

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕННИКОВ КРЫС ВИСТАР ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРАНДРОГЕНЕМИИ**

*С.Г. Васильева, В.А. Мхитаров, А.М. Косырева, О.В. Макарова*

Лаборатория иммуноморфологии воспаления  
НИИ морфологии человека РАМН, Москва

**В работе исследовали морфофункциональные изменения семенников крыс Вистар при остром грамотрицательном эндотоксикозе на фоне гиперандрогенемии. При остром эндотоксикозе на 1-е сут после введения липополисахарида (ЛПС) выявлено снижение уровня общего тестостерона в сыворотке крови, увеличение площади ядер клеток Лейдига и диаметров извитых семенных канальцев, на 7-е сут эти показатели нормализовались. При введении ЛПС на фоне гиперандрогенемии отмечались наиболее выраженные морфологические изменения, в том числе достоверное снижение индекса сперматогенеза, что отражает подавление сперматогенной функции.**

**Ключевые слова:** семенники, липополисахарид, гиперандрогенемия

В развитии острого эндотоксикоза при инфекционно-воспалительных процессах, вызванных грамотрицательной бактериальной флорой, ключевую роль играет липополисахарид (ЛПС). По данным многочисленных клинических и экспериментальных исследований патогенетической основой острого эндотоксикоза являются микроциркуляторные нарушения: расширение и полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, повышение проницаемости сосудистой стенки, адгезия и агрегация форменных элементов с формированием ДВС-синдрома. Изменение кровообращения обуславливают развитие ишемических и метаболических нарушений во всех органах и тканях, но наиболее выражены они в органах-мишенях: печени, тонкой и толстой кишке, легких, почках [1]. Данные литературы об органопатологии при бактериальном эндотоксикозе ограничиваются, главным образом, органами-мишенями. В то время как влияние эндотоксикоза на репродуктивную систему изучено недостаточно. Между тем этот вопрос имеет важное значение для клинической практики. Немногочисленные исследования показывают, что тестикулярный стероидогенез и сперматогенез ингибируются при острых и хронических инфекционных воспалительных заболеваниях, но механизмы этих процессов остаются не ясными [4].

По данным литературы половые стероиды и, в частности, тестостерон модулируют течение воспалительных реакций. Тестостерон и его метаболит дигидротестостерон оказывают супрессивный эффект на иммунную систему [8]. В клинической практике нередко используются андрогены, например, в контрацепции, при заместительной гормональной терапии, хронической почечной недостаточности, остеопорозе и др. [6, 7, 9]. Однако влияние андрогенов на морфофункциональное состояние сперматогенеза при воздействии липополисахарида в условиях гиперандрогенемии не изучены.

Целью работы было изучение морфофункциональных изменений семенников крыс Вистар при остром грамотрицательном бактериальном эндотоксикозе на фоне гиперандрогенемии.

### **Материалы и методы**

В эксперименте использовали 35 половозрелых самцов крыс Вистар массой тела 220-240 г., полученных из питомника «Столбовая». При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Минздрава СССР №755 от 12.08.1977г. На проведение эксперимента получено разрешение биоэтической комиссии НИИ морфологии человека РАМН (протокол №5 от 12.03.2007).

Животные были разделены на 7 групп: контрольная (интактные самцы); опытная – внутрибрюшинное введение ЛПС (1,5 мг/кг, Escherichia coli штамм O26:B6, производство фирмы «Sigma», США), 1-е и 7-е сут после введения; группа сравнения - введение препарата тестостерона

(омнадрен 250, 165 мг/кг), 14-е и 21-е сут после введения; опытная - введение ЛПС на фоне гиперандрогенемии, 1-е и 7-е сут после введения ЛПС. В целях изучения особенностей морфологических изменений в семенниках на фоне гиперандрогенемии крысам Вистар внутримышечно однократно вводили препарат пролонгированного действия омнадрен 250 (масляный раствор тестостерона пропионата, тестостерона фенилпропионата, тестостерона изокапроната, тестостерона капроната) в дозе 165мг/кг массы тела.

Животных выводили из эксперимента передозировкой диэтилового эфира. Гистологические срезы семенников окрашивали гематоксилином и эозином. Морфофункциональное состояние семенников оценивали по морфологическим и морфометрическим критериями: диаметр извитых семенных канальцев, площадь ядер клеток Лейдига, индекс сперматогенеза. Для вычисления индекса сперматогенеза на гистологических препаратах семенников в 100 поперечно ориентированных срезах извитых семенных канальцев, подсчитывали среди них число канальцев, содержащих 4 стадии развития половых клеток (сперматогонии, сперматоциты, сперматиды и сперматозоиды), 3 стадии (сперматогонии, сперматоциты и сперматиды), 2 стадии (сперматогонии и сперматоциты) и 1 стадию (сперматогонии). Индекс сперматогенеза считали по формуле  $ИС = (4*a_4 + 3*a_3 + 2*a_2 + a_1)/100$ , где  $a_4$  – число канальцев, содержащих 4 стадии развития половых клеток,  $a_3$  – 3 стадии,  $a_2$  – 2 стадии,  $a_1$  – 1 стадию [2]. Диаметры семенных канальцев и площади ядер клеток Лейдига измеряли при помощи морфометрической программы ImagePro 6.0. Определение содержания общего тестостерона в сыворотке крови проводили методом твердофазного ИФА с помощью тест-систем фирмы «Adaltis». Проводили статистическую обработку полученных результатов. С учетом нормальности распределения статистическую значимость различий сравниваемых параметров оценивали с использованием t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни.

### **Результаты и их обсуждение**

Данные, характеризующие уровень общего тестостерона и морфометрическую характеристику семенников крыс Вистар в контрольной, опытной и группах сравнения, представлены в таблице 1. Через 1 сут после введения ЛПС уровень общего тестостерона в сыворотке крови крыс опытной группы снижался, по сравнению с контрольной в 10 раз. В опытной группе животных отмечалось увеличение диаметра извитых семенных канальцев, что, по-видимому, обусловлено нарушением функционального состояния миоидных клеток, расположенных за базальной мембраной извитых семенных канальцев. При морфологическом исследовании в этой группе выявлены расширение сосудов микроциркуляторного русла, стазы, сладжи, полнокровие. Индекс сперматогенеза не отличался от показателей контрольной группы. Площади ядер клеток Лейдига, наоборот, через 24 ч после введения ЛПС статистически значимо увеличивались. Вероятно, это вызвано компенсаторным усилением функциональной активности клеток Лейдига по механизму отрицательной обратной связи.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика семенников и уровень общего тестостерона крыс Вистар контрольной, опытной и групп сравнения (M±SE)

| Группа наблюдений<br>Параметры                     | Контрольная | ЛПС 1-е сут             | ЛПС 7-е сут             | Омнадрен<br>14-е сут     | Омнадрен<br>21-е сут    | Омнадрен +<br>ЛПС 1-е сут            | Омнадрен +<br>ЛПС 7-е сут        |
|--|-------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|
| Общий тестостерон, нг/мл                           | 2,01 ± 0,55 | 0,22 ± 0,12<br>(p<0,05) | 1,89 ± 0,86<br>(p>0,05) | 14,56 ± 1,65<br>(p<0,05) | 9,6 ± 2,3<br>(p<0,05)   | 4,14 ± 0,41<br>(p<0,05, p1<<br>0,05) | 3,73 ± 0,18<br>(p<0,05, p1<0,05) |
| Диаметр канальцев (мкм)                            | 227,13±2,63 | 232,78±2,47<br>(p<0,05) | 214,33±2,47<br>(p<0,05) | 231,71±2,53<br>(p<0,05)  | 226,11±2,43<br>(p>0,05) | 240,67±2,75<br>(p<0,05,<br>p1<0,05)  | 225,86±2,52<br>(p>0,05, p1>0,05) |
| Площадь ядер клеток<br>Лейдига( мкм <sup>2</sup> ) | 28,98±0,65  | 31,22±0,79<br>(p<0,05)  | 29,38±0,72<br>(p>0,05)  | 22,96±0,73<br>(p<0,05)   | 21,20±0,55<br>(p<0,05)  | 25,08±0,74<br>(p<0,05,<br>p1<0,05)   | 18,10±0,62<br>(p<0,05, p1<0,05)  |
| Индекс сперматогенеза                              | 3,34 ±0,04  | 3,30 ±0,02<br>(p>0,05)  | 3,35 ±0,04<br>(p>0,05)  | 3,33 ±0,02<br>(p>0,05)   | 3,37 ±0,03<br>(p>0,05)  | 3,27 ±0,02<br>(p<0,05,<br>p1<0,05)   | 3,36 ±0,03<br>(p>0,05, p1>0,05)  |

p – статистически значимые различия с контролем

p1– статистически значимые различия с группой сравнения  
(омнадрен 14-е сут и омнадрен 21-е сут)

На 7-е сут после введения ЛПС уровень общего тестостерона в сыворотке крови увеличивался, по сравнению с группой крыс через 24 ч после введения ЛПС и не обнаруживал статистически значимых различий с контрольной группой. Показатели диаметров извитых семенных канальцев уменьшались по сравнению с таковыми в контрольной группе. Площади ядер клеток Лейдига и индекс сперматогенеза статистически достоверно не отличались от значений контрольной группы.

На 14-е сут после введения омнадрена уровень общего тестостерона в сыворотке крови увеличивался в 7 раз. Диаметры семенных извитых канальцев увеличивались, а площади ядер клеток Лейдига уменьшались, что свидетельствует об угнетении синтетической активности тестостерон-продуцирующих клеток. Показатели индекса сперматогенеза не отличались от показателей контрольной группы животных. На 21-е сут состояние гиперандрогенемии сохранялось, хотя уровень тестостерона становился выше контрольного в 4 раза. Показатели площадей ядер клеток Лейдига были меньше, чем в контрольной группе, величина диаметров семенных извитых канальцев возвращалась к норме.

На 1-е сут после введения ЛПС на фоне гиперандрогенемии диаметр канальцев был статистически значимо выше по сравнению с контролем и значениями группы сравнения. Таким образом, признаки альтерации семенных канальцев при воздействии эндотоксина на фоне гиперандрогенемии были более выраженными. На 7-е сут этот параметр был сопоставим с таковым в интактной группе. Уровень тестостерона в сыворотке крови уменьшался в 3 раза, по сравнению с группой сравнения, но оставался выше, чем в контрольной группе. Площади ядер клеток Лейдига через 24 часа были меньше, чем в контрольной группе, но больше, чем в группе сравнения, что соответствует уровням тестостерона в сыворотке крови. На 7-е сут оба показателя прогрессирующе снижались. Индекс сперматогенеза на 1-е сут был ниже, чем в контроле и группе сравнения, что свидетельствует о подавлении сперматогенеза. На 7-е сут этот показатель не обнаруживал статистически достоверных различий с контролем и группой сравнения.

На экспериментальной модели острого эндотоксикоза показано, что после введения ЛПС уровень тестостерона в сыворотке крови уменьшается в 10 раз, а на 7-е сут отмечается тенденция к нормализации показателя. По литературным данным у крыс Спрейг-Доули пик ингибирующего эффекта ЛПС-индуцированного воспаления на продукцию тестостерона наблюдается через 6 часов после введения эндотоксина [4]. Через 24 часа уровень временно возвращается к нормальному, при этом до и после этого временного интервала концентрация тестостерона в сыворотке крови снижена в соответствии с двухфазной секрецией этого гормона. Известно, что имеются межвидовые различия в ответе клеток Лейдига на ЛПС. У мышей наблюдается более быстрое начало и более пролонгированная супрессия продукции тестостерона [5]. В нашем эксперименте мы наблюдали значительное снижение уровня тестостерона, что свидетельствует о наличии внутривидовых различий в ответе клеток Лейдига на введение эндотоксина.

На фоне снижения уровня тестостерона наблюдалось компенсаторное усиление синтетической активности клеток Лейдига, о чем свидетельствует увеличение показателей площади их ядер. К 7-м сут этот параметр не отличался от контрольных значений, также отмечалась тенденция к нормализации уровня тестостерона.

Для индукции гиперандрогенемии использовали введение омнадрена в дозе 165 мг/кг. Этот препарат обладает пролонгированным действием, поэтому уровень тестостерона на 14-е сут после введения препарата был повышен в 7 раз, а на 21-е сут - в 4,5 раза, по сравнению с контрольной группой. Дозу введенного тестостерона можно расценивать как супрафизиологическую, так как по литературным данным колебания тестостерона в сыворотке крови крыс Вистар в разных физиологических состояниях составляет от 3 до 10 нг/мл [3]. На 14-е сут после введения омнадрена наблюдалось подавление синтетической активности клеток Лейдига (площади ядер клеток Лейдига уменьшались), а индекс сперматогенеза не обнаруживал статистических различий с контролем. На 21-е сут эти параметры оставались примерно на таком же уровне. На 14-е сут после введения препарата тестостерона диаметры семенных извитых канальцев увеличивались, не обнаруживая статистически достоверных различий с контролем на 21-е сут.

При введении ЛПС на фоне гиперандрогенемии уровень тестостерона на 1-е сут был выше контрольного в 2 раза и ниже, чем в группе сравнения (омнадрен 14-е сут) в 3,5 раза. ЛПС-индуцированное воспаление вызывало снижение уровня общего тестостерона в сыворотке крови и

компенсаторное усиление синтетической активности клеток Лейдига. На 7-е сут после введения ЛПС содержание тестостерона в сыворотке крови снижалось, при этом показатели площадей ядер клеток Лейдига тоже снижались. Это может быть связано с тем, что клетки Лейдига при гиперандрогенемии подвергаются более длительной супрессии, чем при остром бактериальном эндотоксикозе. О подавлении сперматогенной функции свидетельствует снижение индекса сперматогенеза по сравнению с контролем и группой сравнения. На 1-е сут после введения ЛПС наблюдалось большее увеличение диаметров извитых семенных канальцев, по сравнению с другими группами. На 7-е сут оба параметра не обнаруживали статистически значимых различий с контролем и группой сравнения. Таким образом, на 1-е сут после введения ЛПС на фоне гиперандрогенемии наблюдались наиболее выраженные морфологические изменения семенников.

### **Выводы**

1. На экспериментальной модели острого эндотоксикоза показано, что на 1-е сут после введения ЛПС снижается уровень тестостерона в сыворотке крови в 10 раз, а на 7-е сут отмечается тенденция к нормализации этого показателя. На фоне уменьшения уровня тестостерона в сыворотке крови площадь ядер клеток Лейдига и их синтетическая активность увеличивается, к 7-м сут при нормализации уровня тестостерона не отличается от контрольных значений.
2. В эксперименте при гиперандрогенемии, индуцированной введением омнадрена (в дозе 165 мг/кг), у крыс Вистар уровень тестостерона на 14-е сут повышен в 7 раз, а на 21-е сут – в 4,5 раза. По данным морфометрического исследования семенников гиперандрогенемия вызывает уменьшение площади ядер клеток Лейдига, что свидетельствует о подавлении эндокринной функции семенников.
3. Наиболее выраженные морфологические изменения наблюдаются в группе введения ЛПС на фоне гиперандрогенемии. Статистически достоверное снижение индекса сперматогенеза и, соответственно, замедление сперматогенеза наблюдается только в одной группе животных: на 1-е сут после введения эндотоксина на фоне гиперандрогенемии.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Писарев В. Б. Бактериальный эндотоксикоз: взгляд патолога. / Н.В. Богомолова, В.В. Новочадов.- Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2008.— 208 с.
2. Ухов Ю. И. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников / А.Ф. Астраханцев // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии.- 1983.- Т. LXXXIV, № 3.- С.66-72.
3. A study of the prostate, androgens and sexual activity of male rats M.E. Hernandez et al. // Reprod Biol Endocrinol. - 2007.- Vol. 16, № 5:11.
4. Bacterial lipopolysaccharide-induced inflammation compromises testicular function at multiple levels in vivo / M.K. O'Bryan et al. // Endocrinology.- 2000.- Vol.141, №1.- P. 238–246.
5. Hales D.B. Role of cytokines in testicular function / T. Diemer, K.H. Hales // Endocrine.-1999. - Vol. 10, № 3.- P.201-217.
6. Handelsman D.J. Androgen therapy in chronic renal failure / P.Y Liu. // Baillieres Clin Endocrinol Metab.- 1998.- Vol.12, № 3.- P.485-500.
7. Katznelson L. Therapeutic role of androgens in the treatment of osteoporosis in men // Baillieres Clin Endocrinol Metab.- 1998. Vol. 12, № 3.- P. 453-470.
8. Klein S. L. Sex hormones and immunity to infection / C.W Roberts.- Heidelberg: Springer, 2010.- 319 p.
9. Wenk M. Male contraception: a realistic option? / E. Nieschlag // Eur J Contracept Reprod Health Care.- 2006.- Vol.11, № 2.- P. 69-80.

## MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS TESTES WISTAR RATS EXPOSED TO LPS IN GIPERANDROGENEMII

S.G. Vassilieva, V.A. Mkhitarov, A.M. Kosyreva, O.V. Makarova

**We investigated the morphological changes of the testes of Wistar rats with acute gram-negative ENDOTOXICOSIS against giperandrogenemii. In acute ENDOTOXICOSIS 1 st day after injection of lipopolysaccharide (LPS) showed a reduction in the level of total testosterone in serum, increase of Leydig cell nuclei and the diameters of the convoluted tubules, on the 7 th day, these figures were normalized. The introduction of LPS against giperandrogenemii recorded the most pronounced morphological changes, including significant reduction in the index of spermatogenesis, which reflects the suppression of spermatogenic function.**

**Key words:** testis, lipopolysaccharide, giperandrogenemiya

Васильева Светлана Геннадьевна

аспирант лаборатории иммуноморфологии воспаления НИИ морфологии человека РАМН

Москва, 117418, ул. Цюрупы, д. 3. Тел./ Факс (499) 120-80-65

Адрес для корреспонденции: [vasilevacb@rambler.ru](mailto:vasilevacb@rambler.ru)