

Структурные и органометрические изменения яичников в условиях темновой депривации

Лариса Игоревна Кондакова ✉, Светлана Александровна Калашникова,
Елена Антоновна Калашникова

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

Аннотация. В эксперименте на белых беспородных половозрелых крысах-самках (в возрасте 4 месяцев) изучено влияние 30-суточной темновой депривации (свето-темновой цикл 24/0 ч, искусственное освещение 300 Лк) на яичники. Установлено, что 30-дневная темновая депривация приводит к атрезии фолликулов, уменьшению количества первичных, вторичных, третичных фолликулов, желтых тел на 19,8 % ($p < 0,05$), 36,3 % ($p < 0,05$), 38,2 % ($p < 0,05$), 37,4% ($p < 0,05$) соответственно. Выявлено уменьшение площади желтых тел, лютеоцитов на 23 % ($p < 0,05$), 13,5 % ($p < 0,05$) соответственно.

Ключевые слова: яичники, преждевременное старение, темновая депривация

Structural and organometric changes of ovaries in conditions of dark deprivation

Larisa I. Kondakova ✉, Svetlana A. Kalashnikova,
Elena A. Kalashnikova

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

Abstract. The effect of 30-day dark deprivation (light-dark cycle 24/0 h, artificial illumination 300 Lux) on the ovaries was studied in an experiment on white mongrel sexually mature female rats (aged 4 months). It was found that 30-day dark deprivation leads to follicle atresia, a decrease in the number of primary, secondary, tertiary follicles, yellow bodies by 19.8 % ($p < 0.05$), 36.3 % ($p < 0.05$), 38.2 % ($p < 0.05$), 37.4 % ($p < 0.05$) respectively. A decrease in the area of yellow bodies and luteocytes was revealed by 23 % ($p < 0.05$), 13.5 % ($p < 0.05$) respectively.

Keywords: ovaries, premature aging, dark deprivation

Согласно данным Росстата, в первом полугодии 2023 года в России отмечается снижение рождаемости на 2,3 % по сравнению с первым полугодием 2022 года [1]. Эта тенденция может быть обусловлена отсрочкой материнства: родами у женщин после 30 лет [2], что частично объясняется более высоким уровнем дохода и образования, а также негативными условиями труда: работа в ночную смену приводит к нарушению выработки мелатонина и половых гормонов [3]. Световое загрязнение приводит к нарушению синтеза мелатонина, тем самым приводя к нарушению созревания ооцита, ановуляции и раннему прекращению репродуктивной функции [4, 5]. Поэтому ранняя диагностика и коррекция вышеуказанных изменений в женской репродуктивной системе в условиях темновой депривации можно рассматривать как резерв по повышению рождаемости. Изучение новых маркеров преждевременного старения становится актуальным.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить влияние преждевременного старения, вызванного темновой депривацией на морфометрические показатели яичников крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 18 белых беспородных половозрелых крысах-самках (в возрасте 4 месяцев), полученных из питомника филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область). Животные содержались в клетках для крыс при температуре окружающей среды 25 °С со свободным доступом к пище и воде. Экспериментальный протокол был одобрен локальным этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета (справка от 25.11.2022 № 2022/164). После двух недель адаптации и синхронизации эстральных циклов, экспериментальные крысы были случайным образом разделены на три группы для изучения

влияния темновой депривации и ее отмены на яичники животных. Первая группа – контрольная ($n = 6$), самки в течение 30 суток находились в 12/12-часовом цикле свет/темнота [искусственное освещение (300 Люкс)], с 31-го по 45-й день внутрижелудочного вводили 2%-ю крахмальную слизь. Группа вторая – опытная ($n = 12$), самки в течение 30 суток находились при 24-часовом искусственном освещении (300 Люкс). Группе второй ($n = 6$) с 31-го по 45-й день внутрижелудочного вводили 2%-ю крахмальную слизь [6, 7].

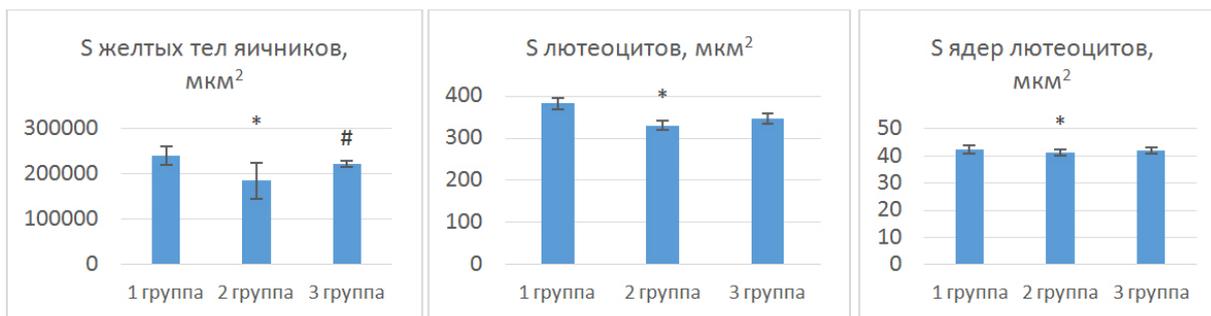
Для микроскопической оценки ткани яичников фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине, помещали в парафин, выполняли на микротоме срезы толщиной 5 мкм, окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Срезы исследовали с помощью микроскопа Leica DM 1000 (Германия). Проводили количественный и качественный анализ фолликулярного аппарата яичников. Морфометрический анализ проводили с помощью программного комплекса LAS v.4.7 на базе микроскопа Leica DM 1000, Германия, подключенного к компьютерной системе. Морфометрическими параметрами, включенными в это исследование, были площадь желтых тел яичников, площадь лютеоцитов теки, их ядер, площадь лютеоцитов желтого тела яичника, их ядер, а также количество различных типов фолликулов яичников. Морфометрический анализ проводили на предметных стеклах, окрашенных гематоксилином Майера и эозином. Площадь ядра измерялась при увеличении $\times 100$. Параметры изображений появлялись автоматически в виде таблицы в микрометрах, и, наконец, определялось общее количество всех исследованных параметров.

Данные анализировались с помощью GraphPad Prism 8.0. Значимые различия между группами были определены с помощью однофакторного дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса с апостериорным критерием Данна. Все образцы были проверены на нормальность по тесту Шапиро – Уилка. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Круглосуточное искусственное освещение в течение 30 суток привело к утолщению белочной оболочки, однослойный поверхностный эпителий представлен клетками кубической формы. Фолликулы яичников были смещены глубже к мозговому веществу, снижению количества фолликулов, были обнаружены атретические фолликулы. Примордиальные фолликулы в корковом веществе яичника крысы располагались преимущественно одиночно. Их количество уменьшилось на 11,2 % ($p < 0,05$). Также было выявлено изменение количества первичных, вторичных, третичных фолликулов, а именно их уменьшение на 19,8 % ($p < 0,05$), 36,3 % ($p < 0,05$), 38,2 % ($p < 0,05$) соответственно. Количество атретических фолликулов увеличилось на 51,1 % ($p < 0,05$).

Отмечается уменьшение количества желтых тел яичников на 37,4 % ($p < 0,05$). Желтые тела были меньшего размера, их площадь уменьшилась на 23 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. Одновременно с этим были уменьшена и площадь лютеоцитов, и их ядер на 13,5 % ($p < 0,05$) и 2,7 % ($p < 0,05$) соответственно (см. рис.).



* $p < 0,05$ – по отношению к показателю животных контрольной группы;

$p < 0,05$ – по отношению к показателю животных опытной группы (ранговый однофакторный анализ Краскела – Уоллиса, критерий Данна).

Рис. Морфометрические параметры желтых тел яичников крыс с ускоренным старением, вызванным 30-дневной темновой депривацией (свето-темновой цикл 24/0 ч), $M \pm m$

Морфологические изменения были обнаружены в лютеоцитах теки в виде уменьшения их площади и площади ядер на 4,6 и на 8,5 %.

Результаты морфологического исследования яичников через 14 дней после 30-суточной темновой депривации показали увеличение количества первич-

ных, вторичных, третичных фолликулов на 13,4 % ($p < 0,05$), 21,3 % ($p < 0,05$), 27,4 % ($p < 0,05$) соответственно, а также уменьшение количества атретических фолликулов на 23,6 % ($p < 0,05$). Выявлено увеличение количества желтых тел на 12,5 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. Наряду с этим отмечается

увеличение площади желтых тел, лютеоцитов желтого тела яичника, ядер лютеоцитов на 19,98 % ($p < 0,05$), 4,87 % ($p < 0,05$) и 1,65 % ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с группой 2 (см. рис.). Изменения выявлены и в лютеоцитах теки: увеличилась их площадь и на 2,97 % и площадь ядер на 4,05 %.

Морфологическое исследование яичников показало, что световой десинхроноз – 30-дневная темновая депривация сопровождается нарушением структурно-функциональной зрелости яичника в виде гипофункции, что подтверждается уменьшением общего количества фолликулов и их морфометрических показателей. Изменения в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси и непосредственно в яичниках могут быть обусловлены дисфункцией желтого тела, апоптозом в клетках яичника, что приводит к дефициту питательных веществ в клетках яичников и вызывает метаболические нарушения в микроокружении яичников, тем самым усугубляя снижение функции яичников и приводя к снижению овариального резерва и преждевременному старению яичников [8, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о том, что темновая депривация в течение 30 суток может ускорить старение яичников с помощью нескольких ключевых механизмов, включая апоптоз. Родственные антиоксиданты, такие как мелатонин, могут способствовать восстановлению функции яичников.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Демографический прогноз до 2035 года: Федеральная служба государственной статистики. URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/EDN_06-2023.htm (дата обращения 19.09.2023).
2. Выборочное наблюдение репродуктивных планов населения в 2022 году: Федеральная служба государственной статистики. URL: rosstat.gov.ru/free_doc/new_site/RPN22/reports.html (дата обращения 25.09.2023).
3. Wei T., Li C., Heng Y. et al. Association between night-shift work and level of melatonin: systematic review and meta-analysis. *Sleep Med.* 2020;75:502–509. doi: 10.1016/j.sleep.2020.09.018.
4. Анисимов В.Н., Виноградова И.А. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин. СПб.: Издательство «Система», 2008. 44 с.
5. Reiter R.J., Tamura H., Tan D.X., Xu X.Y. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. *Fertility and Sterility.* 2014;102(2):321–328. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.014.
6. Кондакова Л.И., Калашникова С.А., Полякова Л.В., Букатин М.В. Морфофункциональные изменения семенников крыс при преждевременном старении, вызванном темновой

депривацией. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* 2022;19(4):123–127. doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-123-127.

7. Кондакова Л.И., Багметова В.В., Сиротенко В.С., Доница А.Д. Влияние мелатонина на динамику массы тела и уровень белка Клото в крови у животных с преждевременным старением, вызванным темновой депривацией. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета.* 2022;19(4):110–117. doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-110-117.

8. Wang H., Wang L. Xiang W. Mechanisms of ovarian aging in women: a review. *Journal of Ovarian Research.* 2023;16:67. doi: 10.1186/s13048-023-01151-z.

9. Yang X., Wang W., Zhang Y. et al. Moxibustion improves ovary function by suppressing apoptosis events and upregulating antioxidant defenses in natural aging ovary. *Life Sciences.* 2019;229:166–172. doi: 10.1016/j.lfs.2019.05.040.

REFERENCES

1. Demographic forecast until 2035: Federal State Statistics Service. (In Russ.) URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/EDN_06-2023.htm (accessed: 19.09.2023).
2. Selective surveillance of population reproductive plans in 2022: Federal State Statistics Service. (In Russ.) URL: rosstat.gov.ru/free_doc/new_site/RPN22/reports.html (accessed: 25.09.2023).
3. Wei T., Li C., Heng Y. et al. Association between night-shift work and level of melatonin: systematic review and meta-analysis. *Sleep Med.* 2020;75:502–509. doi: 10.1016/j.sleep.2020.09.018.
4. Anisimov V.N., Vinogradova I.A. Aging of the female reproductive system and melatonin. St. Petersburg; Sistema Publishing House, 2008. 44 p. (In Russ)
5. Reiter R.J., Tamura H., Tan D.X., Xu X.Y. Melatonin and the circadian system: contributions to successful female reproduction. *Fertility and Sterility.* 2014;102(2):321–328. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.06.014.
6. Kondakova L.I., Kalashnikova S.A., Polyakova L.V., Bukatin M.V. Morphofunctional changes in rat testes during premature aging caused by dark deprivation. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University.* 2022;19(4):123–127. (In Russ.) doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-123-127.
7. Kondakova L.I., Bagmetova V.V., Sirotenko V.S., Donika A.D. The effect of melatonin on the dynamics of body weight and the level of Klotho protein in the blood of animals with premature aging caused 110 by dark deprivation. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Volgograd State Medical University.* 2022;19(4):110–117. (In Russ.) doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-4-110-117.
8. Wang H., Wang L. Xiang W. Mechanisms of ovarian aging in women: a review. *Journal of Ovarian Research.* 2023;16:67. doi: 10.1186/s13048-023-01151-z.
9. Yang X., Wang W., Zhang Y. et al. Moxibustion improves ovary function by suppressing apoptosis events and upregulating antioxidant defenses in natural aging ovary. *Life Sciences.* 2019;229:166–172. doi: 10.1016/j.lfs.2019.05.040.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Л.И. Кондакова – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; ✉ larisakondakova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9028-2993>

С.А. Калашникова – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой анатомии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>, kalashnikova-sa@yandex.ru;

Е.А. Калашникова – студентка 6-го курса 5-й группы лечебного факультета ВолГМУ; elenkalashnikova@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 26.09.2023; одобрена после рецензирования 30.09.2023; принята к публикации 15.02.2024.

Competing interests. The authors declare no conflicts of interests.

Information about the author

L.I. Kondakova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; ✉ larisakondakova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9028-2993>

S.A. Kalashnikova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Anatomy, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; kalashnikova-sa@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7688-9366>

E.A. Kalashnikova – 6th year student of the 5th group of the medical faculty of VolgSMU; elenkalashnikova@yandex.ru

The article was submitted 26.09.2023; approved after reviewing 30.09.2023; accepted for publication 15.02.2024.