

Поплавская Е. А., Лис Р. Е.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СУСТЕНТОЦИТОВ СЕМЕННИКОВ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *E. COLI*

Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь

Структура семенников млекопитающих характеризуется присутствием двух функциональных компонентов, одним из которых являются поддерживающие клетки (сустентоциты) [2]. Они выполняют ряд важных функций для созревающих клеток сперматогенного ряда: опорную, трофическую, фагоцитарную, экзоклеточную, эндокринную функцию и, наконец, барьерную, являясь важнейшим элементом гематотестикулярного барьера [4, 5]. Морфологические и функциональные изменения в сустентоцитах несомненно могут привести к нарушению сперматогенеза.

Сперматогенез — это сложный многостадийный процесс роста, созревания и формирования сперматозоидов из незрелых половых клеток, нормальное протекание которого требует скоординированного влияния многочисленных факторов (генетических, клеточных, гормональных и других). Подобная сложность делает сперматогенез «легкой мишенью» для всякого рода негативных воздействий, в том числе и липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов.

Анализ литературы свидетельствует об отсутствии данных о состоянии сустентоцитов в тканях семенников при воздействии липополисахарида *E. coli*, что является предметом наших исследований. В связи с этим, целью работы явилось изучение морфологических изменений сустентоцитов в извитых семенных канальцах семенников крыс при воздействии бактериального липополисахарида *E. coli*.

Материал и методы. Объектом исследования являлись половозрелые самцы беспородных белых крыс. Агентом воздействия выбран ЛПС *Escherichia coli* (*E. coli*) серотип 0111:В4, производства фирмы «Sigma», США.

В эксперименте было использовано 24 самца беспородных белых крыс. Масса самцов составляла 230 ± 30 граммов. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом пищевом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, 12/12-часовом ритме освещения и темноты с соблюдением требований, изложенных в Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными.

Из самцов сформировали 2 опытных, 2 контрольных групп. Самцам опытных групп вводили ЛПС *E. coli* в дозе 50 мкг/кг массы внутрибрюшинно однократно. Самцам контрольных групп вводили физиологический раствор в эквивалентном количестве.

Самцов экспериментальных групп на 3-и и 10-е сутки после воздействия ЛПС *E. coli* усыпляли парами эфира с последующей декапитацией. Животных вскрывали и выделяли семенники. Один из семенников фиксировали в жидкости Карнуа. После фиксации взятый материал маркировался и обезжизнялся в растворах этилового спирта возрастающей концентрации, а затем пропитывался в ксилоле, ксилол-парафине, при 56 °С — в парафине. Затем образцы заключа-

лись в парафин и готовились парафиновые блоки, из которых изготавливались парафиновые срезы толщиной 5 мкм и монтировались на предметные стекла. После чего, проводились через батарею депарафинации и окрашивались гематоксилином и эозином. Окрашенные срезы обезжировались в растворах этилового спирта возрастающей концентрации, пропитывались карбол-ксилолом, ксилолом и заключались в полистирол.

На окрашенных гематоксилином и эозином гистологических препаратах проводили общую оценку сустентоцитов в извитых семенных канальцах семенников экспериментальных животных и их морфометрию: подсчитывали количество сустентоцитов на срезе извитого семенного канальца семенника (на 20 срезах канальцев) и определяли площадь их ядер [1, 3]. Все манипуляции производили с помощью компьютерного анализатора изображений Image Warp (Bit Flow, США).

Оценку достоверности изменения численных значений проводили с помощью непараметрической статистики с применением компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows. В описательной статистике для каждого показателя определяли значения медианы и интерквартильного размаха ($Me (Q_1; Q_2)$). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann–Whitney U-test). Различие между показателями считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$). Иллюстративный материал получали с помощью цифровой фотокамеры Leica DFC 320 в комплексе с микроскопом Axioscop 2 plus (Carl Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение. Сустентоциты в канальцах у животных в контрольных группах выделяются отчётливо. Основания клеток лежат на базальной мембране между сперматогониями, верхушки обращены к просвету канальца. Апикальная часть клетки пирамидальной формы, ядра округлой или овальной формы. В опытных группах на светооптическом уровне в сустентоцитах наблюдались выраженные морфологические изменения, заключающиеся в выраженной вакуолизации цитоплазмы клеток, а в отдельных участках канальца наблюдалась гибель клеток (рис.). При сравнительном количественном анализе сустентоцитов установлено, что происходит статистически достоверное снижение их количества и уменьшение площади их ядер в исследуемые сроки после воздействия ЛПС *E. coli* по сравнению с контрольными показателями. При этом статистически достоверные различия в количестве клеток на 3-и сутки после воздействия составляли 25,65 % ($Z = 2,61, p = 0,006$), на 10-е — 26,47 % ($Z = 1,98, p = 0,04$) (табл. 1).

Таблица 1

Количество сустентоцитов в канальцах семенников самцов крыс в контрольных группах и после воздействия ЛПС *E. coli* на 3-и и 10-е сутки

Сроки после воздействия	Контроль, n = 36	Опыт, n = 36
3-и сутки	22,33 (20,91; 23,21)	16,58 *↓ (15,02; 17,05)
10-е сутки	22,21 (21,38; 23,43)	16,33 *↓ (15,10; 19,02)

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ↓ — статистически значимое снижение изучаемого параметра.

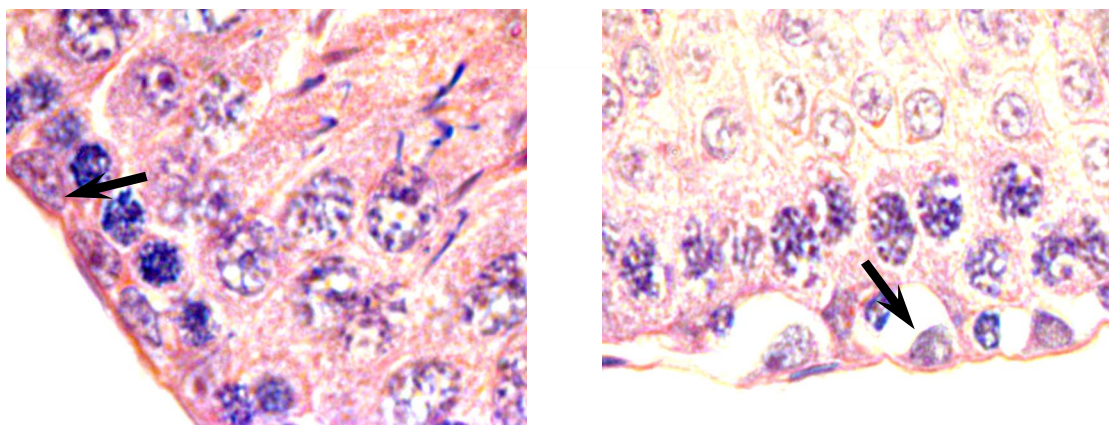


Рис. Сустентоциты семенников крыс в контрольной группе (А) и у крыс на 3-и сутки после воздействия ЛПС *E. coli* (Б). Вакуолизация цитоплазмы клеток в опытной группе. Окраска Г и Э. Цифровая микрофотография. Ув. об. 100

Морфометрические данные показали, что при воздействии ЛПС *E. coli* происходит уменьшение площади ядер сустентоцитов (табл. 2). Статистически достоверные различия по сравнению с контрольными показателями наблюдались на 3-и сутки после воздействия и составляли 17,15 % ($Z = 2,12$, $p = 0,03$) (табл. 2, рис.).

Таблица 2

Площадь ядер сустентоцитов в канальцах семенников самцов крыс в контрольных группах и после воздействия ЛПС *E. coli* на 3-и и 10-е сутки

Сроки после воздействия	Контроль, n=36	Опыт, n=36
3-и сутки	48,67 (46,22; 50,70)	40,32 *↓ (40,02; 41,03)
10-е сутки	48,26 (44,66; 50,40)	43,44 (39,92; 45,05)

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ↓ – статистически значимое снижение изучаемого параметра.

Таким образом, в процессе исследования установлено, что при введении ЛПС *E. coli* на 3-и и 10-е сутки после воздействия самцам крыс вызывает выраженные морфологические изменения в сустентоцитах, заключающиеся в вакуолизации цитоплазмы клеток, а в отдельных участках канальца и их гибели, снижении количества клеток и уменьшении площади их ядер.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. М. : Медицина, 1990. 384 с.
2. Солодова, Е. К. Влияние ионизирующего излучения на клетки Сертоли семенников крыс / Е. К. Солодова // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 21-й итоговой сессии Гомел. гос. мед. ун-та (Гомель, 16–17 февр. 2012 г.) : в 4 т. / УО Гомельский государственный медицинский университет ; ред. колл. : А. Н. Лызиков [и др.]. Гомель, 2012. Т. 4. С. 79–8.
3. Ухов, Ю. И. // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1983. Т. 84, № 3. С. 66–72.
4. Johnson, L. Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis / L. Johnson, D. L. Jr. Thompson, D. D. Varner // Anim. Reprod. Sci. 2008. Vol. 105, № 1/2. P. 23–51.

5. Oatley, M. J. Sertoli cells dictate spermatogonial stem cell niches in the mouse testis / M. J. Oatley, K. E. Racicot, J. M. Oatley // Biol. Reprod. 2011. Vol. 84, № 4. P. 639–645.

Poplawskaya E. A., Lis R. E.

Morphological changes of sustentocytes in the rat testis at influence bacterial lipopolysaccharide *E. coli*

Grodno State Medical University, Belarus

It was found that the injection of *E. coli* LPS to male rats leads to significant morphological changes in sustentocytes that consist of vacuolization of the cytoplasm of cells, and in some parts of the tubule — to their destruction, reducing the number of cell nuclei and the reduction of area.

Key words: lipopolysaccharide, sustentocyte, testis.