

УДК: 57.619.591.2

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СИНЭСТРОЛА НА СЕМЕННИКИ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

¹Акрамова Э.Р., ²Сулайманова Р.Т., ³Квочко А.Н., ⁴Асхабова Э.Д.,
⁵Сулайманова Л.И.

¹ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет

²Университет «Реавиз»

³Ставропольский государственный аграрный университет

⁴Городская клиническая больница №15 им. О. М. Филатова

⁵Городская поликлиника №52

¹Адрес учреждения: 450008 Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д.47.

²Адрес учреждения: 199098 Россия, Санкт-Петербург, ул. Калинина, д.8.

³Адрес учреждения: 355017 Россия, Ставрополь, пер. Зоотехнический, д.12

⁴Адрес учреждения: 111539, Россия, Москва, ул. Вешняковская, д.23

⁵Адрес учреждения: 117546, Россия, Москва, ул. Медынская д.7

Акрамова Э.Р. Адрес электронной почты: linasletters@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-1289-9365>

Сулайманова Р.Т. Адрес электронной почты: rimma2006@bk.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1658-9054>

Квочко А.Н. Адрес электронной почты: kvochko@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4445-7638>

Асхабова Э.Д. Адрес электронной почты: eliza_askhabova92@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2796-7508>

Сулайманова Л.И. Адрес электронной почты: lsulajmanova@bk.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4445-7638>

Ключевые слова: *белые беспородные лабораторные мыши, потомство семенники, пренатальное воздействие, синэстрол.*

Введение. Негативное влияние на организм матери различных факторов в период беременности представляет основу для изучения возможных отклонений в последующем поколении, так как в этот период закладываются и формируются основы репродуктивного здоровья млекопитающих [1,2]. Стероидные гормоны активно используются в ветеринарии для создания генетически устойчивого потомства к внешним неблагоприятным факторам окружающей среды [3,4].

Некоторые источники научной литературы подтверждают, что пренатальное применение препаратов эстрагенового ряда, способствуют развитию патологических нарушений репродуктивных органов потомства [5,6].

Исходя из этого исследование экспериментальной модели пренатального воздействия синтетического препарата синэстрола на семенники потомства белых мышей является актуальной проблемой современной репродуктологии.

Цель исследования - анализ морфологических и морфометрических изменений в семенниках потомства половозрелых белых беспородных лабораторных мышей при пренатальном воздействии синтетического препарата синэстрола в критический период их закладки.

Материал и методы исследования. Экспериментальная работа была проведена на белых беспородных лабораторных самках мышей с массой 19–21 грамм. Все животные были разделены на две группы: интактная группа и экспериментальная группа при воздействии синтетического препарата синэстрола в виде 2%-ного масляного раствора в дозе 40 мкг/кг.

На стадии гестации Е 11.5 беременностью мышей в одно и то же время суток экспериментальной группе было введено внутримышечно 2 % масляный раствор синтетического аналога эстрогена, синэстрола: дозировка для экспериментальной группы составляла 40 мкг/кг, согласно патенту RU 2676437, 2018. Расчеты эффективности дозировки препарата проводились с использованием коэффициента пересчета доз в мкг/кг для мышей [7,8].

Получившееся потомство самцов выводили из эксперимента на 90-е сутки в одну и ту же стадию – диэструс [9, 10] и усыпляли под действием эфирного наркоза в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС Европарламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 года о защите животных в научных целях и в соответствии с рекомендациями других международных, российских и институциональных норм в области биоэтики [11].

Материалом для исследования послужили семенники потомства мышей. Органы фиксировали в 10%-ном растворе формалина в течении 24 часов, после промывки обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации.

Сечение зафиксированных органов осуществляли однотипно по центру органа, структурные компоненты семенников были рассмотрены на стандартной площади среза органов. Измерения средних параметров морфометрических структур семенников потомства осуществляли по всей площади среза органа. Для морфометрии и визуализации гистологических препаратов семенников потомства применяли инвертированный биологический микроскоп для лабораторных исследований Axioobserver со штативом D1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и лицензионного программного обеспечения ZEN 2018 (Германия).

Для анализа структурных элементов гонад потомства применялся объектив с увеличением в 90 раз, а фотографии гистологических препаратов производили с помощью цифровой камеры AxioCam MRc5 (ZEISS, Япония) при увеличении в 100 раз.

Статистическую обработку морфометрических показателей осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft, США), представленные в виде $M \pm m$. Достоверность различий оценивали с помощью метода Краскела-Уолиса, считая значимость изменений на уровне $p \leq 0,05$.

Результаты и их исследования об-суждение. Гистологическое исследование позволило установить, что ИСК мышей в контрольной группе обладали округлой и овальной формами.

Морфологический анализ подтвердил наличие рыхлой интерстициальной ткани, соединяющей петли семенных канальцев. В данной ткани располагаются эндокриноциты, также известные как glanduloциты или клетки Лейдига, являющиеся основным источником тестостерона.

Интерстициальные пространства между извитыми семенными канальцами были равномерно распределены и обладали преимущественно треугольной формы.

Интерстициальные клетки демонстрировали крупный размер и округлую форму. Микроскопическое исследование показало, что интерстициальные клетки характеризуются ацидофильной цитоплазмой и четкими, округло-овальными ядрами с 1-2 ядрышками. Внутренняя оболочка семенных канальцев была представлена сперматогенным эпителием, расположенным на базальной мембране. В состав сперматогенного эпителия входили правильно расположенные в пространстве канальца всех стадий генеративных клеток: сперматогонии, сперматоциты 1 и 2 порядков, сперматиды и сперматозоиды.

Проведенные морфологические исследования позволили выявить, что после воздействия синтетического гормонального синтетического препарата синэстрола в виде 2%-ного масляного раствора в дозе 40 мкг/кг, ИСК мышей потомства в экспериментальной группе обладали неправильной вытянутой формой, а в паренхиме отмечался процесс запустевания некоторых ИСК.

Морфометрический анализ ИСК потомства белых мышей показал снижение среднего количества ИСК, средней площади поперечного сечения ИСК и среднего диаметра ИСК, а также незначительное

увеличение средней толщины сперматогенного эпителия (табл. 1).

С помощью микроскопического метода удалось определить, что участки интерстициальной ткани между извитыми семенными канальцами располагались неравномерно и обладали многогранной формой. В семенниках мышей экспериментальной группы наблюдались отеки и разрыв интерстициальной ткани. Исследование показало общее распределение glanduloцитов в рыхлой интерстициальной ткани. Эндокриноциты располагались преимущественно одиночно, лишь иногда образуя небольшие группы, а большая часть glanduloцитов имела вытянутую и округлую формы.

Морфометрический анализ показал значительное снижение средней площади ядер интерстициальных клеток и количества р53 иммунопозитивных интерстициальных клеток в экспериментальной группе по сравнению с интактной группой (табл.).

Заключение. Выявленные морфологические изменения свидетельствуют о нарушении сперматогенеза и могут стать причиной нарушения функции мужской репродуктивной системы, что соответствует данным литературы [12,13].

Таблица
Морфометрические показатели извитых семенных канальцев потомства белых беспородных лабораторных мышей интактной и экспериментальной групп животных

Показатели	Интактная группа	Экспериментальная группа
Среднее количество извитых семенных канальцев	28,8±2,6	26,4±1,1
Средняя площадь поперечного сечения извитого семенного канальца, мкм ²	1696,20±562,39	1651,23±442,11
Средний диаметр извитых семенных канальцев, мкм	22,38±4,36	21,56±4,42
Средняя толщина сперматогенного эпителия, мкм	4,41±0,86	4,71±0,53
Средняя площадь ядер интерстициальных клеток, мкм ²	6,72±1,78	4,93±1,31*
Количество р53 иммунопозитивных интерстициальных клеток	5,4±1,1	4,0±0,7*

Примечание: * - статистически значимые различия по сравнению с интактной группой животных.

Список литературы

1. Сеин, О.Б. Ершов Р.А., Субботина Н.Н. Препарат половых феромонов барана для стимуляции репродуктивной функции у овец // – Курск: Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. №2, – с. 29-34.
2. Сулайманова Р. Т. Исследование пренатального влияния эстрогена на постнатальную морфологию семенников потомства // – Самара: Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. – 2023. №2, – с. 74–79.
3. Окутин А.С. Режим введения гормональных препаратов крольчихам для повышения эффективности искусственного осеменения / А.С.Окутин, Н.И.Куликова, Х.З.Заманов [и др.] // – Москва: Естественные и технические науки. – 2019. – № 12(138). – С. 127-130.
4. Павленко О.Б. Синхронизация эструса у коров / О.Б.Павленко, Д.А.Остриков, Э.Е.Острикова [и др.] // – Ростов: Вестник Донского государственного аграрного университета. – 2023. № 1(47). – с. 70-77.
5. Liu J., Guo M., Hu X., Weng X. Effects of Thyroid Dysfunction on Reproductive Hormones in Female Rats / J.Liu, M.Guo, X.Hu [et al.] // Chin J. Physiol. – 2018. Jun 30;61(3), – с. 152-162.
6. Karzi V., Tzatzarakis M.N., Hatzidaki E, Determination of prenatal exposure to parabens and triclosan and estimation of maternal and fetal burden // Toxicol Rep. – 2021. Apr 2;8, – p. 808-815. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.03.030.
7. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований // – Москва: Токсикологический вестник. – 2010. № 5, – с. 2–6.
8. Patent RU 2676437 A method for modeling the pro-carcinogenic effect of sinestrol on the ovaries of female offspring in laboratory mice / Sulaimanova R.T., Khairullin R.M., Imaeva A.K. and others. Publ. 01/09/2018.
9. Горбатюк С. М. Возрастные стромально-паренхиматозные перестройки яичников белых крыс // – Симферополь: Таврический медико-биологический вестник. – 2013. № 1, – с. 71–73.
10. Cora M. C., Kooistra L., Travlos G. Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears // Toxicologic Pathology. – 2015. 43(6), – p. 776–793.
11. О защите животных, используемых для научных целей: Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г.// НП "Объединение специалистов по работе с лабораторными животными". - СПб., 2012г.
12. Скрипкин В.С. Морфология и иммуногистохимия семенников животных при введении эстрогенов в пренатальном периоде : Методические рекомендации для профильных научных и педагогических работников, студентов и слушателей курсов повышения квалификации по специальностям «Зоотехния», «Зверовод-ство и охотоведение» и «Ветеринария» и зооветеринарных специалистов / В.С. Скрипкин, Р.Т. Сулайманова, А.Н. Квочко [и др.] // – Ставрополь : Ставропольский государственный аграрный университет, 2023. – 40 с
13. Сулайманова Р.Т. Экспрессия маркера p53 при пренатальном введении эстрогенов на семенники потомства белых лабораторных мышей // – Оренбург: Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2023. № 2, – с. 227-230.

XÜLASƏ

LABORATOR SIÇANLARININ NƏSLİNİN FORMALAŞMASINDA ONLARIN XAYALARINA SİNESTROLUN PRENATAL TƏSİRİNİN EKSPERİMENTAL MODELİ

¹Akramova Elina Rinatovna, ²Suleymanova Rimma Tagirovna, ³Kvoçko Andrey Nikolayeviç,

⁴Asxabova Eliza Cabrayilovna, ⁵Süleymanova Luiza İzatullayevna

¹Başqırdıstan Dövlət Tibb Universiteti, Ufa, Başqırdıstan Respublikası Rusiya

²«Reaviz» Universiteti, Sankt-Peterburq, Rusiya

³Stavropol Dövlət Aqrar Universiteti, Stavropol, Rusiya

⁴O.M. Filatov adına 15 saylı Şəhər Klinik Xəstəxanası, Moskva, Rusiya

⁵52 saylı Şəhər Poliklinikası, Moskva, Rusiya

Tədqiqatın məqsədi sintetik estrogen sinestrolün analoji preparatının təsiri altında cinsi yetkin ağ rəngli laboratoriya siçanlarının nəslərinin formalaşması dövründə xayalarda morfoloqik dəyişiklikləri təhlil etməkdir.

Ağ rəngli laboratoriya siçanlarının nəzarət və eksperimental qrupları tədqiq edilmişdir. Hamiləliyin E 11.5 mərhələsində eksperimental qrupa əzələdaxili olaraq 40mq/kq dozada sinestrolun 2%-li yağ məhlulu yeridilmiş, inəzarət qrup siçanları isə heç bir təsirə məruz qalmamışdır. Erkək siçanlar eksperimentin 90-cı günündə bioetik standartlara uyğun olaraq efir anesteziyası ilə evtanizasiya edilib. Siçanların xayalarında histoloji tədqiqatlar aparılmışdır

Morfometrik tədqiqat göstərmişdir ki, 40 µq/kq dozada sinestrolun təsirinə məruz qaldıqdan sonra qıvrılmış toxum borucuqların sayının, sahəsinin və diametrinin azalması, spermatogen epitelin qalınlığının artması, interstisial toxumanın qeyri-bərabər paylanması müşahidə edilir.

Sinestrolun sintetik estrogen analoqunun cinsi formalaşmanın prenatal dövrdə tətbiqinin dozalarını məhdudlaşdırmaq üçün eksperimental tədqiqat modeli tövsiyə edilə bilər.

Açar sözlər: *ağ laboratoriya siçanları, xayalar, prenatal təsir, sinestrol.*

SUMMARY

THE EFFECT OF A SUBTOXIC DOSE OF SYNESTROL ON THE MORPHOLOGY OF THE TESTES OF MICE OVER THE COURSE OF SEVERAL GENERATIONS

¹Akramova Elina Rinatovna, ²Rimma Tagirovna Sulaimanova, ³Kvochko Andrey Nikolaevich,

⁴Askhabova Eliza Dzhabrailovna, ⁵Sulaimanova Luisa Izatullayevna

¹Bashkir State Medical University Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

²«Reaviz» University, St-Petersburg, Russia

³Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia

⁴City Clinical Hospital No. 15 named after O. M. Filatov, Moscow, Russia

⁵City Polyclinic No.52, Moscow, Russia

The effect of the synthetic hormonal drug synestrol on the testes of offspring of white laboratory mice during prenatal exposure has been studied. Using classical morphological approaches, a study was conducted in which mothers of offspring of white mongrel laboratory mice on the 11th day of gestation E 11.5 gestation at the same time of day were once intramuscularly injected with the synthetic drug synestrol in the form of a 2% oil solution at a dose of 40 mcg/kg. Significant changes in the spermatogenic epithelium of the testes were revealed when exposed to the synthetic drug synestrol. There is a decrease in the average number of convoluted seminal tubules (ISC), the average cross-sectional area of ISC, the average diameter of ISC, the average area of interstitial cell nuclei and the number of p53 immunopositive interstitial cells, and an increase in the average thickness of the spermatogenic epithelium. The detected morphofunctional changes in the testes during prenatal exposure to the drug synestrol indicate an adverse effect on the male reproductive system.

Key words: *white mongrel laboratory mice, offspring, testes, prenatal exposure, synestrol*