-67*). Продукт иммуногистохимической реакции обозначен ↑) Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции. Ув. 100. 2 – иммуногистохимическое окрашивание антителами к рецептору *c-kit*. Непрямая стрептавидин-биотиновая система детекции. Ув. 400

Полученные нами сведения о структурных характеристиках семенников опытных групп животных хорошо соотносятся с результатами, полученными при использовании иммуногистохимических маркеров. Иммуногистохимическое типирование позволило обнаружить, что максимальные изменения были выявлены нами на сроке 30 дней от начала эксперимента. При выявлении маркеров пролиферации *ki-67* нами было показано, что в условиях воздействия НЧ TiO_2 в течение 30 дней наблюдалось снижение уровня экспрессии этого маркера (рис. 2), что свидетельствует о нарушении процессов пролиферации клеток сперматогенного эпителия (рис. 1, 1). Аналогичная картина наблюдалась нами при анализе экспрессии маркера стволовых клеток *c-kit* (рис.2): к 30-му дню от начала экспериментального воздействия количество клеток, содержащих этот маркер, существенно снижается по сравнению с интактными животными (рис. 1, 2).

Результаты проведенного нами исследования демонстрируют возможное неблагоприятное воздействие НЧ TiO_2 на морфофункциональные свойства семенников крыс, что хорошо согласуется с имеющимися сведениями о высокой чувствительности органов мужской репродуктивной системы к действию различных дестабилизирующих факторов, в том числе и наноматериалов. Так, в исследованиях генотоксичности НЧ TiO_2 показано, что одним из неблагоприятных эффектов наночастиц является окислительный стресс, который приводит к нарушению хода клеточного цикла и, как следствие, к угнетению клеточной пролиферации [5, 11]. В других работах [6] продемонстрировано негативное влияние внутривенного введения НЧ *Ag* (1 мг/кг) самцам мышей в течение 12 дней на сперматогонию, заключающееся в подавлении их вступления в процесс дифференцировки и снижении пролиферативного потенциала. Показано, что именно сперматогенные стволовые клетки наиболее чувствительны к воздействию НЧ TiO_2 [4], что согласуется с результатами проведенных нами иммуногистохимических исследований. С использованием иммуногистохимических маркеров нами выявлено нарушение процессов пролиферации и дифференцировки клеток сперматогенного эпителия, о чем свидетельствует снижение экспрессии поверхностного рецептора *c-kit* – белка, который поддерживает трансформацию недифференцированных сперматогоний типа A_{al} в сперматогонии класса А, и маркера пролиферации *ki-67* в условиях экспериментального воздействия НЧ TiO_2 .

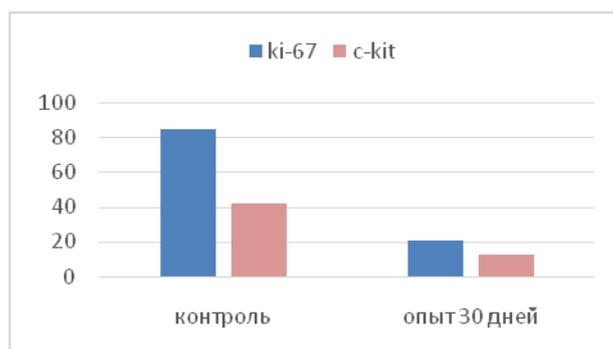


Рис. 2. Процент *ki-67*- и *c-kit*-иммунопозитивных клеток в ИСК семенников животных контрольной и опытной группы 2

Одним из адекватных методов исследования изменений репродуктивной способности мужского организма при различных физиологических и патологических состояниях является количественная оценка морфометрических параметров семенников [12]. В настоящем исследовании выявлены специфические структурные изменения, обусловленные неблагоприятным влиянием изучаемых НЧ на морфологические характеристики репродуктивной системы самцов крыс. К ним можно отнести: уменьшение толщины сперматогенного эпителия, диаметра ИСК, дезорганизация слоев и отрыв сперматогенных клеток от базальной мембраны. Подобные морфологические изменения со стороны сперматогенного эпителия описаны и рядом других исследователей. Так, пероральное введение НЧ TiO_2 мышам (10-300 мг/кг) в течение 35 дней вызывало значительные морфофункциональные изменения ИСК, заключающиеся в некротизации и слущивании сперматогенных клеток [9]. Исследование Ли и соавт. [10], посвященное изучению эффекта наночастиц выхлопных газов дизельных двигателей (*NRDE*) выявило дегенеративные и некротические изменения СЭ с уменьшением числа сперматогенных клеток в его составе, а также отек интерстициальной ткани яичка в семенниках экспериментальной группы животных. Внутривенное введение в организм мышей НЧ серебра вызывают уменьшение высоты СЭ, увеличение диаметра просвета ИСК и усиление процессов апоптоза сперматогенных клеток [6]. Подобный эффект был обнаружен и при пероральном введении наночастиц цинка в организм мышей (50-300 мг/кг) [13]. В этой же работе продемонстрировано наличие значительного числа вакуолей в клетках Сертоли мышей, что, по мнению авторов, является ранним морфологическим признаком повреждения семенников и рассматривается как основной ответ клеток Сертоли на многие ксенобиотики и связано с угнетением их функции. Подтверждением это-

го тезиса является исследование *in vitro*, в котором показано, что НЧ TiO_2 вызывают повышение генерации активных форм кислорода в клетках Сертоли, усиление перекисного окисления липидов, повреждение ДНК, активацию ряда каспаз с последующей гибелью этих клеток [8]. В другой работе интратрахеальное введение наночастиц углерода (14, 56 и 95 нм, 0,1 мг /кг) вызвало частичную вакуолизацию клеток Сертоли [15].

Согласно существующим представлениям, толщина эпителия коррелирует с количеством клеток в его составе. Применительно к СЭ уменьшение его толщины может быть обусловлено в том числе редукцией числа герминативных клеток в его составе. Этот факт указывает на низкую регенерационную способность СЭ как тканевой системы и в условиях воздействия НЧ TiO_2 сперматогенез, характеризующийся высокой пролиферативной активностью вовлеченных в него клеток, оказывается уязвимым.

Общепризнанно, что достаточные уровни ЛГ, ФСГ и тестостерона имеют решающее значение для сперматогенеза, однако, экологические токсиканты могут нарушить продукцию и регуляцию синтеза этих гормонов, что может привести к структурным изменениям семенников, нарушениям сперматогенеза и в конечном счете к мужскому бесплодию. Известно, что уровень тестостерона коррелирует с количественными и морфометрическими параметрами клеток Лейдига [7]. Поскольку размер ядер клеток косвенно свидетельствует об уровне их функциональной активности, а следовательно об уровне секреции тестостерона, нами был проведен сравнительный морфометрический анализ площади ядра клеток Лейдига на фоне введения НЧ TiO_2 . Результаты проведенного исследования показали, что по сравнению с контрольной группой, средняя площадь ядра клеток Лейдига уменьшается ($p < 0,05$). Полученные нами данные сопоставимы с результатами ряда работ, в которых показано, что НЧ TiO_2 вызывают угнетение процесса пролиферации клеток Лейдига и снижение уровня тестостерона в семенниках [9].

Выводы. Таким образом, результаты проведенных нами исследований показывают, что негативное действие наночастиц титана на морфологические параметры семенников крысы затрагивает ключевые для этой структуры характеристики, такие как, пролиферативная активность клеток и их способность к дифференцировке. В наших экспериментальных условиях обнаруживались и специфические структурные изменения, свидетельствующие о неблагоприятном влиянии изучаемых НЧ на репродуктивную систему самцов крыс. Суммарный эффект обнаруженных нами изменений в семенниках крыс – это нарушение процессов сперматогенеза. Однако полученные результаты проведенных нами исследований могут свидетельствовать не только о прямом воздействии НЧ TiO_2 , но и являться следствием их влияния на гуморальные системы организма, что требует проведения дальнейших исследований. Полученные нами данные необходимо учитывать при разработке мер безопасности в условиях производства и использования наноматериалов.

Литература

1. Боков Д.А., Шевлюк Н.Н. Характеристика сперматогенеза у мышей СВAxC57Bl₆ при комбинированном действии хрома и бензола // Проблемы репродукции. 2014. №2. С. 7–11.
2. Шевлюк Н.Н., Стадников А.А., Боков Д.А., Блинова Е.В. Гипоталамо-гипофизарно-гонадная система млекопитающих при воздействии на организм дестабилизирующих факторов различной интенсивности // Вестник Оренбургского государственного университета. 2007. № 78. С. 185–187.
3. Шарафутдинова Л.А., Хисматуллина З.Р., Даминов М.Р., Валиуллин В.В. Исследование эмбриотоксического действия наночастиц диоксида титана на крыс // Морфологические ведомости. 2017. Т. 25, № 3. С. 37–42.
4. Braydich-Stolle L.K., Lucas B., Schrand A., Murdock R.C., Lee T., Schlager J.J. Silver nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells // Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology. 2010. Vol. 116. P. 577–589.
5. Chen Z., Wang Y., Ba T., Li Y., Pu J., Chen T., Song Y., Gu Y., Qian Q., Yang J., Jia G. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles *in vivo* and *in vitro* // Toxicology Letters. 2014. Vol. 226, № 3. P. 314–319.
6. Garcia T.X., Costa G.M., França L.R., Hofmann M.C. Sub-acute intravenous administration of silver nanoparticles in male mice alters Leydig cell function and testosterone levels // Reproductive Toxicology. 2014. Vol. 45. P. 59–70.
7. Heller C.G., Leach D.R. Quantification of Leydig cells and measurement of Leydig-cell size following administration of human chorionic gonadotrophin to normal men // Journal of reproduction and fertility. 1971. Vol. 25. P. 185–192.
8. Hong F., Zhao X., Chen M., Zhou Y., Ze Y., Wang L., Wang Y., Ge Y., Zhang Q., Ye L. TiO_2 nanoparticles-induced apoptosis of primary cultured Sertoli cells of mice // J Biomed Mater Res Part A. 2016. Vol.104 A. P. 124–135.
9. Khorsandi L., Orazizadeh M., Mansouri E. Hemadi M., Moradi-Gharibvand N. Morphometric and stereological assessment of the effects of titanium dioxide nanoparticles on the mouse testicular tissue // Bratisl Lek Listy. 2016. Vol 117, № 11. P. 659–664.

10. Li C., Taneda S., Taya K., Watanabe G., Li X., Fujitani Y., Ito Y., Nakajima T., Suzuki A.K.. Effects of inhaled nanoparticle-rich diesel exhaust on regulation of testicular function in adult male rats // *Inhal Toxicol.* 2009. Vol. 21, №10. P. 803–811.
11. Morgan A.M., Ibrahim M.A., Noshay P.A. Reproductive toxicity provoked by titanium dioxide nanoparticles and the ameliorative role of Tiron in adult male rats // *Biochem Biophys Res Commun.* 2017. Vol. 486, № 2. P. 595–600.
12. Noorafshan A. Stereology as a valuable tool in the toolbox of testicular research // *Ann Anat.* 2014. Vol. 196, № 1. P. 57–66.
13. Talebi A.R., Khorsandi L., Moridian M. The effect of zinc oxide nanoparticles on mouse spermatogenesis // *J Assist Reprod Genet.* 2013. Vol. 30, №9. P. 1203–1209.
14. Xu Y., Wang N., Yu Y., Li Y., Li Y-B., Yu Y-B. Exposure to Silica Nanoparticles Causes Reversible Damage of the Spermatogenic Process in Mice // *PLoS One.* 2014. Vol. 9. №7.
15. Yoshida S., Hiyoshi K., Ichinose T., Takano H., Oshio S., Sugawara I. Effect of nanoparticles on the male reproductive system of mice // *Int J Androl.* 2009. Vol. 32, № 337. P. 4.

References

1. Bokov DA, SHEvlyuk NN. Charakteristika spermatogeneza u myshej SVAhS57B16 pri kombinirovannoe dejstvii hroma i benzola [Characteristics of spermatogenesis in mice Svahs57vi6 with combined action of chromium and benzene]. *Problemy reprodukcii.* 2014;2:7-11. Russian.
2. SHEvlyuk NN Stadnikov AA, Bokov DA, Blinova EV. Gipotalamo-gipofizarno-gonadnaya sistema mlekopitayushchih pri vozdejstvii na organizm destabiliziruyushchih faktorov razlichnoj intensivnosti [Hypothalamic-pituitary-gonadal system of mammals when exposed to the body of destabilizing factors of different intensity]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2007;78:185-7. Russian.
3. SHarafutdinova LA, Hismatullina ZR, Daminov MR, Valiullin VV. Issledovanie ehmbriotoksičeskogo dejstviya nanochastich dioksida titana na krysy [Investigation of embryotoxic action of nanoparticles of titanium dioxide in rats]. *Morfologičeskije vedomosti.* 2017;25(3):37-42. Russian.
4. Braydich-Stolle LK, Lucas B, Schrand A, Murdock RC, Lee T, Schlager JJ. Silver nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology.* 2010;116:577-89.
5. Chen Z, Wang Y, Ba T, Li Y, Pu J, Chen T, Song Y, Gu Y, Qian Q, Yang J, Jia G. Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicology Letters.* 2014;226(3):314-9.
6. Garcia TX, Costa GM, França LR, Hofmann MC. Sub-acute intravenous administration of silver nanoparticles in male mice alters Leydig cell function and testosterone levels. *Reproductive Toxicology.* 2014;45:59–70.
7. Heller CG, Leach DR. Quantification of Leydig cells and measurement of Leydig-cell size following administration of human chorionic gonadotrophin to normal men. *Journal of reproduction and fertility.* 1971;25:185-2.
8. Hong F, Zhao X, Chen M, Zhou Y, Ze Y, Wang L, Wang Y, Ge Y, Zhang Q, Ye L. TiO₂ nanoparticles-induced apoptosis of primary cultured Sertoli cells of mice. *J Biomed Mater Res Part A.* 2016;104:124-35.
9. Khorsandi L, Orazizadeh M, Mansouri E, Hemadi M, Moradi-Gharibvand N. Morphometric and stereological assessment of the effects of titanium dioxide nanoparticles on the mouse testicular tissue. *Bratisl Lek Listy.* 2016;117(11):659-64.
10. Li C, Taneda S, Taya K, Watanabe G, Li X, Fujitani Y, Ito Y, Nakajima T, Suzuki AK. Effects of inhaled nanoparticle-rich diesel exhaust on regulation of testicular function in adult male rats. *Inhal Toxicol.* 2009;21(10):803-11.
11. Morgan AM, Ibrahim MA, Noshay PA. Reproductive toxicity provoked by titanium dioxide nanoparticles and the ameliorative role of Tiron in adult male rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;486(2):595-600.
12. Noorafshan A. Stereology as a valuable tool in the toolbox of testicular research. *Ann Anat.* 2014; 196(1):57-66.
13. Talebi AR, Khorsandi L, Moridian M. The effect of zinc oxide nanoparticles on mouse spermatogenesis. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30(9):1203-9.
14. Xu Y, Wang N, Yu Y, Li Y, Li Y-B, Yu Y-B. Exposure to Silica Nanoparticles Causes Reversible Damage of the Spermatogenic Process in Mice. *PLoS One.* 2014;9(7).
15. Yoshida S, Hiyoshi K, Ichinose T, Takano H, Oshio S, Sugawara I. Effect of nanoparticles on the male reproductive system of mice. *Int J Androl.* 2009;32(337):4.

Библиографическая ссылка:

Шарафутдинова Л.А., Синельников К.Н., Валиуллин В.В. Морфофункциональная характеристика семенников крыс на фоне воздействия наночастиц диоксида титана // *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.* 2018. №6. Публикация 3-15. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-6/3-15.pdf> (дата обращения: 14.12.2018). *

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-6/e2018-6.pdf>