

УДК: 616.018.61

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СЕМЕННИКОВ
ПОД ВЛИЯНИЕМ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

О.В. ЗЛОБИНА, И.О. БУГАЕВА, С.С. ПАХОМИЙ, А.Н. ИВАНОВ, Ю.А. СЛЮСАРЕНКО,
Е.Д. УСОЛЬЦЕВА

*ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава Российской Федерации,
ул. Большая казачья, 112, Саратов, 410012, Россия, e-mail: spakhomy03@gmail.com; zlobinaow@mail.ru*

Аннотация. В ходе данного исследования с помощью морфологического и морфометрического анализа гистологических препаратов половых желез белых нелинейных крыс-самцов изучено влияние светового десинхроноза с использованием модели *LightLight* с мощностью освещения 350-500 лк в течение 1, 10, и 21 суток. Морфологическими критериями интенсивности процесса сперматогенеза являются количество сперматогоний, сперматид и толщина эпителиосперматогенного слоя. По результатам проведенного эксперимента установлено, что длительность светового стрессорного воздействия влияет на интенсивность процесса сперматогенеза в семенниках опытных животных. На 1-е сутки установлено достоверное уменьшение количества сперматид, являющимися наиболее чувствительными клетками. К 10-м суткам происходит достоверное снижение диаметра, площади извитого семенного канальца, также количества сперматогоний и сперматид в просвете. На 21 сутки эксперимента все исследуемые показатели были достоверно ниже, в сравнении с группой контроля, также было отмечено снижение количества клеток Лейдига (интерстициальные клетки), обеспечивающие эндокринную функцию репродуктивного аппарата. Выявленные изменения структур семенников белых крыс-самцов свидетельствуют о стрессорном влиянии светового десинхроноза и обосновывают целесообразность отнесения его к факторам риска развития патологии мужской половой системы, как у животных, так и у человека.

Ключевые слова: световой десинхроноз, нарушение сперматогенеза, морфометрия, стресс.

**MORPHOLOGICAL EVALUATION OF FUNCTIONAL CHANGES OF TESTICLES UNDER
THE LIGHT-INDUCED DESYNCHRONOSIS IN EXPERIMENT**

O.V. ZLOBINA, I.O. BUGAEVA, S. S. PACHOMIY, A.N. IVANOV, Y.A. SLYUSARENKO,
E.D. USOLTSEVA

*Saratov State Razumovsky Medical University,
Bolshaya Kazachya St., 112, Saratov, 410012, Russia, e-mail: spakhomy03@gmail.com; zlobinaow@mail.ru*

Abstract. The morphological and morphometric analysis of histological preparations of testes of white male rats were used to study the structural and functional changes under the influence of the light-induced desynchronosis using the *Light* model with an illumination power of 500 lx for 1, 10 and 21 day. As a result of the influence of light-induced desynchronosis, the spermatogenesis is characterized by a tendency to decrease activity that depends on the duration of exposure. Morphological criteria for the intensity of the process of spermatogenesis are number of spermatogonia, spermatids and thickness of the epitheliospermatogenous layer. On the 1st day, the reduction in the number of spermatids, which are the most sensitive cells, was reliably established. By the 10th day there is a significant decrease in the diameter, area of the convoluted tubule, and also the number of spermatogonia and spermatids in the lumen. On the 21st day of the experiment, all the investigated parameters were significantly lower, in comparison with the control group, a decrease in the number of Leydig cells (interstitial cells) providing the endocrine function of the reproductive apparatus was also noted. The revealed changes in testicles indicate a stressor effect of light desynchronosis justify the appropriateness of attributing it to the risk factors for the development of the pathology of the reproductive system.

Key words: light-induced desynchronosis, disruption of spermatogenesis, morphometry, stress

Введение. Репродуктивная система млекопитающих и человека формировалась в процессе эволюции в тесном взаимодействии с факторами внешней среды. Одним из наиболее значимых факторов, оказывающих влияние на организм животных и человека, является световое воздействие. Патологическое рассогласование циркадианных ритмов в результате нарушения естественного фотопериода приводит к развитию светового десинхроноза, который в свете концепции общего адаптационного синдрома рассматривается как мощный стрессогенный фактор, оказывающий своё влияние на весь организм в целом [1, 2], в том числе на репродуктивную систему организма человека и животных [6]. Анализ научной ли-

температуры, посвященной проблеме влияния светового воздействия на морфофункциональное состояние желез репродуктивной системы, мало изучен, что и определило направление данного исследования.

Цель исследования – оценить морфофункциональные изменения в семенниках лабораторных животных, развивающиеся на фоне светового десинхроноза в эксперименте.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование проводили на 48 белых беспородных крысах-самцах массой тела 200-250 г, которые были случайным образом, разделены на 4 равные группы: контрольную, находящуюся в условиях естественного освещения, и 3 опытных по 12 особей в каждой группе, в которых животные находились в условиях постоянного освещения в течение 1, 10 и 21 суток. Исследование выполнено в соответствии с Женевской конвенцией и Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным, а также после разрешения этической комиссии.

Световой десинхроноз моделировали путем воздействия комбинации естественного в дневное и искусственного освещения в ночное время, мощностью 350-500 лак, в течение указанного времени. Из эксперимента крысы были выведены путем передозировки препаратов для наркоза (внутримышечная комбинация Телазола (*ZoetisInc*, США) и Ксиланита (Нита-Фарм, Россия) [5].

Для морфологического исследования забирали половые железы, фиксировали в растворе 10% формалина, гистологические препараты готовили по стандартной методике. Серийные срезы семенников, толщиной 5-7 мкм, окрашивали гематоксилин-эозином. Для морфометрического измерения выбирались срезы извитых семенных канальцев с четким поперечным сечением. Морфологический и морфометрический анализ гистологических препаратов проводили с помощью микровизора проходящего света *mVizo-103*. Проводилась оценка качественных и количественных показателей по следующим параметрам: площадь и диаметр извитого семенного канальца, толщина сперматогенного эпителия, количество сперматогониев, сперматид, клеток Сертоли (суспендоцитов) и клеток Лейдига (интерстициальные клетки). Для обработки данных был использован пакет прикладных статистических программ «*STATISTICA 10*». Достоверность полученных значений оценивали при помощи *U*-критерия Манна – Уитни. Значимыми считали изменения при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В ходе морфологического и морфометрического анализа гистологических срезов семенников установлено, что у животных опытной группы на 1-е сутки происходит статистически значимое уменьшение толщины эпителиосперматогенного слоя, сопровождающееся изменением клеточного состава базальной части, которое проявляется значимым снижением количества сперматид (7,9%), в сравнении с группой контроля (табл. 1).

Таблица 1

Результаты морфометрического исследования

Исследуемый параметр	Контроль (n=12)	1 сутки (n=12)	10 суток (n=12)	21 сутки (n=12)
Диаметр поперечного сечения извитого семенного канальца, мкм	0,329 [0,309;0,35]	0,324 [0,298;0,35]	0,352 [0,22;0,4] P=0,00	0,315 [0,29;0,408] P=0,00
Площадь поперечного сечения извитого семенного канальца, мкм	0,071 [0,063;0,082]	0,069 [0,058;0,081]	0,081 [0,039;0,111] P=0,00	0,07 [0,056;0,117] P=0,00
Количество сперматогоний	87 [80;96]	93 [83;100]	91 [64;125]	77 [61; 120] P=0,00
Количество сперматид	76 [68;83]	74 [72;89] P=0,00	72 [68;88]	59,5 [40; 89] P=0,00
Количество клеток Сертоли (суспендоциты)	28 [24;32]	26 [23;29] P=0,02	26 [17;36] P=0,04	25 [13;37] P=0,00
Толщина сперматогенного эпителия, мкм	0,057 [0,049;0,061]	0,052 [0,033;0,049] P=0,00	0,05 [0,035;0,085] P=0,00	0,049 [0,043;0,054] P=0,00
Количество клеток Лейдига (интерстициальные клетки)	29 [25; 33]	28 [24; 32]	26 [22; 30] P=0,02	24 [21; 28] P=0,00

Примечание: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; *p* – значимость различий по сравнению с контрольной группой

На 10-е сутки эксперимента визуально отмечается отек интерстициальной ткани, при морфометрическом анализе наблюдается достоверное увеличение площади (4,3%) и диаметра (1,5%) поперечного сечения *извитых семенных канальцев* (ИСК), что сопровождается снижением таких показателей как толщина эпителиосперматогенного слоя (12,3%) и количества сперматид (2,6%) и сперматогоний (5,3%), а также уменьшение количества клеток Лейдига (7,1%).

У животных на 21-е сутки эксперимента при морфологическом исследовании наблюдается нарастание отека интерстициальной ткани в сравнении с группой контроля, а также в просвете ИСК отмечено появление эпителиальных конгломератов.

Анализируя морфологические показатели, диаметр и площадь поперечного сечения ИСК увеличивается в сравнении с группой контроля (10-е сутки). Четко прослеживается снижение высоты сперматогенного эпителия и достоверное снижение практически всех исследуемых клеточных популяций в просвете ИСК, сперматогоний (11,5%), сперматид (21,7%), клеток Сертоли (13,5%). При подсчете интерстициальных эндокриноцитов выявлено достоверное уменьшение их как в сравнении с группой контроля, так и с группой сравнения (10-е и 21-е сутки) (рис. 1).

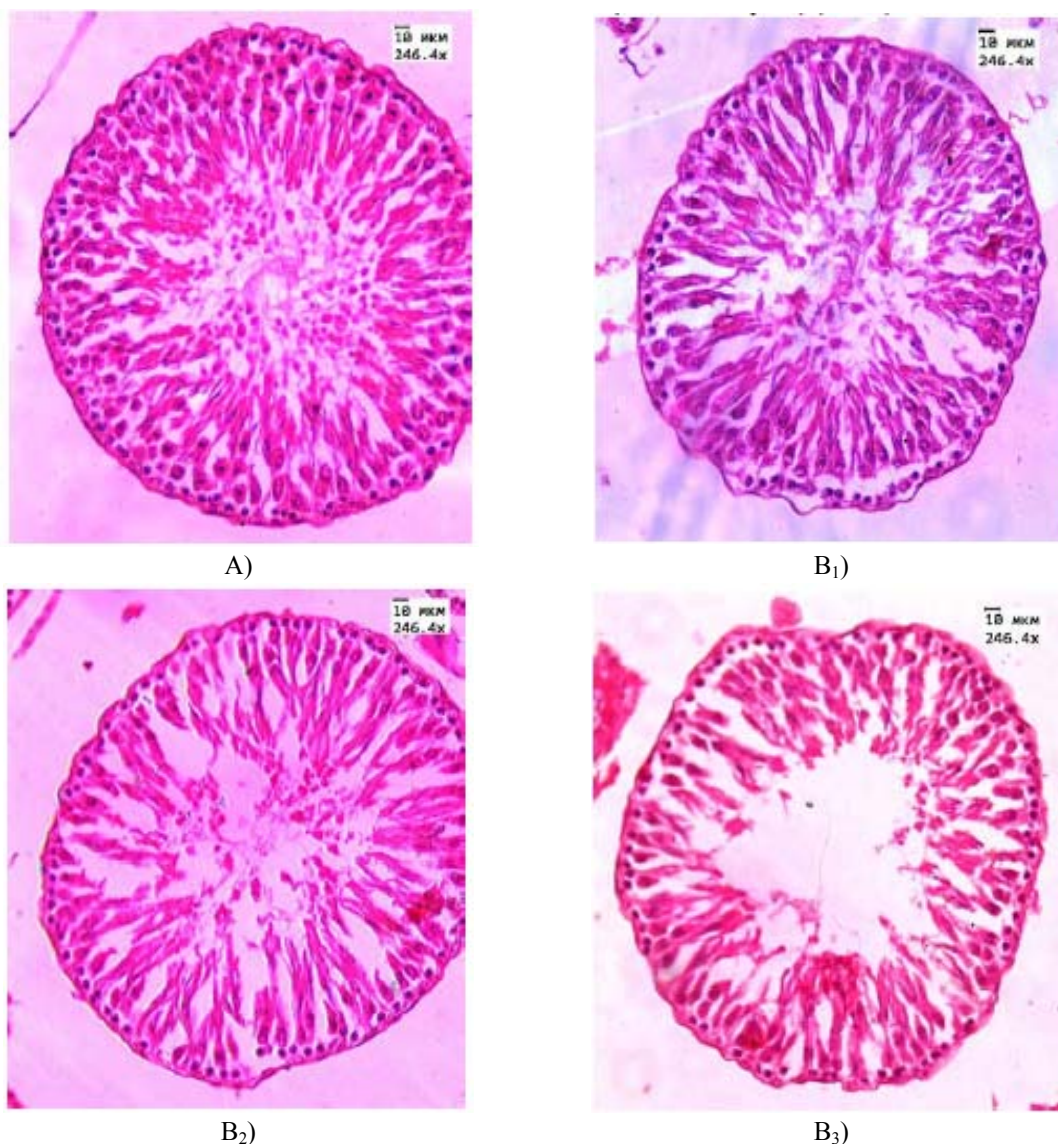


Рис.1. Поперечное сечение извитых семенных канальцев (А) - группа контроля, (В) – опытная группа (В₁ – 1-е сутки, В₂ – 10-е сутки, В₃ – 21-е сутки). Окр. Г.-Э. Ув. 246,4

Регистрируемые на 1-е сутки изменения показали, что наиболее уязвимыми к изменению режима освещения оказались сперматиды, количество которых достоверно снижалось. Согласно существующему мнению в первую очередь на стресс «реагируют» сперматиды, следовательно, отражает начальные признаки снижения активности процесса сперматогенеза в семенниках крыс [8, 9].

На 10-е сутки экспериментального исследования наблюдается достоверное увеличение диаметра и площади ИСК, что является одним из важнейших количественных показателей, указывающий на угнетение сперматогенеза [8], что подтверждается уменьшением толщины эпителиосперматогенного слоя и количества сперматид и сперматогоний в просвете ИСК.

Значительное истощение популяции сперматогоний и сперматид в совокупности с уменьшением диаметра и площади ИСК на 21-е сутки эксперимента свидетельствует о прогрессировании угнетения сперматогенеза, также отмеченное уменьшение клеток Лейдига отражает снижением функции эндокринного аппарата семенника – синтез тестостерона [8].

Экспериментальные исследования показали, что созревающие сперматиды, в отличие от половых клеток на более ранних стадиях развития, являющихся наиболее чувствительными к дефициту тестостерона [4, 7]. При стрессе различной этиологии у крыс отмечается нарушение в гипоталамо-гипофизарной системе, что ведет к дисбалансу синтеза релизинг-факторов и как следствие, угнетается выработка гонадотропных гормонов (ФСГ и ЛГ) передней доли гипофиза [6]. Это приводит сначала к стимуляции синтеза тестостерон, что проявляется в количества сперматид, т.е. стимуляции сперматогенеза, а затем к снижению его секреции, что характеризуется уменьшением количественного состава сперматогоний, сперматид, т.е. наблюдается угнетение сперматогенеза.

Заключение. Длительное световое воздействие оказывает влияние, как на репродуктивную, так и эндокринную части семенников белых крыс-самцов. Выраженность морфофункциональных изменений, полученных в ходе исследования, определялась длительностью освещения, наибольшие значимые результаты были получены на 21-е сутки эксперимента.

Полученные результаты исследуемых показателей на 1-е, 10-е, 21-е сутки опосредовались на стадии общего адаптационного синдрома.

Литература

1. Изменения микроциркуляции при экспериментальном световом десинхронозе / Иванов А.Н. [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2017. Т. 16, № 1 (61). С. 43–48.
2. Морфофункциональное состояние почек в стадию структурных нарушений светового десинхроноза / Антонова В.М. [и др.] // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 1. С. 62.
3. Мурашов А.К., Сухоруков В.С. Нарушение сперматогенеза при хроническом эмоциональном стрессе у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1990. Т. 110, № 8. С. 208–209.
4. Потемина Т.Е. Нарушение сперматогенеза в условиях стресса у самцов крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008. Т. 145, № 6. С. 645–647.
5. Саяпина И.Ю. Окислительный стресс в предстательной железе на этапах адаптации организма к низким температурам // Сибирский медицинский журнал. 2011. Т. 106, № 7. С. 31–34.
6. Стадников А.А. Морфофункциональная характеристика гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы крыс-самцов в условиях эмоционально-болевого стресса (ЭБС) // Морфология. 1996. Т. 110, №5. С. 38–42.
7. Effects of Food Restriction in the Testis and Accessory Sex Glands in Maturing Rats / Rehm S., White T.E., Zakalka E.A. [et al.] // Toxicologic Pathology. 2008. Vol. 36, №5. P. 687–694.
8. Guidance document for histologic evaluation of endocrine and reproductive tests in rodents / Odum J., Creasy D., Cartwright J. [et al.] // ENV/JM/MONO. 2009. Vol. 11, № 106.
9. Walker W.H. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis // Spermatogenesis. 2011. Vol. 1, № 2. P. 116–120.

References

1. Ivanov AN, et al. Izmeneniya mikrocirkulyacii pri ehksperimental'nom svetovom desinhronoze [Changes in microcirculation in experimental light-induced desynchronosis]. Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2017;16(61):43-8. Russian.
2. Antonova VM, et al. Morfofunkcional'noe sostoyanie pochek v stadiyu strukturnyh narushenij svetovogo desinhronoza [Morphofunctional state of kidneys in the stage of structural disorders of light desynchronosis]. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya. 2017;1:62. Russian.
3. Murashov AK, Suhorukov VS. Narushenie spermatogeneza pri hronicheskom ehmocional'nom stresse u krys [the spermatogenesis in case of chronic emotional stress in rats]. Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny. 1990;110(8):208-9. Russian.
4. Potemina TE. Narushenie spermatogeneza v usloviyah stressa u samcov krys [Violation of spermatogenesis under stress in male rats]. Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny. 2008;145(6):645-7. Russian.
5. Sayapina IYU. Okislitel'nyj stress v predstatel'noj zheleze na ehtapah adaptacii organizma k nizkim temperaturam. Sibirskij medicinskij zhurnal. 2011;106(7):31-4. Russian.

6. Stadnikov AA. Morfofunkcional'naya harakteristika gipotalamo-gipofizarno-gonadnoj sistemy kryssamcov v usloviyah ehmocional'no-bolevogo stressa (EHBS) [Oxidative stress in the prostate gland at the stages of adaptation to low temperatures]. Morfologiya. 1996;110(5):38-42. Russian.

7. Rehm S, White TE, Zakalka EA, et al. Effects of Food Restriction in the Testis and Accessory Sex Glands in Maturing Rats. Toxicologic Pathology. 2008;36(5):687-94.

8. Odum J, Creasy D, Cartwright J, et al. Guidance document for histologic evaluation of endocrine and reproductive tests in rodents. ENV/JM/MONO. 2009;11(106).

9. Walker WH. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. Spermatogenesis. 2011;1(2):116-20.

Библиографическая ссылка:

Злобина О.В., Бугаева И.О., Пахомий С.С., Иванов А.Н., Слюсаренко Ю.А., Усольцева Е.Д. Морфологическая оценка функциональных изменений семенников под влиянием светового десинхроноза в эксперименте // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №5. Публикация 3-15. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-5/3-15.pdf> (дата обращения: 29.10.2018). *

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-5/e2018-5.pdf>