

УДК 612.616.3; 612.616.1.

НЕРВНАЯ СИСТЕМА В РЕГУЛЯЦИИ СУТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ МУЖСКИХ ГОНАД БЕЛЫХ КРЫС¹

Е.В. Слесарева., С.М. Слесарев., В.И. Арав, О.Ф. Денисова

Ульяновский государственный университет

В работе изучалось влияние периферической полной денервации на суточную активность мужских гонад у белых крыс. В условиях режима освещения 12 ч свет / 12 ч темнота денервация в течение 30 суток приводит к угнетению сперматогенеза и повышению активности эндокринной ткани, не нарушая имеющиеся циркадианные ритмы функционирования гонад. По-видимому, участие нервной системы в регуляции циркадианного ритма осуществляется опосредованно через ее влияние на функцию эпифиза.

Ключевые слова: сперматогенез, денервация, клетки Лейдига, циркадианный ритм.

Введение. Вопросы здоровья потомства традиционно рассматриваются в нашей стране преимущественно в аспекте «охраны здоровья матери и ребенка». Мужчина же часто остается вне поля зрения исследователей и врачей. В то же время мужчина как равноправный участник репродуктивного процесса по сравнению с женщиной, характеризуется в настоящее время более высокой заболеваемостью и смертностью и, соответственно, меньшей продолжительностью жизни. Результаты современных исследований свидетельствуют о возрастании роли мужчины в бесплодии [3]. Тем более актуальным становится изучение процесса образования сперматозоидов и механизмов его регуляции. Процесс сперматогенеза находится под контролем эндокринной, нервной и иммунной систем организма. В предыдущих наших работах было показано наличие суточного ритма сперматогенеза и активности эндокринной ткани, а также продемонстрирована роль эпифиза и его пептидов в регуляции суточных ритмов активности некоторых элементов мужских гонад [1; 4]. Нервная система также несомненно участвует в регуляции суточной активности мужских гонад. Известно регуляторное влияние нервной системы, осуществляемое через гипоталамо-гипофизарную систему и эпифиз. Пря-

мое влияние нервной системы на регуляцию суточного ритма сперматогенеза до настоящего времени не определено. В связи с этим задачей настоящей работы явилось изучение суточного ритма активности мужских гонад после полной денервации семенника.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили 48 самцов белых крыс, содержащихся в виварии при режиме освещения 12 ч свет / 12 ч темнота. Животные были разделены на две группы: 1) интактные животные и 2) животные после денервации правого семенника. Все манипуляции с животными проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными приказом Минздрава СССР №755 от 12.08.77. Период адаптации к режиму освещения составил 2 недели. Операция денервации, выполненная по методике, предложенной В.В. Невструевой [2], была проведена под тиопенталовым наркозом, который вводили внутривенно в дозе 50 мг/кг.

По средней линии живота вскрывали брюшную полость. Браншей пинцета поднимали правый семявыносящий проток, после чего скальпелем удаляли адвентицию с кольцевого участка шириной 5 мм. При этом разделяли артерию и вены, не нарушая их цело-

¹ Работа выполнена при поддержке гранта по ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.», мероприятие 1.2.2, госконтракт №П1056 от 31.05.10.

стности. После этого брюшная полость ушивалась.

Через 30 дней после операции денервации животных контрольной и экспериментальной групп выводили из эксперимента под эфирным наркозом в 1 час ночи и в 13 часов дня (по 6 животных во временной точке) в течение двух суток эксперимента. Выделенные семенники взвешивали на торсионных весах ВЛКТ-500, фиксировали в забуференном формалине и заливали в парафин по общепринятой гистологической методике. На ротационном микротоме изготавливали срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали ШИК-реакцией с доокраской ядер гематоксилином. На срезах определяли митотический индекс сперматогоний типа Б и площадь ядер активных перитубулярных эндокриноцитов. Статистическую обработку результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента (критический уровень значимости принимали равным 0,05), определяли *M*-выборочное среднее и *m*-ошибку среднего ($M \pm m$). Анализ наличия циркадианного ритма проводили сравнением средних значений показателей для темного и светлого времени суток.

Результаты и обсуждение. В среднем масса семенников животных интактной контрольной группы составила $1,33 \pm 0,02$ г. Среднесуточная масса семенников после денервации имела тенденцию к снижению и составила $1,14 \pm 0,04$ г. ($p=0,01$). Семенники, взятые в темное и светлое время 2 суток эксперимента не имели достоверных различий массы как в группе интактных животных, так и в группе крыс после денервации семенника.

У интактных животных во всех семенных канальцах наблюдался активный сперматогенез. Присутствовали все стадии созревания половых клеток. У базальной мембраны канальца расположены сперматогонии, второй ряд образуют сперматоциты, выше располагаются сперматиды и в просвет извитого канальца направлены сперматозоиды. Среднесуточный уровень митотического индекса сперматогоний типа Б составил $120,28 \pm 3,26$ ‰. Дневное значение митотического индекса ($127,17 \pm 2,48$) достоверно превышало значение МИ для периода ночи ($112,17 \pm 4,04$) ($p=0,05$).

Спустя 30 дней после денервации наблюдалось некоторое угнетение сперматогенеза. До 11 % извитых семенных канальцев характеризовались нарушением сперматогенеза – в этих канальцах определялись сперматогонии, лежащие на базальной мембране, сперматоциты и небольшое количество сперматозоидов. Сперматиды полностью исчезли из канальцев с нарушением сперматогенеза. Однако большая часть извитых семенных канальцев не имела нарушений сперматогенеза – выявлялись все стадии созревания половых клеток. Канальцы с нарушениями процесса сперматогенеза не анализировались. В неповрежденных канальцах произошло снижение митотического индекса сперматогоний типа Б и он составил $63,45 \pm 2,21$ ‰ ($p=0,001$). Сохранились различия между дневными и ночными значениями митотического индекса, однако они стали менее выраженными ($67,31 \pm 1,34$ ‰ и $59,63 \pm 2,37$ ‰ соответственно) ($p>0,05$).

У крыс интерстициальная ткань семенников, занимающая пространства между извитыми семенными канальцами и кровеносными и лимфатическими сосудами, представлена в основном клетками Лейдига, в ней содержится значительно меньше соединительнотканых клеток (в основном фибробласты и макрофаги) и волокон. В функциональном отношении популяция активных клеток Лейдига неоднородна. Так, в зависимости от активности эндокриноцитов выделяют высокоактивные клетки Лейдига (это дифференцированные, зрелые, активно функционирующие клетки, имеющие крупное, светлое ядро, развитый агранулярный эндоплазматический ретикулум и многочисленные митохондрии), а также клетки, отличающиеся невысокой функциональной активностью (малоактивные). Ядро этих клеток меньшего объема, содержит гранулы гетерохроматина. В их цитоплазме встречаются единичные липидные капли и неравномерно распределенный агранулярный эндоплазматический ретикулум. Среднесуточное значение площади сечения ядер в субпопуляции высокоактивных клеток Лейдига у интактных животных составило $23,61 \pm 0,61$ мкм². Среднее значение площади сечения ядер высокоактив-

ных клеток Лейдига в дневные часы было ниже ночных показателей ($21,46 \pm 0,57 \text{ мкм}^2$ и $24,85 \pm 0,8 \text{ мкм}^2$ соответственно, $p=0,05$), что свидетельствует о наличии циркадианного ритма активности эндокриноцитов семенников.

В результате денервации среднесуточное значение площади сечения ядер высокоактивных клеток Лейдига составило $34,6 \pm 0,78 \text{ мкм}^2$, что было достоверно выше значений интактных животных ($p=0,001$). Среднее значение площади сечения ядер клеток Лейдига в дневные часы составило $31,34 \pm 0,95 \text{ мкм}^2$, а в ночные – $37,42 \pm 0,87 \text{ мкм}^2$ ($p=0,05$). То есть циркадианный ритм активности эндокринной ткани семенников сохранился после денервации, при общем увеличении функциональной напряженности эндокриноцитов.

Известно, что денервация приводит к изменению кровоснабжения органа [4]. А в семеннике это влечет за собой нарушение гематотестикулярного барьера, которое проявляется в изменении клеток Сертоли и утраты ими связи со сперматогенными клетками. Однако эти нарушения развиваются в течение длительного периода времени и зависят от исходных условий кровоснабжения. По-видимому, у белых крыс через 30 суток после денервации наметилась только тенденция к исчезновению циркадианного ритма. Известно, что выраженное нарушение сперматогенеза наблюдается через 60 дней после денервации. Увеличение активности эндокринной ткани, вероятно, связано со снижением выработки ингибина клетками Сертоли в канальцах с нарушенным сперматогенезом и, соответственно, увеличением выработки гипофизом гонадотропных гормонов. В то же время

после эпифизэктомии сохраняется сперматогенез [1], но исчезает его циркадианный ритм. Это позволяет сделать вывод, что участие нервной системы в регуляции циркадианного ритма осуществляется через ее влияние на функцию эпифиза.

Выводы

1. Денервация снижает пролиферативную активность сперматогоний, угнетает сперматогенез, снижает амплитудные показатели суточного ритма митотического индекса сперматогоний.

2. Угнетение сперматогенеза при денервации приводит к повышению общего уровня функциональной активности клеток Лейдига, циркадианный ритм при этом только увеличивает амплитуду колебаний.

1. Арав, В.И. Влияние пептидов эпифиза на суточную динамику пролиферации сперматогоний белых крыс / В.И. Арав, Е.В. Слесарева, В.Ф. Сыч, С.М. Слесарев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137. – №6. – С. 678–682.

2. Невструева, В.В. Структурная организация гематотестикулярного барьера в нормальных физиологических условиях и при нейродистрофическом процессе в семеннике / В.В. Невструева, Т.В. Боронихина, Л.А. Суворова // Труды 2-го МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова «Нервно-сосудистое обеспечение тканевых процессов». – М., 1979. – С. 85–90.

3. Никитин, А.И. Исчезающий пол? / А.И. Никитин // Морфология. – 2003. – Т. 124. – №6. – С. 80–88.

4. Слесарева, Е.В. Эпифизарная регуляция суточной активности эндокринной ткани семенников белых крыс / Е.В. Слесарева, Н.Н. Галныкина, В.И. Арав // Морфология. – 2006. – Т. 129. – С. 114.

THE NERVOUS SYSTEM IN REGULATION OF DAILY ACTIVITY OF MALE'S GONADS OF WHITE RATS

E.V. Slesareva, S.M. Slesarev, V.I. Arav, O.F. Denisova

Ulyanovsk State University

In work influence peripheral full denervation on daily activity of male gonads at white rats was studied. In the conditions of a mode of illumination 12 h light / 12 h darkness denervation within 30 days leads to oppression spermatogenesis and to the increase of activity endocrine tissue, without breaking available circadian rhythms of functioning of gonads. On visible, participation of nervous system in circadian rhythm regulation is carried out through its influence on function pineal gland.

Keywords: spermatogenesis, denervation, Leydig cells, circadian rhythm.