

УДК 636.028: 636.08

DOI: 10.17022/mz6w-cz23

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕМЕННИКОВ САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ СЕДИМИНА® НА ФОНЕ СТРЕССА****В.В. Алексеев, И.Ю. Арестова***Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева  
428000, Чебоксары, Российская Федерация*

**Аннотация.** *Нарушение андрогенной функции продуктивных животных часто связано со стрессами, вызванными промышленными условиями содержания животных. Поэтому изучение влияния стресса на репродуктивную функцию организма является актуальной проблемой, так как позволяет изучить механизмы его воздействия на андрогенную функцию, которое приводит к появлению отклонений, а также разработать методы их профилактики. Целью проведенного исследования являлось изучение действия ветеринарного препарата Седимин®, содержащего йод и селен, на морфофункциональное состояние семенников белых крыс в условиях экспериментальной модели на фоне голодного и эмоционального стресса. Объектом эксперимента являлись беспородные белые крысы. Были исследованы относительная масса семенников, количество эпидидимальных сперматозоидов и их морфологические особенности. Было установлено положительное влияние ветеринарного препарата Седимин®. Однократное применение Седимина® перед помещением подопытных животных в моделируемые экспериментальные условия способствовало снижению отрицательных последствий голодного и эмоционального стресса на морфологические показатели сперматогенного эпителия и половых клеток. Было установлено, что применение данного ветеринарного препарата позволяет сохранить у крыс, находящихся в состоянии стресса, количество живых и мертвых половых клеток, а также число эпидидимальных сперматозоидов в суспензии и их жизнеспособность на уровне показателей животных, не подвергавшихся стрессу. При этом у не получавших препараты животных число мертвых сперматозоидов было достоверно выше, а количество эпидидимальных сперматозоидов в суспензии, а также живых половых клеток достоверно уменьшилось.*

**Ключевые слова:** *голодный стресс, эмоциональный стресс, белые крысы, семенники, сперматозоиды, Седимин®.*

**Введение.** Пребывание организма в условиях стресса приводит к морфофункциональным изменениям: например, к повышению случаев заболеваемости и иногда даже к летальному исходу [3].

Известно, что стресс, в том числе и эмоциональный, приводит к снижению тестостерона в крови и угнетает минералокортикоидную функцию коры надпочечников и андрогенную функцию яичек [1], [2].

В основе дефицита микроэлементов у человека и животных лежит недостаточность поступления их с пищей. Основная причина этого – сельскохозяйственная деятельность, в результате которой снижается содержание микроэлементов, в частности селена, в почве, растениях и, как следствие, в организме консументов – человека и животных, а также наличие регионов с пониженным содержанием микроэлементов (селена, йода) в почве.

С целью восстановления селенового и йодного статуса организма сельскохозяйственных животных обычно используется значительное число препаратов: Селенолин, Седимин, ДАФС-25, Элеовит, Монклавит-1, Йодомарин и других.

Целью нашей работы являлось изучение эффективности воздействия ветеринарного препарата Седимин®, содержащего йод и селен, на морфофункциональное состояние семенников белых крыс в условиях экспериментальной модели голодного стресса, сопровождающегося эмоциональным.

**Материалы и методы.** Эксперимент проводился в виварии на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Чувашской Республике – Чувашии». Объектом исследования являлись самцы беспородных белых крыс. Наблюдения проводились в соответствии с требованиями и правилами, установленными «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей», а также в соответствии с заключением этического комитета АУ Чувашии «Институт усовершенствования врачей» Минздравсоцразвития Чувашской Республики.

Влияние комбинированного стресса испытывали на 24 крысах. Для проведения наблюдений были сформированы три группы животных по 8 особей в каждой: первая – контрольная; вторая и третья – опытные. Средняя масса животных составила 220-240 г., возраст – 8-9 месяцев. Эксперимент продолжался трое суток. Во время опытов лабораторные животные находились в стандартных для вивария условиях. Крысы контрольной группы не подвергались никакому воздействию.

Животные второй и третьей опытных групп имели свободный доступ к воде. Однако одновременно испытывали голодный стресс, не имея доступа к корму. По истечении трех суток крысы, подвергшиеся голодному стрессу, дополнительно были помещены в аквариум для моделирования эмоционального стресса в соответствии с методикой «свободное плавание в клетке». Животные третьей группы однократно, до воздействия голодного и эмоционального стрессов, получали внутримышечно инъекцию ветеринарного препарата Седимин®. Доза составила – 0,3 мл/100 г массы тела (м.т.).

В аналогичные сроки в такой же дозе интактным крысам и животным второй группы вводился физиологический раствор.

С целью исключения влияния временного фактора на физиологическое состояние подопытных животных все манипуляции проводились в утреннее время (с 8 до 10 часов утра).

Все животные взвешивались как до начала эксперимента, так и перед выведением из него. По истечении наблюдений все животные были выведены из эксперимента в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики путем декапитации (ГОСТ Р 53434-2009). Для гистологического анализа половые железы после извлечения взвешивали, фиксировали в растворе Карнуа, а затем проводили обработку в соответствии со стандартной методикой с заливкой в парафиновые блоки. Для окрашивания тонких срезов (6...7 мкм) использовали гематоксилин и эозин.

Суспензии сперматозоидов получали из эпидидимиса крыс согласно стандартной методике [4].

Были изучены следующие показатели: масса семенников (г), количество эпидидимальных сперматозоидов (млн/мл), жизнеспособность сперматозоидов (%), содержание живых и мертвых сперматозоидов (млн/мл). На гистопрепаратах семенников изучали структуру извитых канальцев семенников – производили измерения диаметра и толщины эпителио-сперматогенного слоя семенных канальцев (мкм).

Исследования проводились с использованием светового микроскопа «МИКМЕД-6», произведенного ОАО «ЛОМО» в г. Санкт-Петербург. Полученные гистологические изображения анализировались при помощи программного обеспечения «Микро View» (ООО «ЛОМО-Микросистемы», Санкт-Петербург, Россия).

При проверке гипотезы нормальности распределения использовались критерии Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Гипотеза о равенстве групповых средних значений проверялась с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Средние значения показателей были представлены в виде  $M \pm s$  ( $M$  – среднее,  $s$  – стандартное отклонение). Оценка статистической значимости различий между средними значениями осуществлялась при критическом уровне  $p=0,05$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** Известно, что весовые параметры семенников являются одним из показателей физиологического состояния животных.

Считается, что они уязвимы по отношению к окислительному стрессу, генетическим факторам и зависят от уровня стрессогенности окружающей среды.

В ходе исследований статистически значимых отличий в массе половых желез между подопытными крысами всех групп не зафиксировано. Однако у животных второй группы проявилась тенденция к увеличению весовых параметров семенников. Было установлено, что масса семенника животных интактной, второй и третьей групп к окончанию наблюдений составила  $1,15 \pm 0,08$  г;  $1,58 \pm 0,03$  г и  $1,20 \pm 0,05$  (P>0,05), соответственно.

Семенники контрольных крыс имели эластичную консистенцию, розовато-белый цвет и нормальное анатомическое строение. Анализ гистологических срезов семенников контрольных животных показал их активный морфофизиологический статус: извитые семенные канальцы располагались плотно на незначительном расстоянии друг от друга. В них фиксировались структуры микроциркуляторного русла, а также клетки Лейдига. Строение сперматогенного эпителия соответствовало норме. В строении семенников выявлялись коллагеновые волокна и фибробласты, в ядре которых хорошо просматривался эухроматин. На базальной мембране эпителия семенных канальцев выявлялись клетки Сертоли и клетки сперматогенного ряда разного уровня дифференциации.

При извлечении семенников крыс второй и, в меньшей степени, третьей групп было выявлено, что они имели рыхлую консистенцию с признаками отека и расширенными кровеносными сосудами, что объясняет несколько больший вес семенников у крыс второй группы по сравнению с животными контрольной и третьей групп.

Анализ гистологических срезов семенников животных, подвергшихся стрессу, выявил признаки деструкции сперматогенного эпителия (фрагментацию, признаки некробиоза, отек субэндотелия, отслоение герминативного эпителия от базальной мембраны, наличие слущенного эпителия). При этом у крыс третьей группы, получавших ветеринарный препарат Седимин®, в отличие от животных второй группы, отслоения герминативного эпителия от базальной мембраны не наблюдалось. Также было выявлено, что у крыс второй группы признаки деструкции сперматогенного эпителия были более выраженными.

Во время морфологического исследования диаметра извитых семенных канальцев было выявлено, что данный показатель у крыс контрольной группы имел следующие значения:  $262,8 - 286,4$  мкм; у животных второй группы –  $223,5 - 253,8$  мкм ( $p<0,01$ ); у крыс третьей группы –  $250,3 - 276,4$  мкм ( $p<0,05$ ). При этом разница между показателями второй и третьей группы составила  $8,46\%$  ( $p<0,01$ ).

Аналогичная тенденция наблюдалась и в скорости изменения толщины эпителио-сперматогенного слоя семенных канальцев. Так, у животных контрольной группы изучаемый показатель составил  $99,39 \pm 1,79$  мкм, у второй –  $71,98 \pm 8,55$  мкм ( $p<0,01$ ), у третьей –  $93,34 \pm 4,23$  мкм ( $p<0,05$ ). Разница между показателями второй и третьей группы составила  $22,89\%$  ( $p<0,01$ ).

Выявленные морфологические изменения могут быть обусловлены нарушением кровотока в микроциркуляционном русле, в результате которого развились дистрофические явления. Нарушения кровотока приводят к увеличению выработки продукции активных форм кислорода и инициации цепных окислительных

реакций. Вследствие этого происходит нарушение функционирования билипидного слоя мембран клеток, что приводит к их набуханию и разрушению.

Было установлено, что в результате комбинированного стрессового воздействия происходит снижение общей концентрации сперматозоидов в суспензии. Так, содержание сперматозоидов составило, соответственно, в контрольной группе –  $51,63 \pm 3,42$  млн/мл, во второй –  $38,50 \pm 5,40$  млн/мл ( $p < 0,01$ ) и в третьей –  $50,50 \pm 4,34$  ( $p < 0,01$ ).

Моделируемые в эксперименте условия повлияли и на жизнеспособность сперматозоидов, которая составила у крыс контрольной группы  $83,63 \pm 2,50$  %, а у животных второй группы была на 32,60 % меньше. При этом показатели жизнеспособности в группе животных, получавших инъекции исследуемого препарата, приближались по значению к контрольным показателям и были лишь на 4,63 % ниже ( $p > 0,05$ ).

Было выявлено, что содержание живых сперматозоидов во второй группе составило  $35,75 \pm 4,98$  млн/мл, что было на 28,50 % ( $p < 0,01$ ) меньше в сравнении с крысами интактной группы и на 27,23 % ( $p < 0,05$ ) меньше в сравнении с подопытными животными третьей группы.

Число мертвых половых клеток составило в контрольной группе  $1,63 \pm 0,52$  млн/мл, у животных второй и третьей группы, соответственно, на 40,91 % ( $p < 0,01$ ) и 15,38 % ( $p > 0,05$ ) больше по сравнению с подобными показателями у интактных крыс.

Таким образом, предварительная инъекция Седимина® способствовала снижению отрицательных последствий стресса и значительно уменьшила его влияние на морфофизиологические показатели сперматозоидов. Содержание жизнеспособных сперматозоидов в группе самцов крыс, подвергавшихся воздействию голодного и эмоционального стрессов на фоне приёма ветеринарного препарата, содержащего селен и йод, приближалось к показателям контрольной группы.

Возможно, положительное воздействие препарата связано с уменьшением активности процессов свободно-радикального окисления в тестикулах, а также с тем, что селен входит в состав селенопротеинов – ставной части ткани семенников. Селенсодержащий антиоксидантный фермент тиоредоксинредуктаза, внеклеточная форма которого располагается преимущественно в яичках, защищает клетки от повреждений, предотвращает различные нарушения транскрипционных факторов и способствует восстановлению нуклеотидов до дезокси-нуклеотидов. Также известен тот факт, что селенопротеин капсулы сперматозоидов участвует в формировании жгутиков и обеспечивает их целостность, что, в итоге, приводит к высокой фертильности самцов.

**Выводы.** Кратковременное влияние голодного и эмоционального стрессов не привело к значительным изменениям массы семенников. При этом гистологическая картина свидетельствовала о признаках деструкции сперматогенного эпителия, выражающегося в фрагментации, некробиозе и отеке субэндотелия, отслоении герминативного эпителия от базальной мембраны, наличии слущенного эпителия. Диаметр и толщина эпителио-сперматогенного слоя семенных канальцев у животных, подвергшихся стрессу, были достоверно меньше в сравнении с контрольными крысами и животными, получавшими инъекции Седимина®.

Под влиянием моделируемых условий происходило достоверное снижение общей концентрации эпидидимальных сперматозоидов в суспензии и степени их жизнеспособности, а также уменьшение количества живых половых клеток. Число мертвых сперматозоидов было достоверно выше у животных, подвергшихся стрессу и не получивших никаких препаратов.

Таким образом, использование ветеринарного препарата Седимин® способствовало снижению отрицательных последствий голодного и эмоционального стрессов, снизило их негативное влияние на морфофизиологические показатели сперматогенного эпителия и сперматозоидов.

Дальнейшие исследования влияния различных видов стресса в их сочетании на организм животных, в том числе голодного и эмоционального, позволят изучить последствия их воздействия на андрогенную функцию организма и понять его механизмы, объяснить причины отклонений, возникающих в результате воздействия данных факторов.

Выявление условий и закономерностей возникновения нарушений состояния сперматогенного эпителия и морфофункционального состояния сперматозоидов позволит расширить теоретические представления о воздействии стресс-факторов на андрогенную функцию и создаст условия для разработки профилактических и лечебных средств, направленных на борьбу с данными нарушениями.

### Литература

1. Арестова, И. Ю. Оценка морфофизиологического эффекта Седимина® в условиях действия стресс-факторов / И. Ю. Арестова, В. В. Алексеев, И. Б. Каримов // *Universum: химия и биология*. – 2016. – № 5 (23). – Режим доступа: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/3160>.
2. Kataria, N. Heat stress induced changes in metabolic regulators of donkeys from arid tracts in India / N. Kataria, A. K. Kataria // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. – 2012. – Vol. 8. – N. 2. – P. 193-198.
3. Katsuyuki, A. Metabolic syndrome and oxidative stress / A. Katsuyuki, F. Toshiro // *Free Radical Biology & Medicine*. – 2009. – N. 47. – P. 213-218.
4. Roels, K. Collection and freezing of equine epididymal spermatozoa / K. Roels, B. Leemans, C. Ververs // *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. – 2014. – N. 83. – P. 321-325.

**Сведения об авторах**

1. **Алексеев Владислав Вениаминович**, доктор биологических наук, доцент, декан факультета естественнонаучного образования, Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева, 428000, Чувашская Республика, г. Чебоксары, ул. К. Маркса, 38; e-mail: avladbio@yandex.ru, тел. 8-927-851-07-37;

2. **Арестова Инесса Юрьевна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биоэкологии и химии, Чувашский государственный педагогический университет им. И. Я. Яковлева, 428000, Чувашская Республика, г. Чебоксары, ул. К. Маркса, 38; e-mail: nessizz@rambler.ru, тел. 8-906-387-46-56.

**THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE TESTES OF MALE WHITE RATS IN THE APPLICATION OF SEDIMIN® ON THE BACKGROUND OF STRESS**

**V.V. Alekseev, I.Yu. Arestova**

*Chuvash State Pedagogical University named after I. Ya. Yakovlev  
428000, Cheboksary, Russian Federation*

**Abstract.** *Impaired androgenic function of productive animals is often associated with stresses caused by industrial conditions of animals. Therefore, the study of the effect of stress on the reproductive function of the body is an urgent problem, as it allows us to study the mechanisms of its effect on androgenic function, which leads to the appearance of deviations, as well as to develop methods for their prevention. The aim of the research was to study the effect of the veterinary drug Sedimin®, containing iodine and selenium, on the morphofunctional state of the testes of white rats in the conditions of an experimental model against a background of hungry and emotional stress. The object of the experiment was outbred white rats. The relative mass of the testes, the number of epididymal spermatozoa and their morphophysiological features were studied. The positive effect of the veterinary drug Sedimin® has been established. A single use of Sedimin® before placing experimental animals in simulated experimental conditions helped to reduce the negative effects of hungry and emotional stress on the morphophysiological parameters of spermatogenic epithelium and germ cells. It was found that the use of this veterinary preparation allows preserving in rats under stress the number of living and dead germ cells, as well as the number of epididymal spermatozoa in suspension and their viability at the level of indicators of animals not subjected to stress. Moreover, the number of dead spermatozoa was significantly higher in animals that did not receive drugs, and the number of epididymal sperm in suspension, as well as living germ cells, decreased significantly.*

**Key words:** *hunger stress, emotional stress, white rats, testes, sperm, Sedimin®.*

**References**

1. Arestova, I. YU. Ocenka morfofiziologicheskogo effekta Sedimina® v usloviyah dejstviya stress-faktorov / I. YU. Arestova, V. V. Alekseev, I. B. Karimov // Universum: himiya i biologiya. – 2016. – № 5 (23). – Rezhim dostupa: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/3160>.
2. Kataria, N. Heat stress induced changes in metabolic regulators of donkeys from arid tracts in India / N. Kataria, A. K. Kataria // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2012. – Vol. 8. – N. 2. – P. 193-198.
3. Katsuyuki, A. Metabolic syndrome and oxidative stress / A. Katsuyuki, F. Toshiro // Free Radical Biology & Medicine. – 2009. – N. 47. – P. 213-218.
4. Roels, K. Collection and freezing of equine epididymal spermatozoa / K. Roels, V. Leemans, S. Ververs // Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift. – 2014. – N. 83. – P. 321-325.

**Information about authors**

1. **Alekseev Vladislav Veniaminovich**, Doctor of Biology Sciences, Associate Professor, Dean of Faculty of Natural-Science Education, Chuvash State Pedagogical University named after I. Ya Yakovlev, 428000, Chuvash Republic, Cheboksary, K. Marks str., 38; e-mail: avladbio@yandex.ru, tel. 8-927-851-07-37;

2. **Arestova Inessa Yurevna**, Candidate of Biology Sciences, Associate Professor of Bioecology and Chemistry, Chuvash State Pedagogical University named after I. Ya Yakovlev, 428000, Chuvash Republic, Cheboksary, K. Marks str., 38; e-mail: nessizz@rambler.ru, tel. 8-906-387-46-56.