

барьера (от преобладающих очаговых до диффузных, способных привести эндотелиоциты к гибели) и не зависит от дозы и длительности радиационного воздействия. Сохранение дозозависимого радиационного повреждения практически на одном уровне является характерной особенностью изучаемого компенсаторно-приспособительного ответа по сравнению с нерadiационными нагрузками. Процессы внутриклеточной компенсаторной регенерации, идущие параллельно с повреждениями, не устраняют радиоиндуцированные субклеточные нарушения.

3. В целом структурные изменения сосудов микроциркуляторного русла миокарда, вызванные иммобилизационным стрессом и инкорпорированными радионуклидами, можно рассматривать как негативные сдвиги в процессах коронарного кровоснабжения. Это постепенно снижает функциональный потенциал сердечно-сосудистой системы, что может стать причиной развития серьезных патологических нарушений.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Коваленко, Е. А. Гипокинезия / Е. А. Коваленко, Н. Н. Гуровский. — М.: Медицина, 1980. — 320 с.
2. Хулуп, Г. Я. Структурные повреждения кардиомиоцитов в условиях иммобилизационного стресса / Г. Я. Хулуп, Т. Э. Владимирская, И. А. Швед // *Здравоохранение*. — 2005. — № 9. — С. 9–11.

3. Состояние здоровья населения Беларуси по данным Белорусского государственного регистра лиц, подвергшихся воздействию радиации вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС 1995–2006: статист. сб. / Министерство здравоохранения РБ, РНПЦ РМиЭЧ; под ред. к.м.н. Е. Я. Сосновской. — Гомель, 2007. — 428 с.

4. Козлов, В. Ф. Справочник по радиационной безопасности / В. Ф. Козлов. — М.: Энергоатомиздат, 1991. — 352 с.

5. Володько, Я. Т. Ультроструктура внутримышечных микронасосов / Я. Т. Володько. — Минск: Наука і тэхніка, 1991. — 224 с.

6. Чигарев, А. В. Биомеханика: учеб. пособие / А. В. Чигарев, Г. И. Михасев. — Минск: УП «Технопринт», 2004. — 306 с.

7. Лобанок, Л. М. Роль NO-опосредованных механизмов в пострадиационных изменениях нейрогуморальной регуляции функции сердца / Л. М. Лобанок, Т. А. Суворова // *Радиационная биология. Радиоэкология*. — 2004. — Т. 44, № 3. — С. 312–318.

8. Мазурик, В. К. Роль регуляторных сетей ответа клеток на повреждения в формировании радиационных эффектов / В. К. Мазурик // *Радиационная биология. Радиоэкология*. — 2005. — Т. 45, № 1. — С. 26–45.

9. Морфофункциональные проявления кардиопротекторного эффекта стимуляции μ -опиатных рецепторов в условиях стресса / Л. Н. Маслов [и др.] // *Пат. Физиология и экспериментальная терапия*. — 2001. — № 2. — С. 8–12.

10. Мальцева, Н. Г. Компенсаторно-приспособительные реакции миокарда при гипокинезии и влиянии инкорпорированных радионуклидов / Н. Г. Мальцева, Т. Г. Кузнецова, Э. В. Туманов // *Морфология*. — 2009. — № 5. — С. 46–49.

11. Воробьев, Е. И. Ионизирующая радиация и кровеносные сосуды / Е. И. Воробьев, Р. П. Степанов. — М.: Энергоатомиздат, 1985. — 124 с.

12. Особые клеточные эффекты и соматические последствия облучения в малых дозах / И. Б. Бычковская [и др.]. — Санкт-Петербург: СПИКС, 2006. — 91 с.

Поступила 20.05.2013

УДК 616-092.18:591.463.2

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ СЕМЕННИКОВ У САМЦОВ БЕСПОРОДНЫХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ

К. А. Кидун, Р. В. Дорошенко, Т. С. Угольник

Гомельский государственный медицинский университет

В настоящей работе показано негативное влияние острого иммобилизационного стресса на морфологию семенников крыс. Исследование было проведено на 22 половозрелых самцах беспородных белых крыс (по 11 животных в опытной и контрольной группах). Крысы опытной группы были подвергнуты острому 3-часовому иммобилизационному стрессу. У них были отмечены дистрофические изменения эпителия извитых семенных канальцев вплоть до развития очагового некроза. Также у крыс, подвергнутых стрессу, выявлено статистически значимое уменьшение диаметра извитых семенных канальцев и толщины герминативного слоя.

Ключевые слова: крысы, семенники, иммобилизационный стресс, извитые семенные канальцы, морфология, отек, дистрофия, некроз.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF TESTIS TISSUES IN INBRED MALE WHITE RATS UNDER THE EFFECT OF ACUTE IMMOBILIZATION STRESS

K. A. Kidun, R. V. Doroshenko, T. S. Ugolnik

Gomel State Medical University

The present work showed negative effect of acute immobilization stress on the morphology of the rats' testis. The study was conducted in 22 sexually mature male albino rats (per 11 animals in the experimental and control groups). The rats of the experimental group were subjected to three-hour acute immobilization stress. The animals of the experimental group had degenerative changes in the epithelium of the seminiferous tubules until the development of focal necrosis. Also, the rats, exposed to stress, revealed a statistically significant reduction in the diameter of the seminiferous tubules and germinal layer thickness.

Key words: rats, testis, immobilization stress, seminiferous tubules, morphology, edema, dystrophy, necrosis.

Введение

Известно, что нарушение фертильности встречается в среднем у 15 % пар [1]. Примерно в половине случаев бесплодия имеет место мужской фактор. На состояние мужской репродуктивной системы оказывают негативное влияние различные стрессовые факторы [2].

В последние годы появляется все больше литературных данных о влиянии экспериментальных видов стресса на репродуктивную систему животных: шума, подострого и хронического иммобилизационного стресса, гипобарической гипоксии [3–6]. Был показан негативный эффект данных видов стресса на состояние семенников у крыс и мышей. Достаточно полно изучены морфофункциональные изменения семенников нелинейных крыс в условиях 6-часового иммобилизационного стресса [7]. Однако воздействие более кратковременной иммобилизации на мужскую репродуктивную систему у экспериментальных животных изучено недостаточно полно.

Цель работы

Изучить морфологические изменения в семенниках беспородных белых крыс при действии острого 3-часового иммобилизационного стресса.

Материалы и методы

Исследование было выполнено на 22 половозрелых самцах беспородных белых крыс массой $246,4 \pm 44,7$ г, в возрасте 8–10 месяцев. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище. Крысы были разделены на 2 группы по 11 животных в каждой. В 1-й группе (опытной) крысы подвергались воздействию острого 3-часового иммобилизационного стресса [8]. Экспериментальных животных помещали в индивидуальный пластиковый контейнер, подгоняемый под размер животного, со свободным доступом воздуха. В конце эксперимента животных опытной группы взвешивали, затем декапитировали в течение 5 минут после иммобилизации. Во 2-й группе (контрольной) крысы были интактными и никаким воздействиям не подвергались. Животных контрольной группы взвешивали и затем декапитировали. Все исследования проводили в первую половину суток с 8 до 12 часов (во избежание влияния временного фактора на функциональное состояние животных). После декапитации выделяли семенники крыс с их придатками и взвешивали, массу оценивали с точностью до 1 мг. Эксперименты на животных проводились в соответствии с Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция октября 2008 г.) [9].

Из семенников крыс вырезали кусочки толщиной 3 мм, фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине (по Лилли) в течение 24 часов при комнатной температуре. Гистоло-

гическая проводка производилась с использованием изопропилового спирта: изопропанол — 1 час, изопропанол — 1 час, изопропанол — 1 час, изопропанол — 1 час, изопропанол — 1 час, изопропанол — 1 час, изопропанол-минеральное масло 5:1 — 1,5 часа при 50 °С, изопропанол-минеральное масло 2:1 — 1,5 часа при 50 °С, минеральное масло при 50 °С — 2 часа, парафин — 1 час при 60 °С, парафин — 1 час при 60 °С, парафин — 1 час при 60 °С, парафин — 1 час при 60 °С [10]. Фрагменты тканей заливали в парафин. На микротоме Leica RM 2125 (Германия) изготавливали поперечные серийные срезы толщиной 5 мкм, которые в дальнейшем проводили в этиловом спирте и ксилоле, окрашивали гематоксилином (по Майеру) и эозином. Окрашенные препараты заключали в полистирол под покровное стекло.

Окрашенные препараты для изучения микроструктуры семенников исследовали на световом микроскопе «Nicon Eclipse 50i» (Япония) при общем увеличении $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$. Фотографирование срезов проводили с помощью фотокамеры DS-F1. Учитывая особенность венозного оттока от левого и правого семенников, с целью исключения влияния анатомических особенностей кровоснабжения на результат для морфологического исследования был выбран правый семенник крыс [11].

На гистологических препаратах семенников подсчитывали процент извитых семенных канальцев (ИСК) со слушиванием (десквамацией) половых клеток в просвет и процент деформированных ИСК [5, 12]. Оценивали следующие морфометрические параметры семенников: диаметр ИСК в поперечном разрезе и толщину герминативного слоя в мкм [12].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica», 8.0. Характер распределения признаков определяли по тесту Шапиро-Уилка (W). В связи с тем, что изучаемые показатели подчинялись закону нормального распределения, для парных сравнений использовали тест Стьюдента (t). Данные в тексте и таблице приведены в виде $M \pm SD$, где M — среднее арифметическое, SD — стандартное отклонение средней арифметической. Различия между показателями считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$ [13].

Результаты и обсуждения

Вес животных опытной и контрольной групп не имел статистически значимых различий. Также в обеих группах не было выявлено существенных различий по весу семенников.

Белочная оболочка семенников интактных крыс была образована плотной соединительной тканью. Семенники контрольной группы животных, как показано на рисунке 1, имели нормальное строение. При микроскопическом исследовании

стромы семенников коллагеновые волокна располагались плотно друг к другу, ядра фибробластов были удлиненной формы с хорошо выраженным эухроматином, что характеризовало их активное морфофункциональное состояние. ИСК располагались плотно друг к другу, в небольших пространствах между ними находились элементы микроциркуляторного русла и клетки Лейдига, имеющие высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. Внутри канальцев на базальной мембране располагались sustentocytes и клетки сперматогенного ряда на различных стадиях дифференцировки.

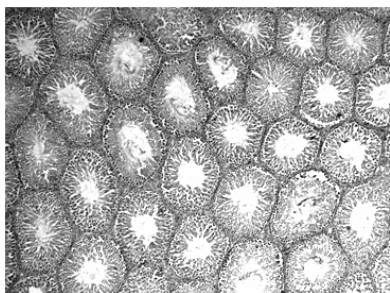


Рисунок 1 — Срез ткани семенника крысы контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

У всех животных опытной группы извлеченные семенники были отечны, рыхлой консистенции, имели насыщенно красный цвет. Макроскопически на их поверхности определялись полнокровные кровеносные сосуды.

При микроскопическом исследовании семенников у крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу, отмечались явления отека и деструкции герминативного эпителия с отслаиванием его от базальной мембраны, отек стромы. ИСК крыс опытной группы представлены на рисунке 2.



Явления отека и деструкции эпителия

Рисунок 2 — Срез ткани семенника крысы опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

Необходимо отметить, что дистрофические изменения эпителия семенных канальцев, sustentocytes и сперматоцитов отмечались у всех животных

опытной группы. У ряда крыс этой группы имелись признаки очагового клеточного некроза эпителия извитых семенных канальцев (рисунок 3а).

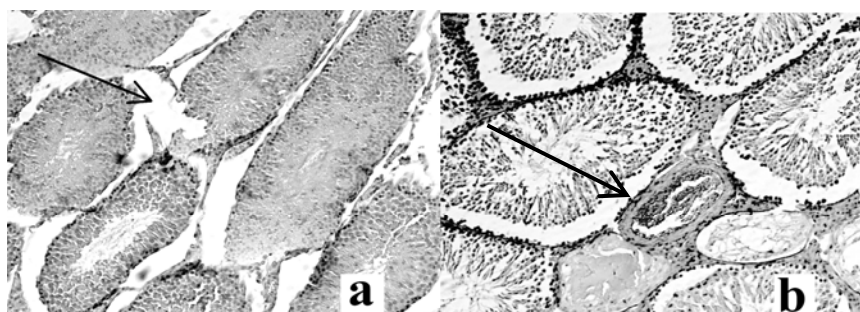


Рисунок 3 — Семенные канальцы крысы опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$:
а — очаговый некроз эпителия извитых канальцев (выделено стрелкой);
б — полнокровие артерий (выделено стрелкой)

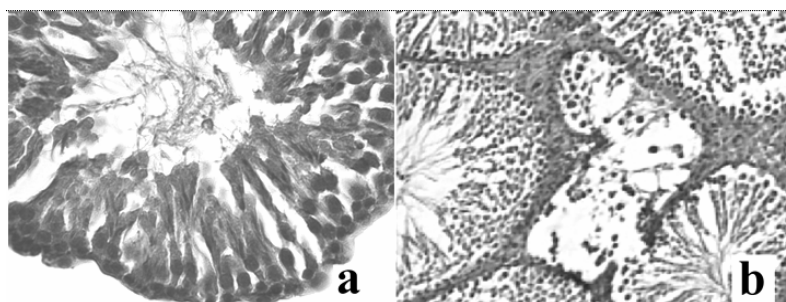
У самцов крыс опытной группы отмечалась выраженная фрагментация и деструкция эпителия канальцев, кариопикноз, кариорексис, плазморексис. В сосудах семенников имело место полнокровие, наблюдалась гофрированность эндотелия, отек субэндотелиальных пространств, очаговый спазм гладкомышечной стенки артерий (рисунок 3б). Данная картина свидетельствует о нарушении кровотока не только на уровне артериального и венозного звеньев, но также практически во всех отделах микроциркуляторного русла.

На рисунке 4 представлены ИСК крысы опытной группы с отеком, очаговым карио-

пикнозом, кариорексисом и дистрофическими изменениями сперматогенного эпителия. В просвете семенного канальца определяется слущенный эпителий (рисунок 4а).

Известно, что количество ИСК со слущиванием половых клеток в просвет и деформированных ИСК (рисунок 4б) является одним из показателей чувствительности сперматогенеза к действию различных неблагоприятных факторов [14].

В таблице 1 приведены результаты сравнительного анализа морфологических изменений семенников у самцов крыс опытной и интактной групп.



Отек, очаговый карипикноз, карioreксис, дистрофические изменения сперматогенного эпителия: а — ИСК со слущиванием эпителия в просвет, б — деформированный ИСК

Рисунок 4 — Извитые семенные канальцы крысы опытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

Таблица 1 — Морфологические изменения семенников крыс опытной и контрольной групп

Параметр	Опытная группа, n = 11	Контрольная группа, n = 11	t	p
ИСК со слущенным эпителием, %	30,4 \pm 7,8	14,7 \pm 5,6	-5,41	< 0,0001
Деформированные ИСК, %	39,6 \pm 12,3	11,3 \pm 4,8	-7,12	< 0,0001

Как видно из данных таблицы 1, у животных, перенесших острый иммобилизационный стресс, в 2,1 раза увеличивается количество ИСК со слущенным эпителием по сравнению с контрольной группой ($p < 0,0001$). Также у крыс опытной группы отмечается увеличение в 3,5 раза количества деформированных ИСК ($p < 0,0001$). Полученные результаты согласуются с литературными данными, согласно которым у мышей и крыс при воздействии иммобилизационного стресса отмечалось резкое увеличение количества деформированных извитых семенных канальцев [5, 15].

При морфометрическом исследовании семенников выявлено, что у животных опытной группы уменьшается средний диаметр ИСК по сравнению с группой контроля, соответственно: 238,4 \pm 14,5 мкм и 286,5 \pm 27,4 мкм ($p < 0,001$). Толщина герминативного эпителия семенных канальцев у крыс опытной группы составила 60,8 \pm 4,6 мкм и была значительно меньше, чем у животных контрольной группы — 97,9 \pm 7,0 мкм, различия статистически значимы ($p < 0,001$). Морфометрические параметры семенников самцов крыс опытной и контрольной группы представлена на рисунке 5.

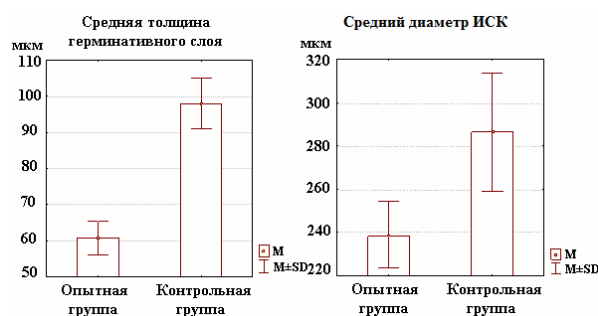


Рисунок 5 — Морфометрические параметры у животных опытной и контрольной группы

Снижение толщины герминативного слоя эпителия ИСК у животных, подвергшихся иммобилизационному стрессу, может быть объяснено деструктивными процессами сперматогоний. Морфологические изменения в семенниках у крыс опытной группы, предположительно возникают в результате окислительного стресса, развивающегося на фоне нарушения кровоснабжения и микроциркуляции в условиях иммобилизации. Нарушения микроциркуляции приводят к увеличению продукции ак-

тивных форм кислорода и, как следствие, активации процессов перекисного окисления липидов. Это, в свою очередь, может приводить к уменьшению толщины герминативного эпителия и локальному некрозу эпителия семенных канальцев. Таким образом, иммобилизационный стресс отрицательно сказывается на репродуктивной способности самцов крыс.

Заключение

Острый 3-часовой иммобилизационный стресс у крыс опытной группы приводит к

выраженным изменениям в тканях семенников, с признаками нарушения микроциркуляции, развитием отека, дистрофических изменений в эпителии извитых семенных канальцев, вплоть до очагового некроза. У животных опытной группы по сравнению с контрольной отмечается значительное уменьшение диаметра ИСК ($P < 0,001$) и толщины герминативного слоя ($P < 0,001$). Наиболее вероятно, что данные морфологические изменения в семенниках будут негативно сказываться на репродуктивной способности животных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Guidelines on male infertility / A. Jungwirth [et al.]. — Arnhem (The Netherlands): European Association of Urology. — 2012. — 64 p.
2. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В. В. Долгов [и др.]. — Тверь: Триада, 2006. — 145 с.
3. Jalali, M. Study of Spermatogenesis Fetal Testis Exposed Noise Stress During and after Natal Period in Rat / M. Jalali [et al.] // Pakistan Journal of Biological Sciences. — 2013. — Vol. 16. — P. 1010–1015.
4. Effect of immobilization stress on testicular germ cell apoptosis in rats / H. Yazawa [et al.] // Human Reproduction. — 1999. — Vol. 14, № 7. — P. 1806–1810.
5. Tavakoli, P. Restraint Stress is Biomedically Important in Male Reproductive Failure / P. Tavakoli, R. Ahmadi, M. Mafi // ICCBMS. — 2012. — P. 17–19

6. Effects of Chronic Simulated Hypobaric Hypoxia on Mouse Spermatogenesis / E. Bustos-Obregón [et al.] // Int. J. Morphol. — 2006. — Vol. 24, № 3. — P. 481–488.

7. Структурно-функциональные нарушения в семенниках крыс в условиях острого иммобилизационного стресса / Ю. Н. Королев [и др.] // Андрология и генитальная хирургия. — 2012. — № 4. — С. 25–28.

8. Богомолова, Н. В. Функциональная морфология клеток крови в условиях острого иммобилизационного стресса при облучении электромагнитными волнами миллиметрового диапазона / Н. В. Богомолова, В. Ф. Киричук, С. И. Киреев // Современные наукоемкие технологии. — 2006. — № 6. — С. 43–44.

9. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации: этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования (Сеул, 2008) // Морфология. — 2010. — Т. 4, № 2. — С. 69–72.

10. Пешков, М. В. Метод гистологической проводки тканей с использованием изопропанола и минерального масла / М. В. Пешков, И. И. Дыгало // Архив патологии. — 2009. — № 3. — С. 39–41.

11. Никитин, Н. А. Анатомические особенности венозного оттока от репродуктивных органов крыс / Н. А. Никитин, А. В. Никитина, А. В. Байтингер // Бюллетень сибирской медицины. — 2012. — № 2. — С. 84–92.

12. Ухов, Ю. И. Мофометрические методы в оценке функционального состояния семенников / Ю. И. Ухов, А. Ф. Астраханцев // Арх. анат. гистол. и эмбриол. — 1983. — Т. 84, № 3. — С. 66–72.

13. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. — М.: МедиаСфера. 2003. — 312 с.

14. Карташова, А. Г. Влияние хронических факторов в постнатальном онтогенезе животных / Томск: «В-Спектр», 2010. — 116 с.

15. Deranged spermatogenesis of adult swiss albino mice as effect of immobilization stress – histological study / B. Khandve [et al.] // Isr Journal Of Pharmacy. — 2013. — Vol. 3, № 2. — P. 7–10.

Поступила 02.07.2013

УДК 621.842:612.082.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОСТАВОВ К ИНДУКЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ В ОПЫТАХ *IN VITRO*

В. В. Трейлиб, Л. В. Половинкин, Н. В. Дудчик

Республиканский научно-практический центр гигиены, г. Минск

В статье представлены результаты оценки потенциальной способности смазочно-охлаждающих технологических составов в опытах *in vitro* на различных штаммах *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* и с использованием тестерной ДНК фага λ . Показано, что изученные смазочно-охлаждающие технологические составы на указанных тест-объектах не проявляют мутагенных и генотоксических свойств.

Ключевые слова: смазочно-охлаждающие технологические составы, генотоксичность, мутагенная активность, ДНК-повреждающее действие, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*.

THE STUDY OF POTENTIAL ABILITY OF METALWORKING FLUIDS FOR INDUCTION OF THE REMOTE EFFECTS IN EXPERIMENTS *IN VITRO*

V. V. Treilib, L. V. Polovinkin, N. V. Dudchik

Republican Research Center for Hygiene, Minsk

The article presents the results of the assessment of potential ability of metalworking fluids in experiments *in vitro* on various strains of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* by means of the test DNA of λ phage. It was shown that the studied metalworking fluids did not display mutagen and genotoxic properties on the specified test objects.

Key words: metalworking fluids, genotoxicity, mutagen activity, DNA-damaging action, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*.

Введение

Многотоннажное использование смазочно-охлаждающих технологических составов (СОТС) в различных отраслях промышленности обу-

славливает непосредственный контакт с ними работающих. В оценке неблагоприятного действия химических веществ, в том числе и СОТС изучение их потенциальной возможно-