

УДК 611.63/67+611.018+591.143.8+463.2.08
© М. Ф. Рыскулов, Н. Н. Шевлюк, 2016
doi: 10.18499/2225-7357-2016-5-4-53-56

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК ЛЕЙДИГА СЕМЕННИКОВ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, НАСЕЛЯЮЩИХ УРБАНИЗИРОВАННЫЕ ТЕРРИТОРИИ

М. Ф. Рыскулов, Н. Н. Шевлюк*

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет»

Минобрнауки России, г. Оренбург, Россия

*ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Оренбург, Россия

В статье представлены результаты комплексного исследования семенников мелких млекопитающих, обитающих на различных территориях г. Оренбурга. Проведен анализ морфофункционального состояния клеток Лейдига семенников животных, испытывающих воздействие условий урбанизированной среды. Установлены факты наличия деструктивных преобразований в эндокринных структурах гонад животных, населяющих городские территории. Выявлено, что степень устойчивости интерстициальных эндокриноцитов семенников является более высокой, в связи с этим деструктивные изменения в них менее выражены по сравнению со сперматогенным эпителием.

Ключевые слова: урбанизированная среда, мелкие млекопитающие, семенники, клетки Лейдига.

© М. Ф. Рыскулов, Н. Н. Шевлюк, 2016

Orenburg State Pedagogical University, Orenburg, Russia

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Comparative Morphological and Functional Characteristics of Leydig Cells of the Testes of Small Mammals that Inhabit Urban Areas

The article presents the results of a comprehensive study of the testes of small mammals that live in various territories of Orenburg. The analysis of the multi-functional status of the Leydig cells of the testes of small mammals affected by the conditions of the urbanized environment. The facts of the presence of destructive changes in the endocrine structures of the gonads of animals that inhabit urban areas. It is revealed that the degree of stability of the interstitial endocrinocytes of the testes is higher, therefore, the degree of destructive changes in them are less pronounced compared to the seminiferous epithelium.

Keywords: urban environment, small mammals, testes, Leydig cells.

Введение

Существенная роль в реализации репродуктивной стратегии млекопитающих принадлежит эндокринным структурам семенников – интерстициальным эндокриноцитам (клеткам Лейдига). Хотя различным сторонам структурно-функциональной характеристики клеток Лейдига посвящена обширная литература [1, 2, 4, 5, 8, 10, 12, 13 и др.], тем не менее, многие вопросы их морфологии и физиологии остаются дискуссионными и нуждаются в углублении, уточнении и дополнении.

К числу таких вопросов относятся исследования по изучению влияния адаптивных и реактивных преобразований эндокринных структур семенников.

Цель настоящего исследования – анализ морфофункционального состояния клеток Лейдига семенников половозрелых особей мелких млекопитающих, подвергшихся воздействию условий урбанизированной среды крупного города (на примере г. Оренбурга).

Материал и методы исследования

Объектом исследования служили семенники мелких млекопитающих из популяций, обитающих на территории г. Оренбурга.

Изучали семенники представителей 6 видов мелких млекопитающих: домовая мышь *Mus musculus L.* – 38 особей; степная пеструшка *Lagurus lagurus P.* – 30 особей; малая лесная мышь *Apodemus uralensis P.* – 28 особей; полевая мышь *Apodemus agrarius P.* – 26 особей; обыкновенная полевка *Microtus arvalis P.* – 23 особи; обыкновенная бурозубка *Sorex araneus L.* – 10 особей. Отлов животных производили на территории частного жилого сектора, в дачных массивах, расположенных в городской черте, на территории хлебоприемного предприятия, полосах отчуждения железных дорог, в лесополосах, в парках и скверах.

В качестве контрольных использовались млекопитающие тех же видов, обитающих в сходных экосистемах на экологически благополучных территориях Оренбургской области.

При проведении исследования соблюдались принципы биоэтики действующего законодательства РФ.

Полученный материал (семенники) обработан с использованием обзорных гистологических, гистохимических, иммуноцитохимических и морфометрических методов.

Для светооптических исследований материал фиксировали в 12% водном растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином, перйодатом калия и реактивом Шиффа по Мак Манусу. На гистологических препаратах проводили подсчет интерстициальных эндокриноцитов на условной единице площади (на площади квадрата со стороной 35 мкм). Морфометрические критерии, характеризующие функциональную активность интерстициальных эндокриноцитов, включают определение их количества, размеры клеток и размеры ядра [9]. Измеряли линейные и объемные показатели ядер интерстициальных эндокриноцитов. В зависимости от формы клеток и их ядер объема клеток Лейдига вычисляли по формуле эллипса или шара [6]. На той же условной единице площади срезов подсчитывали количество клеток Лейдига, проявляющих морфологические эквиваленты высокой функциональной активности (функционально высоко активными считали эндокриноциты средних и крупных размеров с развитой цитоплазмой, имеющие светлые крупные ядра с выраженным эухроматином в ядре).

С использованием иммуноцитохимических методов на срезах семенников определяли экспрессию белков Ki67, P53, bcl2.

Морфометрию интерстициального компартамента семенников осуществляли с применением стандартных окулярных сеток Г. Г. Автандилова и С. Б. Стефанова, а также окулярного винтового микрометра МОВ-1-15 × У 4,2. Полученные в ходе морфометрии цифровые данные обрабатывали с помощью общепринятых методов вариационной статистики с использованием программы Microsoft Office Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

Клетки Лейдига располагаются в семенниках млекопитающих, как и в мужских гонадах представителей других классов позвоночных, группами или поодиночке, локализуясь вокруг капилляров либо перитубулярно [8, 10]. Сравнительный анализ показал, что подавляющее большинство в популяции интерстициальных эндокриноцитов семенников составляют дифференцированные, зрелые клетки Лейдига.

В семенниках исследованных мелких млекопитающих, обитающих на урбанизированных территориях, было выявлено наличие деструктивных изменений в извитых семен-

ных канальцах и в интерстиции органа. Однако степень устойчивости интерстициальных эндокриноцитов семенников является более высокой, в связи с этим степень деструктивных изменений в них менее выражена по сравнению со сперматогенным эпителием.

В интерстициальной ткани исследованных животных выявлено изменение численности и доли функционально активных клеток Лейдига в сопоставлении с данными клетками мелких млекопитающих экологически благополучных регионов (табл.). Максимальная численность данных клеток регистрировалась в апреле–июне.

Помимо этого отмечено усиление гетероморфности их популяции с увеличением доли отросчатых и веретеновидных клеток, которым присущи уменьшенные в объеме цитоплазма и ядро.

Изменение количества клеток Лейдига может быть сопряжено либо с гибелью данных клеток, либо с потерей ими функциональной активности и переходом в фазу покоя.

Рассматривая зависимость морфофункциональной характеристики интерстициальных эндокриноцитов от их топографического положения в семенниках, следует подчеркнуть, что максимальным объемом ядер обладают клетки Лейдига, расположенные около канальцев с деструктивными изменениями сперматогенного эпителия, а также вокруг канальцев, в которых наблюдаются процессы активной пролиферации сперматогоний.

Функциональная активность перитубулярных клеток Лейдига в условиях естественных биоценозов существенно варьирует в зависимости от стадии цикла сперматогенного эпителия того канальца, рядом с которым они находятся. Акцентирует на себя внимание факт высокой функциональной активности клеток Лейдига, локализованных около канальцев с деструкцией сперматогенного эпителия.

Этот факт свидетельствует о значительной роли продуктов секреции клеток Лейдига в регуляции деструктивных изменений в сперматогенном эпителии. Если степень деструктивных сдвигов в сперматогенном эпителии не превышает уровень адаптивных возможностей сперматогенного эпителия, то такая активизация эндокринной функции семенников обычно приводит к нормализации морфофункциональной характеристики сперматогенного эпителия.

Одним из показателей функционального состояния интерстициальных эндокриноцитов является величина их ядер. Активность клеток Лейдига коррелирует, по мнению ряда исследователей, с величиной их ядра [7, 9, 11].

Нами обнаружено, что у животных, обитающих в урбоценозах, имеет место уменьшение среднего размера ядер клеток Лейдига по сравнению с контрольными животными.

Таблица

Морфофункциональная характеристика эндокринных структур семенников домовый и малой лесной мыши, обитающих на урбанизированных территориях (территории г. Оренбурга, июнь 2014 г.)

Экосистемы	Изучаемые параметры		
	Площадь интерстициальной ткани (%)	Количество клеток Лейдига (на единицу площади)	Объем ядер клеток Лейдига (мкм ³)
Домовая мышь (n=12)			
Частный жилой сектор	6.96±0.82*	4.87±0.74*	65.89±4.23
Дачные массивы	6.87±0.84*	5.74±0.33*	63.36±4.26
Хлебоприемное предприятие	5.35±0.84	4.34±0.93*	65.36±4.43
Полосы отчуждения железных дорог	5.45±0.84	4.37±0.74*	63.33±2.31
Лесополосы	5.34±0.76	5.79±0.65	66.44±3.72
Парки	7.91±0.50*	4.12±0.58*	61.45±1.21*
Скверы	7.78±0.86*	4.21±0.84*	61.44±1.13*
Контроль	4.72±0.83	6.76±0.49	67.75±2.32
Малая лесная мышь (n=13)			
Частный жилой сектор	7.56±0.86*	4.78±0.72*	65.77±4.26
Дачные массивы	7.34±0.82*	4.70±0.53*	64.63±4.12
Хлебоприемное предприятие	6.67±0.83	4.64±0.92*	63.56±4.48
Полосы отчуждения железных дорог	6.90±0.87*	4.43±0.71*	64.77±0.32*
Лесополосы	6.54±0.72	5.45±0.63	65.89±3.71
Парки	7.92±0.57*	3.84±0.59*	63.44±1.36*
Скверы	8.74±0.89*	4.16±0.82*	62.45±2.34*
Контроль	4.76±0.81	6.60±0.72	67.56±2.56

Примечание: различие с контролем достоверно при $p \leq 0.05$.

Анализ размеров клеток Лейдига и их ядер указывает на то, что, очевидно, в условиях дестабилизирующего воздействия урбанизированной среды в гонадах мелких млекопитающих происходит гибель интерстициальных эндокриноцитов крупных размеров, а клетки со средними размерами цитоплазмы и ядер, видимо, более устойчивы к действию повреждающих факторов.

Количественные характеристики клеток Лейдига характеризуются следующими показателями. Средний объем ядер интерстициальных эндокриноцитов в течение теплого периода исследования, например, у домовый мыши на территориях города составил: в мае – 62.74±3.4 мкм², в июне – 61.45±2.2 мкм²; у степной пеструшки, малой лесной мыши эта величина в пределах городской черты достигала в мае – 68.65±4.64 и 63.24±2.4 мкм², в июне – 67.67±4.53 и 62.45±2.7 мкм² соответственно. Аналогичные явления отмечались и в мужских половых железах других исследованных животных.

Следует отметить, что клетки Лейдига животных из экологически благополучных регионов имеют более крупные размеры цитоплазмы и ядер.

Объем клеток Лейдига и их ядер закономерно изменяется в процессе цирканнуального ритма [9, 11, 12]. Ввиду того, что значительный объем ядер клеток Лейдига является косвенным свидетельством их высокой функциональной активности, то полученные морфометрические параметры указывают на то,

что в период весенне-летнего сезона стероидогенная активность клеток Лейдига исследованных животных находилась на высоком уровне.

Иммуноцитохимический анализ показал, что в условиях урбанизированной среды в популяции клеток Лейдига отмечено повышение экспрессии проапоптотического белка P53, наиболее рельефно проявляющееся у степной пеструшки, полевой мыши, обыкновенной бурозубки, особенно у животных, населяющих парки и скверы. У этих же животных отмечено снижение экспрессии маркера пролиферации белка Ki67.

С наступлением осени в сентябре обнаруживалось снижение среднего объема интерстициальных эндокриноцитов как в урбанизированных, так и в природных экосистемах. Перечисленные обстоятельства свидетельствуют об уменьшении выработки мужских половых гормонов в гонадах изученных мелких млекопитающих.

Изменения со стороны интерстициальных эндокриноцитов были разнонаправленными у разных видов. У одних исследованных млекопитающих объемы клеток Лейдига и их ядер практически не отличались от животных, обитающих на фоновых территориях, у других – объемы клеток Лейдига были снижены по сравнению с контролем (табл.).

Выявленные нами данные о влиянии неблагоприятных факторов городской среды на клетки Лейдига подтверждают концептуальное представление о том, что интерстици-

альные эндокриноциты более устойчивы к влиянию всевозможных негативных факторов среды по сравнению со сперматогенным эпителием [3, 11].

Выводы

Полученные результаты указывают на то, что в условиях влияния дестабилизирующих факторов урбанизированной среды на организм наблюдается снижение функциональной активности эндокринных структур семенников ряда мелких млекопитающих, что может приводить к снижению фертильности самцов этих мелких млекопитающих.

При этом выявленные реактивные трансформации эндокринного аппарата характеризуются разнонаправленностью. С одной стороны, это реакции повреждения клеток Лейдига и их эффект для семенников в целом отражает угнетение эндокринной функции. С другой стороны, обнаруженные изменения свидетельствуют об адаптивных возможностях интерстициального компартмента мужских гонад к негативному воздействию условий урбанизированной среды.

Список литературы

1. Брюхин Г. В. Характеристика клеток Лейдига у потомства самок крыс с хроническим поражением печени различного генеза при действии иммобилизационного стресса / Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко, Е.В. Куставинова // Проблемы репродукции. 2014. Т. 20, №5. С. 22–25.
2. Дуденкова Н. А. Морфологические особенности клеток Лейдига в условиях острой интоксикации ацетатом свинца / Н.А. Дуденкова, О.С. Шубина // Международный научно-исследовательский журнал. 2012. № 7–1 (7). С. 29–31.
3. Мамина В. П. Морфофункциональные критерии оценки репродуктивного состояния мышевидных грызунов в радиобиологических исследованиях / В.П. Мамина // VI Съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность). М.: РУДН. 2010. Т. II. С. 45.
4. Морфофункциональные особенности размножения мелких млекопитающих в условиях урбанизированной среды обитания на примере г. Оренбурга / Н.Н. Шевлюк [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. №2. С. 201–203.
5. Рыскулов М. Ф. Эколого-морфологическая характеристика размножения мелких млекопитающих из популяций, испытывающих воздействие условий урбанизированной среды (на примере г. Оренбурга) / М.Ф. Рыскулов // Альманах молодой науки. 2015. №1. С. 9–13.
6. Ухов Ю. И. Морфологические методы в оценке функционального состояния семенников / Ю.И. Ухов, А.Ф. Астраханцев // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1983. Т. 84, №3. С. 66–71.
7. Францкевич Н. Н. Возрастные изменения клеток Лейдига семенников растущих кроликов / Н.Н. Францкевич // Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины. Минск, 1973. С. 52–63.
8. Шевлюк Н. Н. Морфофункциональная характеристика интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига) семенников некоторых позвоночных в условиях сезонного изменения репродуктивной активности / Н.Н. Шевлюк // Морфология. 1995. Т. 108, № 2. С. 57–60.
9. Шевлюк Н. Н. Сравнительная морфофункциональная характеристика эндокриноцитов семенников позвоночных (онтогенез, сезонные изменения, действие экстремальных факторов): автореф. дис. ... докт. биол. наук / Н.Н. Шевлюк. Москва, 1997. 40 с.
10. Шевлюк Н. Н. Морфофункциональная характеристика интерстициальных эндокриноцитов семенников суслика рыжеватого в условиях сезонного изменения репродуктивной активности / Н.Н. Шевлюк // Морфология. 1998. Т. 114, №4. С. 88–93.
11. Шевлюк Н. Н. Клетки Лейдига семенников позвоночных (онтогенез, ультраструктура, цитофизиология, факторы и механизмы регуляции) / Н.Н. Шевлюк, А.А. Стадников. Оренбург: ОпГМА, 2010. 484 с.
12. Sinha Hikim A. R. The seasonal breeding hamster as a model to study structure-function relationships in the testis / A.R. Sinha Hikim, A. Bartke, L.D. Russel // Tissue and Cell. 1988. V. 20, N. 1. P. 63–78.
13. Werner G. The fine structure of testicular interstitial cells in the mouse. A comparison after conventional double fixation versus rapid freezing followed by freeze substitution / G. Werner, B. Haben, K. Neuman // Journal of submicroscopic cytology and pathology. 1991. V. 23, N.3. P. 405–414.

Сведения об авторах

Рыскулов Марат Фиратович – ассистент кафедры зоологии и физиологии человека и животных ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный педагогический университет» Минобрнауки России. 460014, г. Оренбург, ул. Советская, 19. E-mail: mar-star89@yandex.ru.

Шевлюк Николай Николаевич – д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России. 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6. E-mail: k_histology@orgma.ru

Поступила в редакцию 29.04.2016 г.