

© Г. В. Брюхин, М. Л. Сизоненко, 2016
УДК 611.631.44.018:616.36:599.323.4

Г. В. Брюхин, М. Л. Сизоненко

СОДЕРЖАНИЕ СУСТЕНТОЦИТОВ В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ У ПОТОМСТВА САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав — проф. Г. В. Брюхин), Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск

На серийных гистологических срезах семенников, окрашенных гематоксилином–эозином, при помощи морфометрической установки проводили анализ суммарного содержания сперматогенных клеток и числа сустентоцитов в извитых семенных канальцах у новорожденных крысят, родившихся от самок с экспериментальным поражением печени различного генеза — аутоиммунного (n=33), токсического (n=32), алкогольного (n=12), лекарственного (n=27). Контрольную группу составили 14 крысят, рожденных от здоровых матерей. Показано, что в разных группах подопытных крысят имеет место как увеличение, так и снижение суммарного количества сустентоцитов. У животных большинства экспериментальных групп отмечено снижение клеточного индекса сустентоцитов, отражающего соотношение числа сперматогенных клеток и сустентоцитов.

Ключевые слова: семенник, извитые семенные канальцы, сустентоциты, патология печени

Несмотря на распространенность мужского бесплодия и повсеместную тенденцию его роста, эта проблема остается до конца не решенной. Экспериментальные исследования и клинические наблюдения показали, что развитие половой системы в различные возрастные периоды определяется многочисленными факторами окружающей среды, в том числе физическими, химическими и биологическими. Пренатальное действие различных факторов на развитие репродуктивной системы плода и мужской, в частности, изучено недостаточно [10].

Ранее было выявлено, что у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени различного генеза происходит угнетение сперматогенеза [13, 14]. Согласно современным представлениям [3, 15, 17, 19, 21], сустентоциты (СЦ) принимают активное участие в регуляции сперматогенеза у млекопитающих, являясь основным компонентом микроокружения развивающихся гамет, их функция не только в механической поддержке половых клеток, но они оказывают разностороннее паракринное и эндокринное воздействие.

Исходя из этого, цель настоящего исследования — анализ содержания СЦ в извитых семенных канальцах (ИСК) у новорожденного потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени различного генеза.

Материал и методы. Исследования проведены на самках крыс линии Вистар и их потомстве в период новорожденности. У взрослых половозрелых самок моделировали поражение гепатобилиарной системы различного генеза.

1-ю группу (А1) составили 18 новорожденных крысят из 15 пометов от матерей с аутоиммунным поражением печени. Аутоиммунный процесс создавали путем длительной сенсибилизации гомологичным антигеном печени с адъювантом Фрейнда по общепринятой методике [4, 18]. Полный цикл иммунизации продолжался 4 мес. Доза гомологичного печеночного антигена, получаемого животными за полный курс иммунизации, составила 200 мг.

2-ю группу (А2) составили 15 новорожденных крысят из 14 пометов от матерей, у которых аутоиммунный процесс с преимущественным поражением печени создавали путем введения 0,2 мл фильтрата 6-суточной культуры *E. coli* в 3 участка печени — по одному с обеих сторон у основания мечевидного отростка и справа у края реберной дуги по срединно-ключичной линии. Через 1 сут в хвостовую вену животным вводили фильтрат культуры *E. coli* из расчета 0,3 мл/кг массы тела [11].

3-ю группу (Ал) составили 12 новорожденных крысят из 9 пометов от матерей, у которых моделировали алкогольное поражение печени путем замены на 3 мес питьевой воды 15% раствором этилового спирта [5].

Экспериментальные «токсические» группы составили новорожденные крысята в количестве 12 из 12 пометов (Т1) и 20 крысят из 10 пометов (Т2), родившиеся от самок с токсическим поражением печени, которое создавали с помощью четыреххлористого углерода (40% масляный раствор дважды в неделю в течение 2 мес) и D-галактозамина гидрохлорида (Sigma-G500, CLIA, США) однократно внутрибрюшинно в дозе 250 мг/кг массы тела животного [6].

Для формирования токсического поражения печени взрослым половозрелым самкам интрагастрально вводили тетрациклин (Биосинтез, Россия), 500 мг/кг массы тела в течение 5 сут или парацетамол (АСФАРМА, Россия) 2500 мг/кг массы тела в течение 2 сут. То и другое в виде взвеси на 1% крахмальном клейстере. Эти группы составили новорожденные крысята: Л1 — 12 из 12 пометов, Л2 — 15 из 14 пометов.

Сведения об авторах:

Брюхин Геннадий Васильевич (e-mail: kanc@vita.chel.su), Сизоненко Максим Леонидович (e-mail: maximus_74.79@mail.ru), кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

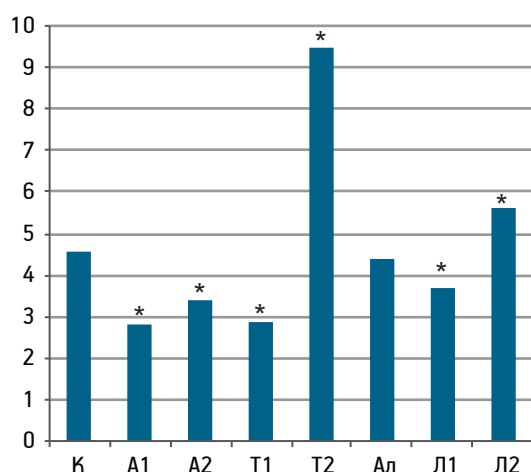
Повреждение печени у половозрелых самок крыс верифицировали на основании морфологических признаков (очаговые некробиотические изменения гепатоцитов, дискомплексация гепатоцитов, гиперплазия макрофагов, расширение синусоидных капилляров, массивная лимфогистиоцитарная периваскулярная инфильтрация порталных трактов, распространяющаяся на периферию долек), иммунологических показателей (высокий титр противопеченочных аутоантител 1:320; 1:640 и 1:1280) и биохимических критериев [гипергаммаглобулинемия, увеличение аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), увеличение билирубина].

Спаривание самок проводили через 7 сут после моделирования поражений печени различного генеза. Контрольную группу (К-группа) составили 14 крысят из 14 пометов, родившихся от интактных матерей.

Работу с лабораторными животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР).

Объектом исследования явилось непосредственно 1-суточное потомство самок крыс с экспериментальным поражением гепатобилиарной системы различного генеза. На серийных гистологических срезах семенников, окрашенных гематоксилином — эозином, при помощи морфометрической установки Motic BA400 (Motic Deutschland GmbH, Германия) подсчитывали суммарное количество сперматогенных клеток и СЦ из расчета на 1 поперечный срез ИСК и определяли их отношение, т. е. клеточный индекс (КИ). Полученные цифровые данные обрабатывали на компьютере с использованием программы Statistica 6.0. (Stasoft, Inc.). Учитывая небольшую выборку животных, значимость полученных результатов определяли при помощи непараметрического метода — критерия Манна—Уитни.

Результаты исследования. Суммарное количество СЦ в ИСК у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени было различным. Оно составило у крысят группы А1 —



Клеточный индекс sustentacularов у новорожденных крысят, родившихся у самок с экспериментальным поражением печени различного генеза.

По горизонтальной оси: К — контрольная (интактная) группа; экспериментальные группы крысят (объяснения см. в разделе «Материал и методы»); по оси ординат — исследованный показатель; звездочки — различия значимы по сравнению с контролем при $P \leq 0,05$

5,270±0,002, Т1 — 4,930±0,003 и Ал — 5,40±0,14, превышая таковое в К-группе (3,90±0,026). При этом у крысят группы А2 оно равно 3,79±0,08, Т2 — 1,34±0,12, Л1 — 3,56±0,08 и Л2 — 3,35±0,11, что ниже, чем у животных К-группы.

Наиболее важным показателем являлся КИ СЦ. Его анализ позволил выявить следующую закономерность: у потомства самок с экспериментальным поражением гепатобилиарной системы он оказался значимо сниженным по сравнению с таковым в контроле (рисунки). Исключение составили крысят экспериментальных групп Т2 и Л2.

Обсуждение полученных данных. Согласно современным представлениям [17, 19], одним из факторов, ограничивающих максимальное число вырабатываемых сперматозоидов, является содержание СЦ, которые секретируют ингибины и активин, тормозящие посредством механизма отрицательной обратной связи секрецию фолликулолестимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего гормонов (ЛГ) аденогипофиза и, тем самым, угнетающие сперматогенез. Вместе с тем, в СЦ под влиянием ФСГ тестостерон, вырабатываемый интерстициальными эндокриноцитами (клетками Лейдига), ароматизируется в эстрадиол-17β, который транспортируется с помощью андрогенсвязывающего белка к сперматогенным клеткам и обуславливает регуляцию митотических и мейотических делений, а также спермиогенез [20].

Установлено, что СЦ впервые появляются и дифференцируются в раннем антенатальном периоде. Так, например, у человека они появляются на 6-й неделе эмбриогенеза [6]. В связи с этим любые воздействия в период внутриутробного развития, ингибирующие рост числа и активность СЦ, могут привести как к нарушению становления сперматогенного эпителия в антенатальном периоде, так и сперматогенеза в постнатальном периоде.

Вместе с тем, согласно современным представлениям, одним из основных факторов, обуславливающих функциональное состояние СЦ, является нарушение гормонального гомеостаза, в том числе за счет увеличения концентрации эстрогенов [16].

Логично предположить, что моделирование патологии гепатобилиарной системы у самок крыс обуславливает нарушение многочисленных функций печени, в том числе функции инактивации половых гормонов, что способствует их накоплению. Беременность увеличивает нагрузку на печень и, как следствие, усугубляет нарушение гормонального гомеостаза. Накапливающиеся гормоны, в том числе половые, проходят через гематоплацентарный барьер и изменяют гормо-

нальный гомеостаз у плода. В итоге происходит изменение числа и активности СЦ и, как следствие, нарушение процессов пролиферации и дифференцировки сперматогенных клеток.

В целом, полученные результаты настоящего исследования позволяют предположить, что одним из патогенетических звеньев изменения строения сперматогенного эпителия в антенатальном периоде, а в дальнейшем уменьшение активности сперматогенеза у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени различного генеза, является нарушение числа и, возможно, активности СЦ. В то же время, неоднозначность полученных результатов в экспериментальных группах свидетельствует о разной степени чувствительности этих клеток — одного из главных компонентов микроокружения сперматогенного пласта к гонадотоксическому действию различных факторов.

ЛИТЕРАТУРА

- Боголюбов С.В., Витязева И.И., Макарова Н.П., Львова А.Г. Клиническое ведение пациентов с тератозооспермией в циклах вспомогательных репродуктивных технологий // Эндокринология. 2009. Т. 50, № 6. С. 34–38.
- Божедомов В.А., Лоран О.Б., Николаева М.А., Сухих Г.Т. Влияние антиспермальных антител на мужскую репродуктивную систему // Андрология и генитальная хир. 2000. № 2. С. 25–33.
- Бречка Н.М., Невзоров В.П., Коренева Е.М. и др. Нарушения ультраструктуры клеток Сертоли и Лейдига под воздействием серотонина гидрохлорида // Пробл. эндокринной патологии. 2012. № 2. С. 73–74.
- Брюхин Г.В., Грачев А.Ю. Особенности миграционной активности перитонеальных макрофагов и моноцитов периферической крови потомства самок крыс с хроническим поражением гепатобилиарной системы // Физиол. журн. 1993. № 1. С. 50–54.
- Буров Ю.В. Изменение гонадотропной функции гипофиза крыс при развитии экспериментального алкоголизма // Бюл. экспер. биол. 1986. Т. 12, № 6. С. 675–676.
- Быков В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века (обзор литературы) // Пробл. репродукции. 2000. № 1. С. 6–13.
- Венгеровский А.И., Саратиков А.С. Метаболизм липидов и функциональное состояние печени при интоксикации D-галактозамином у крыс // Пат. физиол. 1988. № 3. С. 52–54.
- Кулаков В.И., Леонова Б.В., Кузьмичева Л.Н. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии. М.: Медицинское информационное агентство, 2005.
- Никитин А.И. Факторы среды и репродуктивная система // Морфология. 1998. Т. 114, вып. 6. С. 7–16.
- Потапов С.Н., Горголь Н.И., Андреев А.В. Морфологические особенности клеток Лейдига плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией // Медицина сегодня и завтра. 2011. Т. 53, № 4. С. 23–26.
- Сааков Б.А., Поляк А.И., Рычнев В.Е. и др. Моделирование, методы изучения и экспериментальная терапия патологических процессов. М.: Медиа Сфера, 1997.
- Саркисов Д.С., Ремизов П.И. Воспроизведение болезней человека в эксперименте. М.: Медицина, 1960.
- Сизоненко М.Л., Брюхин Г.В. Становление генеративной функции семенников потомства самок крыс с хроническим поражением печени // Пробл. репродукции. 2009. № 15 (1). С. 16–19.
- Сизоненко М.Л., Брюхин Г.В. Морфофункциональная характеристика сперматогенного пласта у потомства самок крыс с хроническим экспериментальным лекарственным поражением печени // Пробл. репрод. 2012. № 4. С. 12–15.
- De Kretser D.M., Kerr J.B. The Cytology of the Testis. In: The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press, 1994. P. 1177–1290.
- Kelce W.R., Gray L.E., Wilson E.M., Skakkebaek N.E. Anti-androgens as environmental endocrine disruptors // Reprod. Fertil. Devel. 1998. Vol. 10. P. 105–111.
- Ohta H., Yomogida K., Dohmae K., Nishimune Y. Regulation of proliferation and differentiation. Spermatogonial stem cells: the role of c-kit and its ligand SCF // Development. 2000. Vol. 127. P. 2125–2131.
- Okuma V., Saito K., Connor A.E. et al. Reciprocal regulation of activin A and inhibin B by interleukin-1 (IL1) and follicle-stimulating hormone (FSH) in rat Sertoli cells in vitro // J. Endocrinol. 2005. Vol. 185. P. 99–110.
- Orth J.M. Cell biology of testicular development in the fetus and neonate. In: Cell and Molecular Biology of the Testis. New York: Oxford University Press, 1993. P. 3–42.
- Orth J.M., Gunsalus G.L., Lamperti F.F. Evidence from the Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during the perinatal development // Endocrinology. 1988. Vol. 122. P. 787–794.
- Shinohara T., Orvig K.E., Avarbock M.R., Brinster R.L. Restoration of spermatogenesis in infertile mice by sertoli cell transplantation // Biol. Reprod. 2003. Vol. 68. P. 1064–1071.

Поступила в редакцию 06.08.2015

Поступила после доработки 02.12.2015

SUSTENTOCYTE NUMBERS IN THE NEONATAL PERIOD IN THE OFFSPRING OF FEMALE RATS WITH EXPERIMENTAL LIVER DAMAGE

G.V.Briukhin, M.L.Sizonenko

On serial histological sections of the testes, stained with hematoxylin–eosin, using a morphometric device, the total numbers of spermatogenic cells and sustentocytes (Sertoli cells) were measured in the convoluted seminiferous tubules of neonatal rat pups. Experimental groups consisted of rats born from females with experimental liver damage of various origins — autoimmune (n=33), toxic (n=32), alcoholic (n=12), and medicinal (n=27). The control group included pups born from normal female rats (n=14). In experimental rats both increase and decrease of the total number of sustentocytes was detected. In the animals of most of the experimental groups, sustentocyte cell index reflecting the ratio of the number of spermatogenic cells and sustentocytes, was decreased.

Key words: *testis, convoluted seminiferous tubules, sustentocytes, liver pathology*

Department of Histology, Embryology and Cytology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk