

УДК 611.631:612.616

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2\(36\)-1319-1327](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2(36)-1319-1327)

Ярошенко Денис Сергійович аспірант кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, <https://orcid.org/0000-0001-8359-2766>

АНАЛІЗ МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН В СІМ'ЯНИКАХ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ БІСФЕНОЛУ А

Анотація. Вплив бісфенолу А (ВРА) на сім'яники може викликати комплекс патологічних змін органів статеві системи; не виключено, що бісфенол А запускає каскад патологічних змін в сім'яниках, які негативно впливають на репродуктивну здатність чоловіків. Метою дослідження було визначення морфологічних змін в сім'яниках за умов тривалого впливу бісфенолу А.

В дослідженні використано 120 щурів самців, які рандомізовано поділили на 4 групи. Тварини контрольної групи отримували звичайне харчування, а експериментальним додатково перорально вводили бісфенол А дозами 50 і 250 мг/кг/добу протягом 120 діб. В експерименті застосовували стандартні морфологічні методи для виготовлення гістологічних препаратів і їх дослідження. При проведенні морфометричного аналізу після 120 доби дослідження впливу бісфенолу А (ВРА) на сім'яники, відзначалося формування більш пухкої організації колагенових волокон білкової оболонки сім'яників, суттєво зросла її товщина. Форма більшості звивистих сім'яних каналців округлилась і їх розташування стало не щільним. У сім'яниках щурів групи F0-3 і більшою мірою у тварин групи F0-4, що отримували ВРА, спостерігалися суттєві деструктивні морфологічні зміни, порівняно з сім'яниками тварин груп F0-1 і F0-2. ВРА призводив до зменшення діаметру звитих сім'яних каналців та висоти сперматогенного епітелію щурів експериментальних груп F0-3 і F0-4 у порівнянні з контрольною і інтактною групами F0-1, і F0-2, які не зазнали впливу ВРА. Крім цього, в сім'яниках щурів в групах F0-3 і F0-4 збільшився середній діаметр просвіту звивистих сім'яних каналців відповідно до 98,80 і 111,79 мкм, порівняно з аналогічними показниками контрольної групи F0-1 – 89,43 мкм, і групи F0-2 – 86,85 мкм ($p < 0,05$). Отже, при введенні щурам 50 мг/кг/доба і 250 мг/кг/доба ВРА протягом 120 діб відбувались патологічні зміни гістологічної архітекtonіки сім'яників. Висновки. Тривалий вплив ВРА на щурів самців призводив до формування десквамації сперматогенного епітелію, та інших патогістологічних змін в сім'яниках, що може призвести до зменшення фертильності.

Ключові слова: бісфенол А, сім'яники, сперматогенний епітелій, безпліддя, морфометрія.

Yaroshenko Denys Serhiiovych postgraduate student of the Department of Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology, Dnipro State Medical University, 9 Vernadsky St., Dnipro, 49044, <https://orcid.org/0000-0001-8359-2766>

ANALYSIS OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN TESTICLES UNDER LONG-TERM EXPOSURE TO BISPHENOL A

Abstract. The effect of bisphenol A (BPA) on the testicles can cause a complex of pathological changes in the organs of the male reproductive system; it is possible that bisphenol A triggers a cascade of pathological changes in the testicles, which negatively effects on the reproductive ability of men. The aim of the study was to determine morphological changes in the testes under long-term exposure to bisphenol A.

The study used 120 male rats, which were randomly divided into 4 groups. Animals in the control group received regular nutrition, and experimental animals were additionally given oral bisphenol A at doses of 50 and 250 mg/kg/day for 120 days. In the experiment used, standard morphological methods to make were used for the manufacture of histological preparations and their study. When conducting morphometric analysis after 120 days of studying the effect of bisphenol A (BPA) on the testes, the formation of a looser organization of collagen fibers of the protein envelope of the testes was noted, and its thickness significantly increased. The shape of most of the convoluted seminal tubules has rounded and their location is no longer dense. In the testes of rats of group F0-3 and to a greater extent in animals of group F0-4 treated with BPA, significant destructive morphological changes were observed, compared with the testes of animals of groups F0-1 and F0-2. BPA led to a decrease in the diameter of convoluted seminal tubes and the height of spermatogenic epithelium in animals of experimental groups F0-3 and F0-4 compared to the control group F0-1, and with the group F0-2, which were not affected by BPA. In addition, in the testes of rats in groups F0-3 and F0-4, the average Lumen diameter of the convoluted seminal tubes increased to 98.80 and 111.79 μm , respectively, compared with similar indicators of the control group F0-1 – 89.43 μm , and group F0-2 – 86.85 μm ($P < 0.05$). Consequently, when rats were administered 50 mg/kg/day and 250 mg/kg/day of BPA for 120 days, pathological changes in the histological architectonics of the testes occurred. Conclusions. Prolonged exposure to BPA in male rats led to the formation of spermatogenic epithelial desquamation and other pathohistological changes in the testicles that can lead to a decrease in fertility.

Keywords: bisphenol A, testicles, spermatogenic epithelium, infertility, morphometry.

Постановка проблеми. Безпліддя є глобальною проблемою здоров'я людей, яка охоплює близько 15 % пар. Приблизно половина випадків безпліддя пов'язана з чоловічим фактором [1]. Забруднення ґрунту, повітря та води хімічними сполуками, дія рецесивних мутацій все частіше відображається на репродуктивному здоров'ї людей та створює умови для розвитку різних форм безпліддя. Вплив ендокринно-активних поллютантів може викликати комплекс патологічних змін органів статеві системи чоловіків [2]. В світовій промисловості найбільшого поширення, з групи ендокринних дизрапторів, набув бісфенол А (ВРА) [3], який став найважливішою антропогенною сполукою з річним виробництвом понад 3,8 мільйона тонн. ВРА використовується при синтезі полікарбонатів, епоксидних смол він, зазвичай, присутній в різних виробках повсякденного використання, включаючи упаковки харчових продуктів, електронне обладнання, папір, іграшки тощо [4, 5]. Дослідження впливу ВРА на чоловіків показали, що репродуктивна система є однією з основних мішеней ендокринно-активного поллютанта.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У молодих щурів-самців, які піддавалися дії ВРА в період пренатального та постнатального розвитку, порушувався розвиток сім'яників та виникав гіпогонадізм і безпліддя у зрілому віці [6]. Дослідженнями доведено, що ВРА викликає порушення балансу між вільними радикалами і антиоксидантами в організмі (окислювальний стрес), який запускає каскад перекисного окислення ліпідів і завершується утворенням електрофільних ліпідних альдегідів, які зв'язуються з ДНК та рядом білків, що негативно впливає на чоловічі сперматозоїди та викликає порушення репродуктивної здатності чоловіків [7, 8, 9]. Разом з тим, залишається наукова невизначеність щодо фактичних причин таких наслідків для окремої людини і популяції людей в цілому.

Мета статті - визначення морфологічних змін в сім'яниках за умов тривалого впливу бісфенолу А.

Дослідження впливу ВРА на морфофункціональний стан структурних елементів сім'яників, в умовах зниження чоловічої фертильності, що негативно впливає на процеси сперматогенезу. Слід зазначити, що особливості змін стану структурних елементів сім'яників під дією ВРА залишаються недостатньо дослідженими. Таким чином, з теоретичної та практичної точки зору, важливим є проведення досліджень усіх структурних елементів сім'яників та їх стану в різні періоди сперматогенезу [10].

Виклад основного матеріалу. Тварини утримувались у стандартних умовах віварію, які відповідають вимогам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 року). Усі дослідні процедури проведено відповідно до міжнародних вимог і норм гуманного відношення до тварин. Директиви № 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою

метою (2010 р.), Закону України 3447-ІУ від 21.02.2006 р., та висновку комісії з питань біомедичної етики Дніпровського державного медичного університету (протокол № 8 від 17.12. 2019 р.).

В дослідженні використано 120 статевозрілих білих щурів-самців лінії Wistar. Відібрані щури були рандомізовано розділені на чотири групи: F0-1 – контрольна група (n=30) – тварини, які знаходились на звичайному харчуванні і додатково отримували кукурудзяну олію; F0-2 – інтактна група (порівняння) (n=30) тварини, які знаходились на звичайному харчуванні; F0-3 – експериментальна група (n=30) – піддослідні тварини, яким крім звичайного харчування протягом 120 діб перорально вводили бісфенол А (Sigma-Aldrich, USA), розчинений в кукурудзяній олії, дозою – 50 мг/кг/добу; F0-4 – експериментальна група (n=30) – тварини, яким протягом 120 діб, крім звичайного харчування, вводили бісфенол А, розчинений в кукурудзяній олії дозою – 250 мг/кг/добу.

В дослідженні застосовували стандартний морфологічний метод для виготовлення гістологічних препаратів, біоматеріал заливали у парафін за допомогою станцій Thermo Scientific HistoStar (США). Отримані парафінові блоки нарізали на напівавтоматичному мікротомі Microm HM 340 (Німеччина). Гістологічні препарати сім'яників, забарвлені гематоксином і еозіном [11, 12], досліджували за допомогою світлового мікроскопа Leica DM 5000 В (Німеччина) [13, 14]. Під час проведення морфометричних спостережень досліджували сім'яні тяжі та звивисті сім'яні каналці, вимірювали їх діаметри, висоту сперматогенного епітелію та діаметри просвіту сім'яних каналців [12, 15]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакету програм STATISTICA (Statsoft, США), для оформлення результатів дослідження застосовували програмне забезпечення Microsoft Office (Microsoft, США). Перевірку розподілу даних на нормальність проводили за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Для оцінки відмінностей між експериментальними групами використовувався критерій Краскела-Уолліса. Критичний рівень значимості нульової статистичної гіпотези приймали $< 0,05$ [16].

Результати дослідження та їх обговорення. Світлова мікроскопія гістологічних зразків сім'яників щурів контрольної групи F0-1 і групи порівняння F0-2 показала правильний порядок розташування статевих клітин, які утворювали шари відповідно стадіям сперматогенного циклу, морфометричні параметри сперматогенезу у щурів груп F0-1 і F0-2, протягом експерименту, відповідали фізіологічній нормі.

При дослідженні сім'яників щурів, що зазнали впливу ВРА протягом перших 60 діб експерименту, не було виявлено патологічних змін гістологічної архітекtonіки сім'яників експериментальних груп F0-3 і F0-4. Однак, вже після 80 доби експерименту в сім'яниках щурів групи F0-4, спостерігались патоморфологічні зміни звитих сім'яних каналців. В цитоплазмі епітеліоцитів з'явилися пустоти, крім того, спостерігалось зменшення числа зрілих сперматид, в результаті чого епітеліосперматогенний

шар частини звитих сім'яних каналців був представлений трьома генераціями статевих клітин: сперматогонії, сперматоцити першого і другого порядків. Визначення середнього діаметру звивистих сім'яних каналців показало, що у щурів групи F0-4, які отримували 250 мг/кг/доба ВРА, даний показник статистично значуще зменшився ($p < 0,05$) порівняно з контролем F0-1 і групою порівняння F0-2, поряд з цим в групі F0-3, за дози 50 мг/кг/доба ВРА, середній показник діаметру звивистих сім'яних каналців сім'яників щурів на 80 добу експерименту продемонстрував лише тенденцію до зменшення.

В морфометричних дослідженнях по визначенню діаметрів звивистих сім'яних каналців сім'яників щурів на 120 добу експерименту отримано наступні показники: контрольна група F0-1 – $248,41 \pm 0,24$ мкм; група порівняння F0-2 – $246,28 \pm 0,58$ мкм, а також експериментальні групи F0-3 і F0-4 відповідно $214,31 \pm 0,22$ і $193,08 \pm 0,39$ мкм. Крім цього, проведення морфометричного аналізу в кінці експерименту на 120 добу виявило більш пухку організацію колагенових волокон білкової оболонки сім'яників та суттєве зростання її товщини. Форма більшості звивистих сім'яних каналців округлилась і їх розташування стало не щільним. У сім'яниках щурів групи F0-3 і, більшою мірою, у тварин групи F0-4, що отримували ВРА, спостерігалися суттєві деструктивні морфологічні зміни, порівняно з сім'яниками тварин груп F0-1 і F0-2. У тварин експериментальних груп F0-3 і F0-4 відзначалось зменшення діаметру звитих сім'яних каналців та висоти сперматогенного епітелію, як у порівнянні з контрольною групою F0-1, так і з групою F0-2, які не зазнали впливу ВРА. Крім цього, в сім'яниках щурів груп F0-3 і F0-4 збільшився середній діаметр просвіту звивистих сім'яних каналців, а висота сперматогенного епітелію зменшилась (рис. 1).

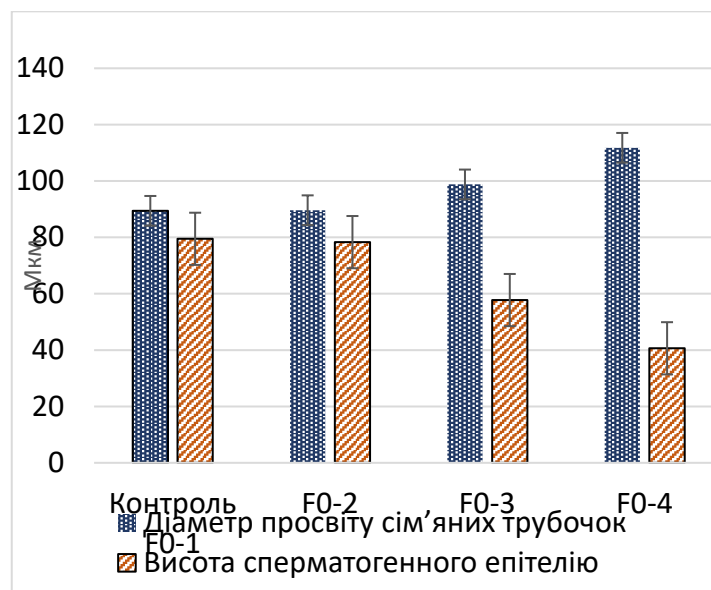


Рис. 1. Діаметр просвіту звивистих сім'яних каналців і висота сперматогенного епітелію сім'яників, 120 доба після початку введення ВРА, мкм

Вірогідні відмінності між морфометричними показниками звивистих сім'яних каналців експериментальних груп F0-3 і F0-4 і контролем ($p < 0,05$).

В кінці експерименту у щурів групи F0-3, які отримували по 50 мг/кг/доба ВРА і, більшою мірою, у тварин групи F0-4 (250 мг/кг/доба ВРА) внаслідок некротичних і деструктивних процесів спостерігалось злушення епітеліальної тканини. Слід відзначити, що максимальні прояви деструкції відзначались в сім'яниках тварин групи F0-4, де суттєво зменшилась товщина сперматогенного епітелію, шари епітеліальної тканини відшаровувались один від одного, всередині утворювалась порожнина, а частина звивистих сім'яних каналців не формувала сперматозоїдів. Натомість, у щурів груп F0-1 і F0-2, які не отримували ВРА фіксувалася нормальна гістоархітектоніка сім'яників.

Отже, при введенні щурам 50 мг/кг/доба і 250 мг/кг/доба ВРА протягом 120 діб відбувались патологічні зміни гістологічної архітектоніки сім'яників. В аналітичному дослідженні Czarnywojtek A. надаються додаткові докази несприятливого впливу бісфенолу А на розвиток репродуктивної системи ссавців. При дослідженні щурів найбільший патологічний вплив бісфенолу А був спрямований на порушення процесів сперматогенезу та деструкцію епітелію сім'яників щурів. Поряд з цим вказується, що вплив бісфенолу А на людину ще не вивчений і активно досліджується [17].

Дослідження Wang Y. показало, що тривалий вплив бісфенолу А при добовій дозі 0,05 мг/кг потенційно небезпечний, оскільки тривалий вплив бісфенолу А пригнічує мейоз в сім'яниках і, в кінцевому результаті, погіршує репродуктивну функцію самців [18]. В експериментах Ryu D. збільшення дози ВРА до 50 мг/кг/доба викликало зростання показників гістопатологічних уражень сім'яників гризунів, разом з тим погіршення загального стану не відзначалось [19].

Таким чином встановлено, що ВРА призводить до зміни структурних елементів сім'яників, а патологічний процес має тривалий, дозозалежний характер. В звивистих сім'яних каналцях експериментальних груп F0-3 і, більшою мірою, в групі F0-4 в наслідок некротичних і деструктивних процесів на 120 добу експерименту спостерігалось злушення епітеліальної тканини, всередині епітеліальної тканини утворювалась порожнина, частина звивистих сім'яних каналців не формувала сперматозоїдів.

Висновки. Отримані данні вказують на те, що репродуктивна система є однією з основних мішеней токсичного впливу бісфенолу А. Здобуті в ході експерименту дані показали етіологічне значення тривалого впливу ВРА на щурів самців у формуванні десквамації сперматогенного епітелію та інших патогістологічних змін в сім'яниках, що може призвести до зменшення фертильності.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на визначення морфологічних змін в сім'яниках потомства за умов тривалого впливу бісфенолу А.

Література:

1. Ломейко О.О. Механізми виникнення порушень морфофункціонального стану сперматозоїдів та їх корекція у чоловіків репродуктивного віку в умовах великого промислового міста: дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук Запоріжжя. 2020. С. 1–26.
2. Беденюк А.Д., Твердохліб В.В., Мисак А.І., Нестерук С.О. Шляхи поліпшення показників сперматогенезу в комплексному лікуванні чоловічого безпліддя. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2019. № 2. С. 83–87. Doi:10.11603/1811-2471.2019.v0.i2.1037.
3. Adoamnei, E., Mendiola I., Vela-Soria, F. Urinary bisphenol A concentrations are associated with reproductive parameters in young men. *Environ Res.* 2018; 161: 122–128. Doi: 10.1016/j.envres.2017.11.002.
4. Hoekstra, E., Simoneau C. Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013; Vol. 53(4): 386–402. Doi: 10.1080/10408398.2010.536919.
5. Abraham, A., Chakraborty, P. A review on sources and health impacts of bisphenol A. *Rev Environ Health.* 2020; (2):201–210. Doi: 10.1515/reveh-2019-0034.
6. Matuszczak, E., Komarowska, MD., Debek, W., Hermanowicz, A. The impact of bisphenol a on fertility, reproductive system, and development: a review of the literature. *Int J Endocrinol.* 2019; 10:4068717. Doi: 10.1155/2019/4068717.
7. Liu, X.; Wang, Z.; Liu, F. Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere.* 2021; 262:12–78. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127880.
8. Mostari, MH., Rahaman, MM., Akhter, MA., Ali, MH. Transgenerational effects of bisphenol A on zebrafish reproductive tissues and sperm motility. *Reprod. Toxicol.* 2022; 109:31–38. Doi: 10.1016/j.reprotox.2022.02.005.
9. Aitken, RJ. Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction.* 2020;159(4):189–201. Doi: 10.1530/REP-19-0452.
10. Небесна З. М., Готюр О. І. Структурно–функціональні особливості кровоносних судин і гемодинаміки яєчка у чоловіків різного віку. *Світ медицини та біології.* 2017. № 1. С. 133–136.
11. Багрій М. М., Діброва В. А. Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова книга, 2016. Т. 10. № 1. С. 123–125.
12. Dey, P. Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology 1st ed.. Singapore: Springer. 2018:300.
13. Romeis, B. Mikroskopische Technik (17. neubearbeitete und erweiterte Auflage, herausgegeben von P. BÖCK). 1989. 697 S. München.. Urban und Schwarzenberg.
14. Schindelin, J., Rueden, C. T., Hiner, M. C., Eliceiri, K. W. The ImageJ ecosystem: an open platform for biomedical image analysis. *Mol. Reprod. Dev.* 2015; Vol. 2015: 1–12.
15. Грицуляк Б.В., Грицуляк В.Б., Івасюк І.Й. Характер цитологічних змін в травмованому яєчку. *Світ медицини та біології.* 2014. № 4(47). С. 107–110.
16. George, D., Mallery, P. IBM SPSS Statistics 27 Step by Step: A Simple Guide and Reference 17th Edition. Taylor & Francis Ltd.. 2022:404.
17. Czarnywojtek, A., Borowska, M., Dyrka, K., Moskal, J. The influence of various endocrine disruptors on the reproductive system. *Endokrynol Pol.* 2023; Vol. 74(3): 221–233. Doi: 10.5603/EP.a2023.0034.
18. Wang, Y., Wu, Y., Zhang, S. Impact of bisphenol-A on the spliceosome and meiosis of sperm in the testis of adolescent mice. *BMC Vet Res.* 2022; 18(1):278. Doi: 10.1186/s12917-022-03336-y.
19. Ryu, D., Pang, W., Adegoke, E., Rahman, S., Park, Y. Pang, M. Bisphenol-A disturbs hormonal levels and testis mitochondrial activity, reducing male fertility. *Human Reproduction Open.* 2023; Nov 15: hoad044. Doi: 10.1093/hropen/hoad044.

References:

1. Lomeyko, O.O. (2020). *Mekhanizmy vynyknennia porushen morfofunktsionalnoho stanu spermatozoidiv ta yikh korektsiia u cholovikiv reproduktyvnoho viku v umovakh velykoho promyslovoho mista [Mechanisms of occurrence of disorders of the Morpho-functional state of spermatozoa and their correction in men of reproductive age in the conditions of a large industrial city Zaporozhye: dissertation of the candidate of Medical Sciences]*. Zaporozhye, 1–26. [in Ukrainian].
2. Badenyuk, A.D., Tverdokhlib, V.V., Mysak, A.I., Nesteruk, S.O. (2019). *Shliakhy polipshennia pokaznykiv spermatohenezu v kompleksnomu likuvanni cholovichoho bezpliddia [Ways to improve indicators of spermatogenesis in complex treatment of male infertility]*, *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny*, 2, 83–87. Doi:10.11603/1811-2471.2019.v0.i2.1037. [in Ukrainian].
3. Adoamnei, E., Mendiola I., Vela-Soria, F. (2018). Urinary bisphenol A concentrations are associated with reproductive parameters in young men. *Environ Res.*, 161, 122–128. Doi: 10.1016/j.envres.2017.11.002.
4. Hoekstra, E., Simoneau C. (2013). Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, Vol. 53(4), 386–402. Doi: 10.1080/10408398.2010.536919.
5. Abraham, A., Chakraborty, P.A. (2020). review on sources and health impacts of bisphenol A. *Rev Environ Health*, (2), 201–210. Doi: 10.1515/reveh-2019-0034.
6. Matuszczak, E., Komarowska, MD., Debek, W., Hermanowicz, A. (2019). The impact of bisphenol a on fertility, reproductive system, and development: a review of the literature. *Int J Endocrinol*, 10, 4068717. Doi: 10.1155/2019/4068717.
7. Liu, X., Wang, Z., Liu, F. (2021). Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere*, 262, 12–78. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127880.
8. Mostari, M.H., Rahaman, M.M., Akhter, M.A., Ali, M.H. (2022). Transgenerational effects of bisphenol A on zebrafish reproductive tissues and sperm motility. *Reprod. Toxicol*, 109, 31–38. Doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.02.005.
9. Aitken, R.J. (2020). Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction*, 159(4), 189–201. Doi: 10.1530/REP-19-0452.
10. Nebesna, Z.M., Gotyur, O.I. (2017). *Strukturno-funktsionktsionalni osoblyvosti krovonosnykh sudyn i hemodynamiky yaiechka u cholovikiv riznoho viku [Structural and functional features of blood vessels and testicular hemodynamics in men of different ages]*. *Svit medytsyny ta biolohii*, 1, 133–136. [in Ukrainian].
11. Bagri, M.M., Dubrava, V.A. (2016). *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen: monohrafiia [Methods of morphological research: monograph]*, Nova Knyha, 328. [in Ukrainian].
12. Dey, P. (2018). *Basic and advanced laboratory techniques in histopathology and cytology 1st ed.*. Singapore: Springer, 300.
13. Romeis, B. *Mikroskopische Technik* (1989). (17. neubearbeitete und erweiterte Auflage, herausgegeben von P. BÖCK), 697. München.. Urban und Schwarzenberg.
14. Schindelin, J., Rueden, C.T., Hiner, M.C., Eliceiri, K.W. (2015). The ImageJ ecosystem: an open platform for biomedical image analysis. *Mol. Reprod. Dev*, Vol. 2015, 1–12.
15. Hrytsulyak, B.V., Hrytsulyak, V.B., Ivasyuk, I.Y. (2014). *Kharakter tsytolohichnykh zmin v travmovanomu yaiechku: dysertatsiia na zdobuttia naukovooho stupenia kandydata medychnykh nauk [The nature of cytological changes in the injured testicle]*. *Svit medytsyny ta biolohii*, № 4(47), 107–110. [in Ukrainian].
16. George, D., Mallery, P. (2022). *IBM SPSS Statistics 27 Step by Step: A Simple Guide and Reference 17th Edition*. Taylor & Francis Ltd, 404.

17. Czarnywojtek, A., Borowska, M., Dyrka, K., Moskal, J. (2023). The influence of various endocrine disruptors on the reproductive system. *Endokrynol Pol*, Vol. 74(3), 221–233. Doi: 10.5603/EP.a2023.0034.

18. Wang, Y., Wu, Y., Zhang, S. (2022). Impact of bisphenol-A on the spliceosome and meiosis of sperm in the testis of adolescent mice. *BMC Vet Res*, 18(1), 278. Doi: 10.1186/s12917-022-03336-y.

19. Ryu, D., Pang, W., Adegoke, E., Rahman, S., Park, Y. Pang, M. (2023) Bisphenol-A disturbs hormonal levels and testis mitochondrial activity, reducing male fertility. *Human Reproduction Open*, Nov 15, hoad044. Doi: 10.1093/hropen/hoad044.