

СПЕРМАТОГЕННЫЙ ЦИКЛ У ПОТОМСТВА САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА В РАННИЙ НЕОНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

Брюхин Г.В., Антонов С.Д.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия, e-mail: bgenvas@mail.ru

THE SPERMATOGENIC CYCLE OF THE RAT'S OFFSPRING WITH EXPERIMENTAL OF THE TYPE 1TH DIABETES IN THE EARLY NEONATAL PERIOD

Bryukhin GV, Antonov SD

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation, e-mail: bgenvas@mail.ru

Для цитирования:

Брюхин Г.В., Антонов С.Д. Сперматогенный цикл у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа в ранний неонатальный период// Морфологические ведомости.- 2019.- Том 27.- № 4.- С. 16-20. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.19\(27\).04.16-20](https://doi.org/10.20340/mv-mn.19(27).04.16-20)

For the citation:

Bryukhin GV, Antonov SD. The spermatogenic cycle of the rat's offspring with experimental of the type 1th diabetes in the early neonatal period. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2019;27(4):16-20. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.19\(27\).04.16-20](https://doi.org/10.20340/mv-mn.19(27).04.16-20)

Резюме: Одной из актуальных медико-социальных проблем современного общества является сахарный диабет, рост которого отмечается повсеместно и приобретает черты эпидемии, охватывающей большинство стран мира. По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире в настоящее время насчитывается около 200 млн больных сахарным диабетом. Вместе с тем не вызывает сомнений, что сахарный диабет поражает многие органы и системы жизнеобеспечения. По-прежнему остается не ясной роль сахарного диабета матери в нарушении морфофункционального становления различных органов и систем у потомства. В связи с этим, целью настоящего исследования явился анализ особенностей сперматогенного цикла потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа в ранний неонатальный период. Объектом исследования явилось потомство самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа в ранний неонатальный период (на 1-й день после рождения). Сахарный диабет воспроизводили у взрослых половозрелых крыс-самок по методу с использованием стрептозотоцина. Анализ полученных результатов позволяет констатировать, что у потомства матерей с экспериментальным диабетом 1 типа имело место нарушение сперматогенного цикла, что проявлялось в снижении весовых параметров половой железы, снижении площади паренхимы и увеличении площади стромы, в снижении площади семенных извитых канальцев, суммарного количества сперматогенных клеток и их субпопуляционного состава и, как следствие, уменьшение индекса сперматогенеза, а также снижении клеточного индекса, представляющего собой отношение суммарного количества сперматогенных клеток к числу sustentocytes. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что у самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1 типа рождается потомство со сниженным стартом здоровья, в том числе репродуктивного.

Ключевые слова: сахарный диабет, потомство, семенники, сперматогенный цикл

Summary: Diabetes mellitus is one of the actual medical and social problems of modern society. Its growth is observed everywhere and acquires the features of an epidemic that covers most countries of the world. According to the WHO, there are currently about 200 million people with diabetes in the world. However, there is no doubt that diabetes affects many organs and life support systems. The role of the mother's diabetes in the violation of the morphogenesis of various organs and systems of the posterity is still not clear. In this regard, the purpose of this research was to analyze the characteristics of the spermatogenic cycle of the posterity of female rats with experimental type 1th diabetes in the early neonatal period. The object of the research was the posterity of female rats with experimental type 1th diabetes in the early neonatal period (on the first day after birth). Diabetes was modeled in adult mature female rats according to the technique using streptozotocin. An analysis of the results allows us to state that posterity of mothers with experimental type 1th diabetes have a violation of the spermatogenic cycle, which is manifested in reducing the weight parameters of the sex gland, reducing the area of the parenchyma and increasing the area of the stroma, reducing the area of the seminiferous tubules, the total number of spermatogenic cells and their subpopulation composition and, as a result, a decrease in the spermatogenesis index, as well as a decrease in the cell index. It is the ratio of the total number of spermatogenic cells to the number of sustentocytes. Thus, the results indicate that the rat's offspring with reduced start of health including reproductive is born in female rats with experimental type 1th of the diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, offspring, testicles, spermatogenic cycle

Введение. Репродуктивное здоровье является одним из важнейших показателей, характеризующих воспроизводство населения и в современной морфологии проблеме профилактики его нарушения у лиц мужского пола на разных структурных уровнях уделяется значительное внимание [1-2]. Актуальность настоящего исследования

обусловлена повсеместным ростом заболеваемости сахарным диабетом, включая женщин фертильного возраста [3]. Вместе с тем, многочисленными клиническими наблюдениями показано, что у женщин с сахарным диабетом рождается физиологически незрелое потомство с выраженными признаками диабетической фетопатии [4]. Врожденные пороки встречаются в 3-4 раза чаще, чем при физиологической беременности. Предполагают, что уже на ранних этапах беременности гипергликемия нарушает формирование многих органов, в том числе сердца, почек, мозга, кишечника [5]. При этом отмечается высокая перинатальная смертность, повышенная частота неонатальных осложнений и врожденных пороков развития [6]. В то же время, в доступной литературе не удалось встретить данных об особенностях становления сперматогенеза у потомства матерей с сахарным диабетом 1 типа.

Цель исследования – анализ особенностей сперматогенного цикла в ранний неонатальный период у потомства самок крыс с экспериментальным диабетом 1 типа.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на белых лабораторных крысах Вистар (самках) и их новорожденном потомстве. Для достижения поставленной цели у взрослых лабораторных животных моделировался сахарный диабет 1 типа. Сахарный диабет создавали по методу с использованием стрептозотоцина [7], который вводили внутривентриально трижды с интервалом 7 дней. Всего лабораторные животные за весь курс получали по 17 мг стрептозотоцина. Под влиянием стрептозотоцина у лабораторных животных развивался сахарный диабет, о чем свидетельствовал, прежде всего, повышенный уровень содержания глюкозы в крови ($32,56 \pm 2,44$ ммоль/л), который сохранялся на протяжении, как минимум, трех месяцев. Эту группу (группа О) составили 12 новорожденных крысят из 9 пометов. Контрольную группу (группа К) составили 10 новорожденных крысят из 8 пометов. Работа с лабораторными животными проводилась в соответствии с действующими международными правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных.

У лабораторных животных интактной и опытной групп проводился цитологический анализ зародышевых клеток семенников. Оценка сперматогенного эпителия проводилась на серийных гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Морфометрически проводилось определение площади паренхимы и стромы семенников, семенных извитых канальцев, суммарного количества сперматогенных клеток и их субпопуляционного состава из расчета на один извитой семенной каналец. Оценке подлежали 30 строго поперечных срезов извитых семенных канальцев, в каждом из которых осуществлялся суммарный подсчет клеток сперматогенного эпителия. Согласно данным литературы, наиболее чувствительным морфологическим критерием активности сперматогенеза является содержание сперматогоний в извитых семенных канальцах и их субпопуляционный состав [8-9]. Подсчет сперматогоний проводился с определением числа активных (сперматогонии А) и неактивных (сперматогонии В) сперматогоний [9-10]. Учитывая, что в каждом семенном извитом канальце имеются сперматогонии, которые не могут быть отнесены по морфологическим признакам ни к активным (А) и ни к неактивным (В) клеткам, принято выделять промежуточные (П) формы сперматогоний, что позволяет более точно оценить особенности сперматогенного цикла у экспериментальных животных [9, 11]. Цитологический анализ клеток сперматогенного эпителия производился при увеличении в 400 раз (окуляр x10; объектив x40). Кроме того, для оценки более тонких нарушений сперматогенного цикла экспериментальных животных проводилось определение индекса сперматогенеза (отношение числа слоев сперматогенного эпителия к числу подсчитанных канальцев), индекса напряженности сперматогенеза (индекс релаксации сперматогенеза), клеточный индекс (отношение суммарного содержания зародышевых клеток различных типов, в том числе сперматогоний, сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов, к числу sustentоцитов) и герминативного индекса (отношение числа сперматогоний к числу sustentоцитов). Полученные результаты были статистически обработаны с использованием программы Statistica v.6.0. Учитывая

небольшую выборку животных, достоверность полученных результатов определялась при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования и обсуждение. Установлено, что у новорожденных крысят от матерей с экспериментальным сахарным диабетом весовой индекс семенников снижен по сравнению с контролем. Так, если у интактных крысят весовой индекс семенников составил $0,09 \pm 0,004\%$, то у подопытных животных исследуемый показатель составил всего $0,06 \pm 0,003\%$ ($p < 0,001$). Вместе с тем, у подопытных крысят выявлено увеличение толщины соединительнотканной капсулы яичка ($48,66 \pm 1,77$ мкм, $p = 0,007$) по сравнению с контролем ($38,30 \pm 3,2$ мкм). Одним из показателей, отражающих морфофункциональное состояние органа, является соотношение площади паренхимы и стромы семенника. Установлено, что у подопытных животных имеет место снижение площади паренхимы ($19174 \pm 686,4$ мкм², $p = 0,036$) и увеличение площади стромы ($16346 \pm 686,4$ мкм², $p = 0,036$) семенников по сравнению с группой сравнения (соответственно $21160 \pm 335,39$ мкм² и $14360 \pm 335,39$ мкм²). В связи с этим, коэффициент, отражающий отношение площади паренхимы семенника к строме, у подопытных животных оказался более низким ($1,305 \pm 0,09$, $p = 0,036$) по сравнению с контролем ($1,486 \pm 0,059$). Эти данные согласуются с результатами, полученными при анализе площади семенных извитых канальцев. При этом у новорожденных крысят от матерей с экспериментальным сахарным диабетом имеет место снижение величины площади ($1766 \pm 52,97$ мкм², $p < 0,001$) семенных извитых канальцев по сравнению с группой контроля ($2212 \pm 76,43$ мкм²).

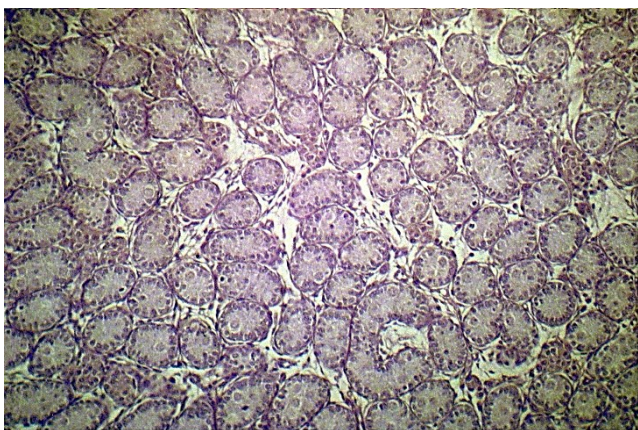


Рис. 1. Семенник новорождённого крысёнка контрольной группы. Окр.: гематоксилином-эозином. Ув.: x100.

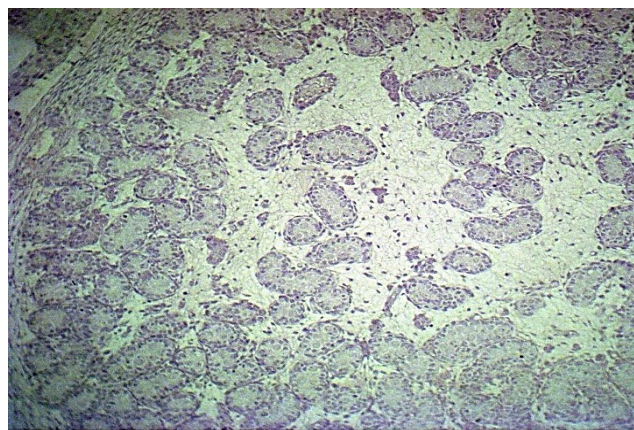


Рис. 2. Семенник новорождённого крысёнка опытной группы. Повышено содержание соединительнотканного компонента и снижено содержание паренхимы. Окр.: гематоксилином-эозином. Ув.: x100.

Одним из важнейших критериев состояния сперматогенного цикла является показатель суммарного содержания сперматогенных клеток и их субпопуляционный состав [11]. Как видно из таблицы 1, у подопытных крысят наблюдается снижение как суммарного содержания сперматогенных клеток, так и общего количества сперматогоний и их разновидностей. Выявленные изменения сперматогенного эпителия обусловили снижение у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом индекса сперматогенеза ($1,39 \pm 0,013$, $p < 0,001$) по сравнению с контролем ($1,69 \pm 0,037$). Эти данные находятся в полном соответствии с изменением герминативного индекса. В частности было установлено уменьшение ($1,84 \pm 0,101$, $p = 0,001$) данного показателя у потомства опытной группы животных по сравнению с группой контроля ($2,4 \pm 0,085$).

На фоне изменения субпопуляционного состава сперматогоний у подопытных животных произошло снижение содержания сперматоцитов. Так, установлено, что у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом содержание сперматоцитов из расчета на один семенной извитой каналец снижено по сравнению с интактной группой.

Согласно современным представлениям, в регуляции процесса сперматогенеза у млекопитающих активное участие принимают клетки Сертоли. В частности показано, что клетки Сертоли создают специальное микроокружение, необходимое для направленной дифференцировки сперматогенных стволовых клеток, лежащих на базальной мембране семенных извитых канальцев [12].

Таблица 1

Клеточный состав сперматогенного эпителия ($M \pm m$)

| Название группы | Суспен-тоциты | Содержание сперматогоний | | | | Сперма-тоциты | Суммарное содержание сперматогенных клеток |
|-----------------|-----------------|--------------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|--|
| | | A | П | В | Σ | | |
| Конт-роль | 4,12 \pm 0,03 | 6,93 \pm 0,33 | 2,55 \pm 0,17 | 0,41 \pm 0,02 | 9,89 \pm 0,32 | 0,79 \pm 0,05 | 10,68 \pm 0,30 |
| | | 69,86 \pm 1,69% | 25,91 \pm 1,56% | 4,23 \pm 0,31% | | | |
| Опыт | 4,08 \pm 0,09 | 5,48 \pm 0,25* | 1,68 \pm 0,27* | 0,28 \pm 0,01* | 7,43 \pm 0,28* | 0,54 \pm 0,04* | 7,97 \pm 0,28* |
| | | 74,17 \pm 3,42% | 22,10 \pm 3,29% | 3,73 \pm 0,16% | | | |

Примечание: * - результаты статистически достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

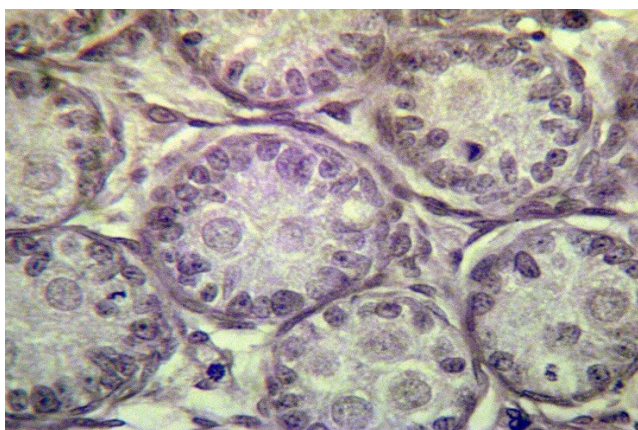


Рис. 3. Семенник новорождённого крысёнка контрольной группы. Окр.: гематоксилином-эозином. Ув.: $\times 400$.

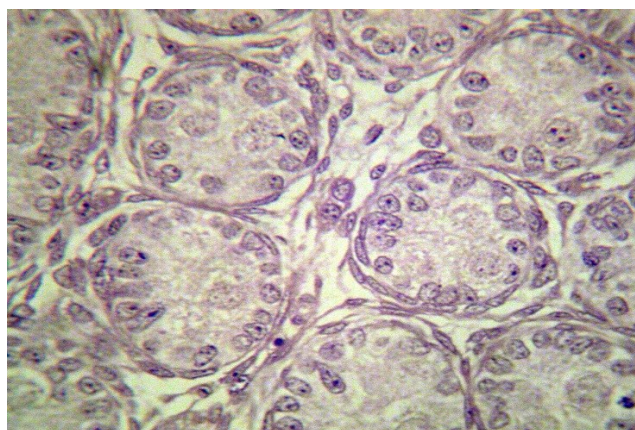


Рис. 4. Семенник новорождённого крысёнка опытной группы. Снижено количество сперматогенных клеток в семенных извитых канальцах. Окр.: гематоксилином-эозином. Ув.: $\times 400$.

Установлено, что содержание суспен-тоцитов из расчета на один семенной извитой каналец у экспериментальных животных опытной и интактной групп практически не отличалось. При этом индекс напряжённости сперматогенеза, отражающий отношение суммарного количества сперматогенных клеток к содержанию суспен-тоцитов, в силу изменения суммарного количества сперматогенных клеток у подопытных животных оказался существенно сниженным ($1,97 \pm 0,102$, $p = 0,001$) по сравнению с контролем ($2,59 \pm 0,08$). Логично предположить, что выявленное снижение процентного содержания суспен-тоцитов в семенных извитых канальцах подопытных животных может явиться одной из причин нарушения сперматогенного цикла у потомства.

Известно, что суспен-тоциты оказывают существенное влияние на процессы пролиферации и дифференцировки зародышевых клеток. Экспериментальными работами показано, что при сахарном диабете могут изменяться свойства мембран клеток [13]. Выявленные нарушения сперматогенного цикла у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа могут быть обусловлены, прежде всего, снижением соотношения числа суспен-тоцитов к суммарному содержанию развивающихся половых клеток и их субпопуляционного состава. Изменение регуляторного влияния со

стороны сустентоцитов, в свою очередь, может обусловить нарушения пролиферации клеток сперматогенного эпителия и, как следствие, привести к уменьшению числа зародышевых клеток. В целом полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что у самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа рождается потомство с нарушенным стартом здоровья, в том числе репродуктивного.

Заключение. Таким образом, установлено, что у самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа рождается потомство с нарушением морфофункционального состояния сперматогенного цикла, что находит свое проявление в снижении суммарного количества сперматогенных клеток и их субпопуляционного состава, и, как следствие, в уменьшении индекса сперматогенеза и герминативного индекса.

Авторы сообщают об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования.

Литература References

1. Khayrullin RM, Tikhonov DA, Mirin AA, Svitaylo MP. *Anatomo-antropologicheskie pokazateli fizicheskogo razvitiya i reproduktivnogo zdorov'ya u yunoshey*. Morfologiya. 2009;136(4):146a.
2. Sulaymanova RT. *Morfometricheskie pokazateli semennikov potomstva pri vozdeystvii sinestrola v prenatal'ny period*. Morfologiya. 2019;155(2):273-274.
2. Koluell DzhA. *Sakharnyy diabet: novoe v lechenii i profilaktike*. M.: Binom: Laboratoriya znaniy, 2007.- 288s.
3. *Sakharnyy diabet: diagnostika, lechenie, profilaktika*. Pod red. I.I. Dedova, M.V. Shestakovoy. M.: OOO «Izdatel'stvo «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo», 2011.- 808s.
4. Piter-Kharmel E, Matur R. *Sakharnyy diabet: diagnostika i lechenie*. Moskva: Praktika, 2008.- 496s.
5. *Sakharnyy diabet: ostrye i khronicheskie oslozhneniya*. Pod red. I.I. Dedova, M.V. Shestakovoy. M.: OOO «Izdatel'stvo «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo», 2011.- 408s.
7. Pozdnyakov OM, Kobozeva LP, Michunskaya AB, Onishchenko NA, Volodina AV, Klimenko ED, Plakhotniy MA, Zakir'yanov AR. *Diabeticheskie oslozhneniya u krys pri dlitel'nykh srokakh modelirovaniya sakharnogo diabeta 1-go tipa*. Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. 2007;4:21-25.
8. Ivanov YuV. *Tsitologicheskie kriterii sostoyaniya spermatogeneza v toksikologo-gigienicheskikh issledovaniyakh*. Gigiena i sanitariya. 1984;4:52-55.
9. Burnashova SA, Gabaeva NS, Danilova LV, Knyazeva EF, Kostomarova AA, Raytsina SS. *Sovremennye problemy spermatogeneza*. M.: Nauka, 1982.- 260s.
10. Ivanova LA, Kartashev AG. *Dinamika spermatogeneza u belykh myshey razlichnykh vozrastnykh grupp*. Fiziologicheskii zhurnal. 1990;36(6):63-69.
11. Ukhov YuI, Astrakhantsev AF. *Morfometricheskie metody v otsenke funktsional'nogo sostoyaniya semennikov*. Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii. 1983;3:66-72.
12. Shinohara T, Orwig KE, Avarbock MR, Brinster RL. *Restoration of Spermatogenesis in Infertile Mice by Sertoli Cell Transplantation*. Biol Reprod. 2003;68(3):1064-1071.
13. Stolbovskaya O.V., Khairullin R.M., Kostishko B.B., Pchelintseva E.S., Krasnikova E.S., Fomin A.A., Skaptsov A.A. *V sbornike: Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE 3. Ser. «Saratov Fall Meeting 2015 - Third International Symposium on Optics and Biophotonics; and Seventh Finnish-Russian Photonics and Laser Symposium (PALS)»*. 2016. С. 99171P.

Авторская справка

Брюхин Геннадий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: bgenvas@mail.ru

Антонов Сергей Дмитриевич, соискатель кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия; e-mail: s.d.antonov@mail.ru