

МАТЕРИАЛЫ ОЧЕРЕДНОГО НОМЕРА «ЯКУТСКОГО МЕДИЦИНСКОГО ЖУРНАЛА»

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

С.А. Кащенко, А.А. Захаров

ИЗМЕНЕНИЯ СТРОЕНИЯ СЕМЕННЫХ ПУЗЫРЬКОВ КРЫС РЕПРОДУКТИВНОГО ПЕРИОДА В УСЛОВИЯХ ЦИКЛОФOSФАМИД-ИНДУЦИРОВАННОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

DOI 10.25789/YMJ.2018.62.22
УДК 611.6+59.084:615.37

Исследовали морфометрические изменения семенных пузырьков крыс репродуктивного периода в условиях длительной системной иммуносупрессии. Выявлены достоверные изменения органомерических показателей органа как на ранних (7, 15 сут), так и на поздних сроках наблюдения, что свидетельствует о непосредственном влиянии циклофосфамида на биосинтетические процессы в органе. Микроморфометрические изменения, а также результаты цито- и кариометрии подтверждают органомерические данные и свидетельствуют о развитии локальных нарушений морфогенеза семенных пузырьков, обусловленных дисрегуляцией эндокринно-иммунного гомеостаза органа.

Ключевые слова: семенные пузырьки, циклофосфамид, иммуносупрессия, крысы.

Morphometric changes in the seminal vesicles of rats of the reproductive period under conditions of prolonged systemic immunosuppression were studied. Reliable changes in the organometric parameters of the organ were detected both at the early (7, 15 days) and at the later periods of observation, which indicates the direct effect of cyclophosphamide on the biosynthetic processes in the organ. Micromorphometric changes, as well as the results of cyto- and karyometry, confirm the organometric data and indicate the development of local disorders in the morphogenesis of seminal vesicles caused by the dysregulation of the endocrine-immune organ homeostasis.

Keywords: seminal vesicles, cyclophosphamide, immunosuppression, rats.

Введение. В последние годы усилия ученых направлены на раскрытие структурно-функциональных основ взаимодействия человека и окружающей среды с помощью комплексного анализа влияния внешних факторов на организм, структуры антропологических связей, особенностей индивидуальных проявлений [1]. Первыми на изменения окружающей среды реагируют регуляторные системы организма – иммунная, эндокринная, нервная. Доказано, что неблагоприятные экогенные воздействия, включая применение разнообразных фармакологических агентов, вызывают в организме выраженную системную иммуносупрессию [5]. Нарушения в структуре и функционировании органов регуляторных систем закономерно стимулируют комплексную реакцию со стороны иных структур, в том числе и выполняющих репродуктивную функцию. Находясь в постоянном функциональном напряжении в период половой зрелости, эти органы особенно чувстви-

тельны к изменениям гомеостаза, что отражено в ряде клинических экспериментов. Однако на фоне многообразия данных лабораторно-инструментальных методов исследования фундаментального морфологического изучения органов мужской половой системы при иммуносупрессии, согласно доступной литературе, до сих пор проведено не было.

Цель работы – установить морфометрические изменения семенных пузырьков крыс репродуктивного периода в условиях длительной системной иммуносупрессии.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на 60 белых беспородных крысах репродуктивного периода, полученных из вивария лабораторных животных ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». Иммуносупрессивное состояние моделировали путем введения циклофосфамида в дозировке 1,5 мг/кг массы тела внутримышечно десятикратно. Животные, входившие в контрольную группу, получали аналогичные объемы 0,9%-ного раствора NaCl по той же схеме. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом на 1, 7, 15, 30 и 60-е сут после окончания введения препаратов.

При работе с животными руководствовались Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях [4]. Органы взвешивали на торсионных весах, вычисляли относительную массу, определяли длину, ширину и толщину с помощью штангенциркуля. Объем органа устанавливали методом вытеснения воды в градуированном цилиндре, содержащем дистиллированную воду. Орган подвергался классической гистологической проводке, полученные срезы толщиной 4-6 мкм окрашивались гематоксилин-эозином и фотографировались с помощью морфометрического комплекса «Olympus CX-41». Микроморфометрические измерения объектов проводили путём загрузки полученных цифровых изображений в компьютерную программу АСКОН «Компас-3D 17.0» с калибровкой с помощью фотографий объектива микрометра в аналогичных режимах съёмки. На микроскопическом уровне в органах исследовали высоту и ширину эпителиоцитов, их объём, а также больший и меньший диаметры и объём ядер клеток. Объёмные показатели рассчитывали по формуле объёма вытянутого эллипсоида вращения:

$$V = (\pi AB^2)/6,$$

где V – объём ядра, A – больший диаметр, B – меньший диаметр [2].

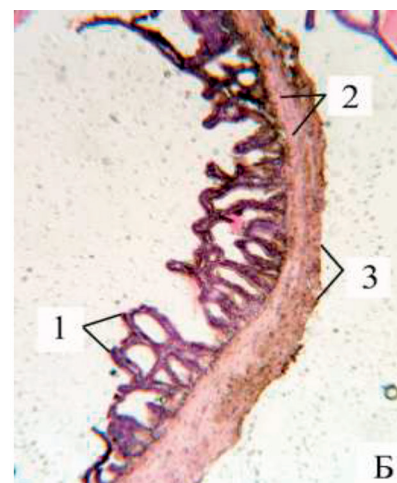
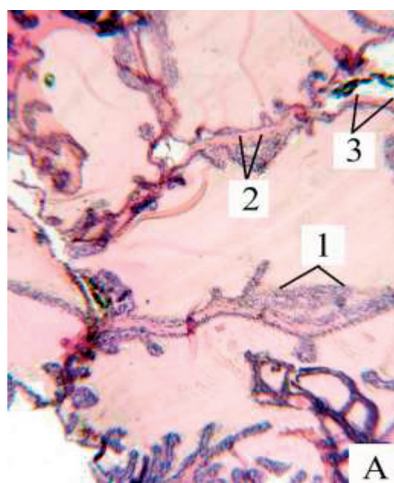
Полученные данные обрабатывали с использованием специализированной программы «StatSoft Statistica v6.0». Применялись методы параметрической статистики, так как использование критерия Шапиро-Уилка позволило установить нормальное распределение показателей в выборке. Достоверность различий между величинами параметров экспериментальных и контрольных групп определяли с помощью критерия Стьюдента-Фишера с вероятностью ошибки $p < 0,05$, допустимой для медико-биологических исследований.

Результаты и обсуждение. Семенные пузырьки являются парными органами, что обуславливает необходимость их двустороннего изучения. Однако полученные данные свидетельствуют, что в контрольных и экспериментальных группах достоверных различий между аналогичными параметрами правого и левого семенного пузырька установлено не было, поэтому в дальнейшем будут приведены результаты исследования правого органа.

Семенные пузырьки имеют вид мешковидных образований, расположенных над предстательной железой, и покрыты соединительнотканной капсулой. Просвет каждого пузырька неправильной формы, слизистая оболочка характеризуется специфической архитектурой, придающей ей вид пчелиных сот (рисунок). В состав эпителия входят призматические секреторные и округлые базальные клетки.

Параметры семенных пузырьков животных контрольных групп претерпевали закономерные изменения в связи с особенностями их морфогенеза (табл. 1).

Макроморфометрические показатели семенных пузырьков после введения циклофосфида также подвергались существенной динамике. Статистически достоверное уменьшение всех изучаемых параметров происходило как на ранних (7-е, 15-е сут), так и поздних сроках наблюдения (30-е сут). Отклонение величины показателя длины органа от данных контрольных групп крыс составляло 13,55; 16,05 и 14,62% соответственно вышеуказанным суткам. Похожим образом снижались и значения ширины и толщины семенных пузырьков при иммуносупрессии: изменения составляли 5,62; 4,77, 3,16 и 10,78; 12,25; 4,82% соот-



Семенные пузырьки животных репродуктивного периода: А – через 7 сут после применения циклофосфида, Б – через 7 сут после применения 0,9%-ного раствора NaCl. 1 – слизистая оболочка, 2 – мышечная оболочка, 3 – адвентициальная оболочка. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: приближение: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10x/0.25 ∞/-/FN22

ветственно, в те же сроки наблюдения. Статистически значимое уменьшение объёма органа отмечалось на 7, 15 и 30-е сут и составляло 27,16; 29,86 и 21,30% соответственно.

Микроморфометрические параметры клеток эпителия семенных пузырьков крыс репродуктивного пери-

ода контрольных групп претерпевали закономерную возрастную динамику (табл.2).

После применения циклофосфида уменьшение высоты и ширины эпителия составляло 4,61; 5,02; 7,09 и 4,87; 6,64; 7,91% соответственно в 7, 15 и 30-е сут наблюдения. Размеры

Таблица 1

Органометрические показатели семенных пузырьков крыс репродуктивного периода контрольных групп (M±m, n=30)

Параметр	Сроки наблюдения, сут				
	1	7	15	30	60
Абсолютная масса, мг	395,80±17,45	420,52±6,57	455,00±10,28	498,34±6,25	525,71±16,65
Относительная масса, мг/г	1,91±0,12	1,93±0,08	1,91±0,04	2,21±0,09	2,27±0,11
Длина, мм	21,53±1,08	24,32±1,12	26,28±0,66	28,87±1,24	30,15±1,53
Ширина, мм	8,88±0,31	9,20±0,17	9,95±0,12	10,97±0,11	11,43±0,19
Толщина, мм	6,40±0,32	6,65±0,12	6,80±0,15	7,60±0,14	9,30±0,10
Объём, мм³	640,75±45,64	779,04±29,87	930,99±21,24	1260,24±28,74	1678,04±109,56

Таблица 2

Микроморфометрические показатели семенных пузырьков крыс репродуктивного периода контрольных групп (M±m, n=30)

Параметр	Сроки наблюдения, сут				
	1	7	15	30	60
Высота эпителиоцита, мкм	17,14±0,12	17,66±0,11	18,53±0,29	19,66±0,18	20,24±0,34
Ширина эпителиоцита, мкм	11,97±0,24	12,65±0,19	13,25±0,17	13,95±0,19	15,62±0,32
Объём эпителиоцита, мкм³	1285,83±27,35	1479,65±20,31	1703,31±34,56	2003,17±35,63	2585,58±69,21
Большой диаметр ядра, мкм	11,20±0,12	11,45±0,05	11,86±0,05	12,69±0,12	12,39±0,28
Меньший диаметр ядра, мкм	7,65±0,07	7,98±0,07	8,23±0,06	8,64±0,08	8,79±0,14
Объём ядра, мкм³	89,68±1,76	95,63±1,15	102,16±0,96	114,76±0,94	113,99±5,17

ядер и их объём снижались в те же сроки: больший и меньший диаметры ядра статистически значимо уменьшались на 3,99; 4,98; 8,38 и 3,2; 6,56; 8,06% соответственно. Показатели объёма ядра эпителиоцитов семенных пузырьков животных контрольных групп достоверно превышали данные экспериментальных крыс в те же сроки на 7,07; 11,02 и 15,77%.

На 1-е и 60-е сут статистически значимых различий между изучаемыми параметрами установлено не было.

Установленные изменения показателей семенных пузырьков свидетельствуют об интенсивной реакции со стороны органа в ответ на иммуносупрессивное воздействие. Известно, что применение циклофосфамида по указанной схеме индуцирует развитие состояния системной иммуносупрессии [6]. В данных условиях изменения органомерметрических показателей органа могут объясняться прямым цитотоксическим действием препарата на активно делящиеся клетки, к которым относятся, в том числе, и секреторные эпителиоциты. Активную реакцию органов мужской половой системы наблюдали в эксперименте после воздействия солей тяжелых металлов С.С. Островская и соавт. [7]. Изменения микроморфометрических показателей, свидетельствующих о степени функциональной активности семенных пузырьков, может объяснить дисрегуляторное влияние циклофосфамида на локальный эндокринный и иммунный гомеостаз. Так, Ю.С. Храмцова и соавт. доказали факт нарушений сперматогенеза в условиях изменения кооперации эндокринного аппарата семенников с местным комплексом иммунокомпетентных клеток [3].

Выводы.

В условиях длительной иммуносупрессии наблюдается активный ответ со стороны семенных пузырьков животных репродуктивного периода.

Статистически достоверные изменения органомерметрических показателей органа отмечаются как на ранних (7-е, 15-е сут), так и поздних сроках наблюдения, что свидетельствует о непосредственном влиянии циклофосфамида на биосинтетические процессы в органе.

Микроморфометрические изменения, а также результаты цито- и карิโอметрии подтверждают органомерметрические данные и свидетельствуют о развитии локальных нарушений морфогенеза семенных пузырьков, обусловленных дисрегуляцией эндокринно-иммунного гомеостаза органа.

Полученные результаты вызывают интерес к изучению строения семенных пузырьков при острой иммуносупрессии в возрастном аспекте.

Литература

1. Алексеева Н.Т. Отечественная экологическая морфология: традиции, опыт, перспективы, научные школы / Н.Т. Алексеева, Д.Б. Никитюк, С.В. Ключкова // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т. 4, №3. – С. 9-13.
2. Алексеева Н.Т. Domestic ecological morphology: traditions, experience, prospects, scientific schools / N.T. Alekseeva, D.B. Nikityuk, S.V. Klochova // Journal of anatomy and histopathology. – 2015. – Vol. 4, №3. – P. 9-13.
3. Бессалова Е.Ю. Биометрические показатели семенников крыс при парентеральном введении спинномозговой жидкости / Е.Ю. Бессалова // Вісник проблем біології та медицини. – 2011. – №4 (90). – С. 195-197.
4. Бессалова Е.Ю. Biometric parameters of testis of rats with parenteral administration of cerebrospinal fluid / E.Yu. Bessalova // News of problems of biology and medicine. – 2011. – №4 (90). – P. 195-197.
5. Влияние тучных клеток на репаративную регенерацию тканей с разной степенью иммунологической привилегированности / Ю.С. Храмцова, О.С. Арташян, Б.Г. Юшков [и др.] // Цитология. – 2016. – Т. 58, №5. – С. 356-363.
6. Influence of mast cells on reparative regeneration of tissues with different degree of immunological privilege / Yu.S. Khramtsova, O.S. Artashyan, B.G. Yushkov [et al.] // Cytology. – 2016. – Vol. 58, №5. – P. 356-363.
7. Директива Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях от 2010 г. № 2010/63/EU // НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными». – СПб., 2012. – 48 с.
8. Directive of the European Parliament and the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes dated 2010 №2010/63 / EU // NP «Association of experts in working with laboratory animals», SPb. – 2012 – 48 p.
9. Кащенко С.А. Корреляционная зависимость между параметрами лимфатических узлов крыс после коррекции иммунодефицитного состояния / С.А. Кащенко, О.Н. Петизина, Е.Н. Морозова // Український морфологічний альманах. – 2014. – Т. 12, №3. – С. 34-37.
10. Kashchenko S.A. Correlation dependence between parameters of rat lymph nodes after correction of immunodeficiency state / S.A. Kashchenko, O.N. Petizina, E.N. Morozova // Ukrainian morphological almanac. – 2014. – Vol. 12, №3. – P. 34-37.
11. Ковешников В.Г. Ультраструктура тимуса в условиях иммуностимуляции и иммуносупрессии / В.Г. Ковешников, В.М. Фролов, С.А. Кащенко // Там же. – 2005. – Т.3, №2. – С.36-40.
12. Koveshnikov V.G. Ultrastructure of thymus in conditions of immunostimulation and immunosuppression / V.G. Koveshnikov, V.M. Frolov, S.A. Kashchenko // Ukrainian medical almanac. – 2005. – Vol. 3, №2. – P. 36-40.
13. Островская С.С. Сочетанное воздействие свинца и кадмия на организм / С.С. Островская, В.Ф. Шаторная, И.И. Колосова // Вестник проблем биологии и медицины. – 2014. – Вып. 4, № 3 (115). – С. 25 – 29.
14. Ostrovskaya S.S. Combined effects of lead and cadmium on the organism / S.S. Ostrovskaya, V.F. Shatornaya, I.I. Kolosova // Bulletin of the problems of biology and medicine. – 2014. – Issue. 4, №3 (115). – P. 25 – 29.