

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.69-008.6:612.646:577.114]-092.9

ПОПЛАВСКАЯ
Елена Александровна

**НАРУШЕНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС
ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
(*E. coli* и *S. marcescens*)
КАК ПРИЧИНА РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск 2015

Работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель:

Лис Руслан Евгеньевич, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты:

Артишевский Александр Александрович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры морфологии человека учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Глушен Сергей Витальевич, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики Белорусского государственного университета

Оппонирующая организация:

Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 23 октября 2015 года в 13⁰⁰ на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83; e-mail: uchsovet@bsmu.by, телефон 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет». Автореферат разослан « ____ » сентября 2015 года.

Учёный секретарь совета
по защите диссертаций,
доктор медицинских наук, доцент



Н.А.Трушель

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время во многих странах мира, включая Республику Беларусь, наблюдается неблагоприятная демографическая ситуация. Анализ причин сложившегося положения показывает, что на формирование негативных процессов в демографии влияет сложный комплекс отрицательных факторов, в том числе и биологических – мужское и женское бесплодие, а также возрастание числа невынашиваний беременности. Всё это ставит перед учеными задачу изыскания путей выхода из создавшейся ситуации, так как репродуктивное здоровье является одним из факторов национальной безопасности [Кулаков В.И. и др., 2001; Привалова Н.И., Станишевская Л.С., 2014].

В настоящее время частота невынашивания беременности колеблется и составляет от 10 до 25% всех клинически диагностированных беременностей. Одной из главных причин данной патологии является неразвивающаяся беременность, частота которой составляет 18,9% [Доброхотова Ю.Э. и др., 2006; Радзинский В.Е. и др., 2009; Сотникова Н.Ю. и др., 2009; Лупояд В.С. и др., 2011; Ящук А.Г. и др., 2011; Левкович М.А. и др., 2012; Тотчиев Г.Ф., 2012; Боб Т.Д., 2013]. Полагают, что в статистику не входит большое количество очень ранних и субклинически протекающих беременностей. Спорадическое прерывание беременности на малых сроках многими исследователями рассматривается как проявление естественного отбора аномального развития кариотипа [Сидельникова В.М., 2007; Стрижаков А.Н., 2007; Веропотвелян П.Н. и др., 2009; Strizhakov A. et al., 2012].

Одной из ведущих причин невынашивания беременности являются инфекции, возбудителями которых выступают грамотрицательные микроорганизмы и их эндотоксины, представляющие собой липополисахариды (ЛПС) [Грищенко В.И., 1978; Ивановская, Т.Е., 1981; Гуртовой Б.Л. и др., 2004]. При воздействии на организм матери во время беременности бактериальные ЛПС вызывают нарушение дифференцировки тканей внутренних органов и коры головного мозга у плодов, что приводит к врожденным порокам развития, преимущественно костной и нервной системы, развитию гемолитической болезни новорожденных и токсическим поражениям внутренних органов [Лис Р.Е., Бандажевский Ю.И., 1986; Милош Т.С., Максимович Н.Е., 2009].

Успешность зачатия и течение беременности зависят от сохранности репродуктивной функции не только у женщины, но и у мужчины, их генетический вклад в здоровье своего потомства примерно одинаков. Однако андрологическим вопросам в репродуктологии уделяется недостаточное внимание. Поэтому назрела острая необходимость исследования мужской

половой системы не только при женском бесплодии и патологии беременности, но и при репродуктивных потерях в целом [Беломестнов С.Р. и др., 2004; Лупояд В.С. и др., 2011; Стрижаков А.Н., и др., 2012].

В литературных источниках практически не освещена роль ЛПС грамотрицательных бактерий в нарушении процессов онтогенеза потомства при их воздействии на отцовский организм перед зачатием. Поэтому экспериментальное исследование влияния бактериальных ЛПС грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* (*E. coli*) и *Serratia marcescens* (*S. marcescens*) на сперматогенез самцов белых крыс перед спариванием и процессы пренатального онтогенеза, полученного от них потомства представляется весьма актуальным, значимым и перспективным направлением.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертационное исследование выполнено в рамках государственной научно-технической программы «Разработка критериев оценки степени патофизиологических и патоморфологических нарушений при заболеваниях внутренних органов на основе анализа метаболитов белкового и аминокислотного обмена и создание новых методов диагностики, профилактики, лечения и реабилитации больных», государственный регистрационный № 20065772 от 30.11.2006.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – выявить нарушения сперматогенеза у самцов белых крыс под влиянием липополисахаридов грамотрицательных бактерий и установить связь между нарушениями сперматогенеза и репродуктивными потерями в пренатальном периоде онтогенеза.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Выявить структурные изменения в семенниках крыс в разные сроки после воздействия ЛПС *E. coli* и *S. marcescens*.
2. Установить гистохимические изменения в сперматогенном эпителии семенников крыс в разные сроки после воздействия ЛПС *E. coli* и *S. marcescens*.
3. Определить фертильность самцов крыс после воздействия бактериальных ЛПС *E. coli* и *S. marcescens*.
4. Оценить эмбриотоксичность ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* после воздействия на самцов крыс перед спариванием.

Объект и предмет исследования

Объектом исследования послужили семенники беспородных белых крыс-самцов, матка и яичники самок, а также плоды, полученные в результате спаривания самцов и самок. Выбор крыс в качестве экспериментальных животных обусловлен простотой и экономичностью содержания в условиях вивария [Западнюк И.П., 1983] и сходной организацией половой системы крысы и человека [Глаголев П.А., Ипполитова В.И., 1977], а также невозможностью моделирования указанных процессов в клинике.

Предмет исследования – морфометрические, цитофотометрические и электронно-микроскопические изменения в семенниках самцов крыс, а также особенности развития зародышей белых крыс при воздействии бактериальных ЛПС (*E. coli* и *S. marcescens*) на организм самцов крыс перед спариванием.

Выбор объекта и предмета исследования сделан в соответствии с целью и задачами исследования, определяемыми темой диссертации.

Положения, выносимые на защиту:

1. Однократное внутрибрюшинное введение ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* самцам крыс в дозе 50 мкг/кг массы вызывает морфофункциональные нарушения в семенниках животных, сохраняющиеся на протяжении длительного периода после воздействия.

2. Однократное внутрибрюшинное введение ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* самцам крыс в дозе 50 мкг/кг массы не оказывает негативного влияния на фертильность животных.

3. Однократное внутрибрюшинное введение ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* самцам крыс в дозе 50 мкг/кг массы до спаривания приводит к значительному увеличению предимплантационной гибели зародышей, не вызывает постимплантационную гибель потомства и не нарушает процессы фетогенеза у выживших плодов.

Личный вклад соискателя

Настоящая работа является результатом самостоятельного законченного научного исследования. Диссертантом лично выполнены патентно-информационный поиск по изучаемой проблеме, экспериментальная и методическая части работы. Данные, полученные при гистологических, гистохимических, морфометрических, цитофотометрических, тератологических, электронно-микроскопических и статистических исследованиях, обрабатывались соискателем самостоятельно. Совместно с научным руководителем, кандидатом биологических наук Р.Е. Лисом, осуществлялись выбор темы, постановка задач, планирование, организация и проведение всех этапов работы, оценка и интерпретация результатов

исследования. Основные научные результаты, представленные в диссертации, получены автором лично и изложены в статьях. В подготовку докладов и публикаций в соавторстве с научным руководителем вклад соискателя составляет 90% [1-16]. Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный процесс (5 актов внедрения).

Автор выражает искреннюю благодарность сотрудникам научно-исследовательской части Гродненского государственного медицинского университета и кандидату биологических наук Р.И. Кравчук за помощь при проведении электронно-микроскопического исследования.

Апробация результатов диссертации

Основные положения диссертационной работы были представлены в виде докладов на научных семинарах кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета (2011-2014 гг.); Республиканской научной конференции с международным участием «Фундаментальные науки и современная медицина» (Минск, 2012); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины», посвящённой 55-летию Гродненского государственного медицинского университета (Гродно, 2013); ежегодных итоговых научных конференциях Гродненского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2009, 2014).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ: 4 статьи в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень изданий ВАК Республики Беларусь (1,61 авторских листа), 11 статей в рецензируемых сборниках научных работ (1,46 авторских листа), 1 тезисы доклада – 0,06 авторских листа. Общий объем опубликованных материалов – 3,13 авторских листа.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа изложена на 117 страницах текста компьютерного набора и состоит из оглавления, введения, общей характеристики работы, основной части, включающей 5 глав, заключения, библиографического списка (на 16 страницах), который включает 208 источников литературы (из них 99 зарубежных) и 16 публикаций соискателя. Работа содержит 59 рисунков (на 30 страницах) и 36 таблиц (на 14 страницах).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Материалом исследования послужили 204 половозрелые беспородные белые крысы-самцы и самки. Проведены два экспериментальных исследования. Первое – по изучению влияния ЛПС грамотрицательных бактерий на сперматогенез самцов белых крыс (исследовано 108 самцов беспородных белых крыс (таблица 1)). Второе – по изучению влияния ЛПС грамотрицательных бактерий на процессы пренатального развития белых крыс при воздействии ЛПС на организм самцов крыс перед спариванием (18 самцов, 78 беременных самок и 235 плодов беспородных белых крыс (таблица 2)).

Таблица 1 – Количественное распределение животных в первом эксперименте

Сроки после воздействия, сутки	Количество животных в группах		
	Контроль (физ. раствор)	Опыт (ЛПС <i>E.coli</i>)	Опыт (ЛПС <i>S. marcescens</i>)
3 сутки	6	6	6
10 сутки	6	6	6
20 сутки	6	6	6
30 сутки	6	6	6
40 сутки	6	6	6
50 сутки	6	6	6
Итого	36	36	36

Таблица 2 – Количественное распределение животных во втором эксперименте

Воздействие	Количество животных в группах
Самцы	
Контроль	6
Внутрибрюшинное однократное введение ЛПС <i>E.coli</i> в дозе 50 мкг/кг массы тела животного	6
Внутрибрюшинное однократное введение ЛПС <i>S. marcescens</i> в дозе 50 мкг/кг массы тела животного	6
Самки	
Спаренные с самцами контрольной группы	6
Спаренные с самцами, получавшими ЛПС <i>E.coli</i>	36
Спаренные с самцами, получавшими ЛПС <i>S. marcescens</i>	36
Итого	96 (18 самцов, 78 самок)

В первом эксперименте самцы белых крыс были разделены на 3 группы. Самцам первой опытной группы вводили ЛПС *E. coli* в дозе 50 мкг/кг массы тела внутрибрюшинно, однократно; самцам второй опытной группы – ЛПС *S. marcescens* в той же дозе; самцам третьей (контрольной) группы – физиологический раствор в эквивалентном количестве. Самцов белых крыс опытных и контрольной групп на 3-й, 10-й, 20-й, 30-й, 40-й и 50-й дни после воздействия ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* взвешивали, усыпляли парами эфира с последующей декапитацией. Животных вскрывали и выделяли семенники. Одну часть семенников фиксировали в жидкости Карнуа для дальнейшего исследования. Изготовленные парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Вторую часть семенников замораживали в жидком азоте. В микротоме-криостате Microm HM 525 при температуре 15°C готовили серийные срезы семенников толщиной 10 мкм и монтировали на предметные стекла. Криостатные срезы окрашивали для выявления активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ), глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ) и НАДФН-дегидрогеназы (НАДФН-ДГ) [Ковальский Г.Б., 1978; Лойда З., 1982].

На окрашенных гематоксилином и эозином гистологических препаратах подсчитывали относительное число деструктивных канальцев по отношению ко всем канальцам на срезе семенника и количество клеточных ассоциаций в стенке извитого семенного канальца семенника (на 50 срезах канальцев). Определяли среднее количество нормальных сперматогоний и сперматоцитов на срезе извитого канальца семенника (на 20 срезах канальцев). Подсчитывали количество sustentоцитов на срезе извитого семенного канальца семенника (на 20 срезах канальцев), интерстициальных эндокриноцитов в поле зрения (10 полей зрения) и определяли площадь их ядер. В межканальцевой строме определяли диаметр перитубулярных гемокапилляров (10 полей зрения). Количественную оценку активности НАДН-ДГ, НАДФН-ДГ, ЛДГ, Г-6-Ф-ДГ и содержания рибонуклеопротеидов (РНП) в первичных сперматоцитах проводили, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме первичных сперматоцитов, на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций. Активность ферментов и содержание вещества выражали в единицах оптической плотности. В каждой экспериментальной группе оценивали не менее 100 клеток, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего статистического анализа.

Во втором эксперименте самцы белых крыс были разделены на 3 группы. Самцам первой опытной группы вводили ЛПС *E. coli* в дозе 50 мкг/кг массы внутрибрюшинно, однократно; самцам второй опытной группы – ЛПС *S. marcescens* в той же дозе. В качестве контроля (третья группа) использовались интактные животные. Самцов экспериментальных

групп спаривали с интактными самками, начиная с 45-х суток после воздействия ЛПС в течение 10 дней. При этом каждого самца из опытной группы спаривали с шестью самками, а каждого самца из контрольной группы – с одной самкой. Беременных самок белых крыс опытных и контрольной групп декапитировали под эфирным наркозом на 20-й день беременности. После вскрытия брюшной полости самок выделяли матку с яичниками. В яичниках определяли количество желтых тел. В матке подсчитывали количество мест имплантации и живых плодов крыс. Определяли массу плацент и живых плодов, плодно-плацентарный коэффициент и показатели пре- и постимплантационной гибели зародышей. Под лупой МБС-1 с двойным увеличением производили внешний осмотр плодов крыс с целью выявления врожденных пороков развития и признаков нарушения кровообращения. От каждой самки белой крысы один плод фиксировали в 96% этаноле и окрашивали костный скелет ализариновым красным по методу Вильсона-Дыбана для выявления очагов окостенения [Дыбан А.П., 1970]. У окрашенных плодов измеряли кранио-каудальный размер.

Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование, морфометрию и цитофотометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Для электронно-микроскопического исследования на 3-и сутки после воздействия ЛПС самцов крыс опытных и контрольной групп декапитировали, быстро вскрывали брюшную полость и выделяли семенники. Затем фиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия на 0.1 М буфере Миллонига, рН 7,4, при 4°C в течение 2 часов (Millonig, G., 1961). После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в аралдит (Glauert R.H., 1958). Из полученных блоков на ультрамикротоме MT-7000 ULTRA (USA) готовили полутонкие срезы толщиной 0,4 мкм и окрашивали метиленовым синим. Препараты просматривали в световом микроскопе и выбирали однотипный участок для дальнейшего изучения ультраструктурных изменений. Ультратонкие срезы (35 нм) контрастировали 2%-ым раствором уранилацетата на 50% метаноле [Watson M.L., 1958].

Электронно-микроскопические препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) при увеличениях 5 000-25 000 при ускоряющем напряжении 80 кВт. Для получения снимков использовался комплекс из цифровой камеры Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия).

Полученные цифровые данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной

программы Statistica 6.0 для Windows. Результаты исследования представлены в виде Me и Q_1 ; Q_2 , где Me – медиана, Q_1 и Q_2 – верхняя и нижняя квартили. Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* на строение семенников крыс

После введения ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы самцам крыс наблюдаются отёчность межканальцевой стромы семенников и увеличение в ней диаметра гемокапилляров. Наиболее выраженное увеличение диаметра гемокапилляров регистрируется на 3-и, 30-е и 40-е сутки после воздействия независимо от вида ЛПС (при введении ЛПС *E. coli* – на 27,13%, 22,37% и 27,21% ($p < 0,05$), соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 37,17%, 31,39% и 27,87% ($p < 0,05$), соответственно). Происходит уменьшение числа интерстициальных эндокриноцитов, особенно на 3-и, 30-е, 40-е и 50-е сутки после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 13,85%, 26,05%, 36,43% и 12,21% ($p < 0,05$), соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 24,42%, 10,87%, 19,51% и 4,63% ($p < 0,05$), соответственно). На 3-и, 40-е и 50 сутки после воздействия уменьшаются размеры ядер интерстициальных клеток (при введении ЛПС *E. coli* – на 23,06%, 15,22% и 13,25% ($p < 0,05$), соответственно; при введении *S. marcescens* – на 20,70%, 18,39% и 2,87% ($p < 0,05$), соответственно). Возрастает количество извитых семенных канальцев с деструктивными изменениями. После введения ЛПС *E. coli* на 3-и и 40-е сутки их число выше в 4,3 и 3 раза, соответственно, после введения ЛПС *S. marcescens* – на 3-и, 20-е и 50-е сутки после воздействия – в 2,9, 2,27 и 2,38 раза, соответственно.

Уменьшается количество ассоциаций клеток сперматогенного эпителия семенников крыс. Независимо от вида ЛПС количество клеточных ассоциаций снижено на 3-и, 40-е и 50-е сутки после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 5,29%, 4,73% и 4,69% ($p < 0,05$), соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 5,29%, 5,57% и 5,24% ($p < 0,05$), соответственно). Наблюдается уменьшение количества sustentоцитов в извитых семенных канальцах, что наиболее значительно на 3-и, 10-е, 30-е и 40-е сутки после воздействия ЛПС (при введении ЛПС *E. coli* – на 25,65%, 26,47%, 20,31% и 34,70% ($p < 0,05$), соответственно; в случае ЛПС *S. marcescens* – на 25,92%, 23,45%, 17,78% и

40,10% ($p < 0,05$), соответственно). Происходит снижение и площади их ядер. Наибольшее снижение регистрируется на 3-и и 30-е сутки после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 17,15% и 14,82% ($p < 0,05$), соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 17,27% и 8,07% ($p < 0,05$), соответственно). Происходит снижение количества сперматогоний в извитых канальцах семенников животных. При введении ЛПС *E. coli* наиболее выраженные изменения наблюдаются на 3-и и 50-е сутки после воздействия и составляют 23,72% и 25,17% ($p < 0,05$), соответственно. При воздействии ЛПС *S. marcescens* – на 3-и и 30-е сутки – на 24,01% и 9,88% ($p < 0,05$), соответственно. Уменьшается количество сперматозоидов в канальцах семенников во все исследуемые сроки. Наиболее значительное – на 3-и, 40-е и 50-е сутки после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 26,54%, 21,91% и 14,73% ($p < 0,05$), соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 21,85%, 19,64% и 19,39% ($p < 0,05$), соответственно). На ультрамикроскопическом уровне на 3-и сутки после воздействия ЛПС выявлены адаптационные изменения в семенниках. Наблюдается отечность базальной мембраны извитых семенных канальцев, появление вакуолеподобных пространств между клетками сперматогенного эпителия. Происходит изменение структуры клеток эпителио-сперматогенного слоя извитых семенных канальцев: изменяются размеры ядра и расположение в них ядрышек, фаголизосомы, сливаясь, образуют огромные участки, митохондрии, отличаются полиморфизмом с разной степенью фрагментации и редукции крист и просветленным матриксом.

Влияние ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* на гистохимические свойства первичных сперматозоидов семенников крыс

Введение ЛПС как *E. coli*, так и *S. marcescens* самцам крыс приводит к перестройке метаболизма клеток сперматогенного эпителия семенников (в частности первичных сперматозоидов). В цитоплазме клеток в ранние сроки после воздействия ЛПС (3-и, 10-е сутки) независимо от видовой специфичности бактерий, снижается количество РНП, что свидетельствует об угнетении белкового синтеза в клетках. При введении ЛПС *E. coli* количество РНП снижено на 33,33 и 32,77% ($p < 0,05$), соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 36,93 и 23,10% ($p < 0,05$), соответственно. Происходит изменение уровней активности ключевых ферментов энергетического обмена в цитоплазме первичных сперматозоидов. Активность НАДН-ДГ, вне зависимости от видовой специфичности ЛПС, изменяется одинаково в различные сроки после воздействия. На 3-и сутки происходит ее резкое увеличение (при введении ЛПС *E. coli* – на 27,90% ($p < 0,05$); при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19,18% ($p < 0,05$)), а затем с 10-х суток она уменьшается до 50-х суток после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 25,19% и 19,53% ($p < 0,05$),

соответственно; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 38,93%, 35,29%, 43,88%, 41,08% и 43,75%, соответственно ($p < 0,05$). Уровень активности НАДФН-ДГ снижен, начиная с 10-х суток после воздействия и до окончания эксперимента. Наиболее значительное его уменьшение регистрируется: при введении ЛПС *E. coli* – на 30-е сутки и составляет 73,58% ($p < 0,05$); при введении ЛПС *S. marcescens* – на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е и 50-е сутки и составляет 36,71%, 31,29%, 43,16%, 35,60% и 34,78%, соответственно ($p < 0,05$). При введении самцам крыс ЛПС *E. coli* происходит увеличение уровня активности ЛДГ во все исследуемые сроки, особенно на 3-и сутки после воздействия – на 20% ($p < 0,05$). При введении ЛПС *S. marcescens* на 3-и сутки активность ЛДГ повышается незначительно (на 0,63%, $p > 0,05$), а с 10-х суток после воздействия, происходит снижение ее уровня, особенно на 20-е и 50-е сутки – на 24,46% и 29,25% ($p < 0,05$), соответственно. Уровень активности Г-6-ФДГ в цитоплазме сперматоцитов на всём протяжении эксперимента изменялся незначительно и не отличался от контрольных показателей. При введении ЛПС *E. coli* на 3-и, 10-е, 20-е, 30-е, 40-е и 50-е сутки – на 20%, 11%, 8,9%, 4,6%, 19,4% и 15%, соответственно ($p > 0,05$); при введении ЛПС *S. marcescens* – на 16,4%, 13%, 12,5%, 17%, 17%, соответственно ($p > 0,05$).

Влияние ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens*, введённых самцам крыс, на пренатальное развитие их потомства

Введение ЛПС грамотрицательных бактерий как *E. coli*, так и *S. marcescens* самцам крыс в дозе 50 мкг/кг массы за 44-46 суток до начала спаривания с самками крыс в контрольной группе приводит к значительному увеличению предимплантационной гибели потомства (таблица 3). При этом постимплантационная гибель зародышей крыс не увеличена по сравнению с контролем (таблица 3). Процессы фетогенеза у выживших плодов, полученных в результате спаривания самцов и самок экспериментальных групп, не нарушены (массы плодов, плацент, плодно-плацентарный коэффициент и кранио-каудальные размеры плодов опытных крыс не отличаются от таковых в контроле) (таблицы 4 и 5).

Таблица 3 – Показатели пред- и постимплантационной гибели зародышей животных опытных и контрольной групп (Me (Q₁; Q₂))

	Контроль	ЛПС <i>E. coli</i>	ЛПС <i>S. marcescens</i>
Предимплантационная гибель	0,00 (0,00; 1,00)	5,60* ↑ (4,90; 7,70)	3,45* ↑ (3,20; 3,80)
Постимплантационная гибель	0,00 (0,00; 0,00)	0,00 (0,00; 0,30)	0,20 (0,20; 0,30)

Таблица 4 – Масса плодов и плацент, плодно-плацентарное отношение животных контрольной группы и при воздействии ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* (Me (Q₁; Q₂))

Масса, г	Контроль	ЛПС <i>E. coli</i>	ЛПС <i>S. marcescens</i>
плода	2,26 (2,15; 2,51)	2,19 (2,09; 2,29)	2,25 (2,16; 2,53)
плаценты	0,61 (0,58; 0,70)	0,56 (0,56; 0,66)	0,65 (0,60; 0,68)
Плодно-плацентарный коэффициент (ППК)			
ППК	3,68 (3,59; 3,78)	3,75 (3,36; 3,86)	3,81 (3,17; 4,11)

Таблица 5 – Кранио-каудальные размеры плодов животных опытных и контрольной групп, мм

Воздействие	Me (Q ₁ ; Q ₂)
Контроль	31,97 (30,88; 32,74)
ЛПС <i>E. coli</i>	31,55 (31,91; 32,25)
ЛПС <i>S. marcescens</i>	32,34 (31,55; 32,61)

Так как ЛПС вводили только самцам крыс за 44-46 суток до спаривания, и прямое действие на эмбрион исключается, вероятно, ЛПС действует на развивающиеся глубокие нарушения во всех структурных компонентах семенников крыс: строме, микроциркуляторном русле, интерстициальных (эндокринных) клетках, продуцирующих тестостерон, необходимый sustentоцитам, создающим условия для развивающихся сперматозоидов. Можно предположить, что в результате нарушения пролиферации и дифференцировки клеток-предшественников сперматозоидов образуются дефектные сперматозоиды, что в конечном итоге приводит к гибели зародыша в доимплантационный период пренатального развития, но не влияет на дальнейшее развитие выживших плодов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Однократное внутрибрюшинное введение ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы самцам крыс вызывает нарушения структуры семенников. Развивается отечность их межканальцевой стромы, расширяются гемокapилляры. На 3-и, 30-е и 40-е сутки после введения ЛПС *E. coli* их диаметр увеличивается на 22-27% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 27-37% ($p < 0,05$). На 3-и,

30-е, 40-е и 50-е сутки после введения количество интерстициальных эндокриноцитов при воздействии ЛПС *E. coli* снижается на 12-36% ($p < 0,05$), а при воздействии ЛПС *S. marcescens* – на 5-24% ($p < 0,05$). Площадь их ядер значительно уменьшена на 3-и, 40-е и 50-е сутки после введения ЛПС *E. coli* – на 13-23% ($p < 0,05$), а при введении *S. marcescens* – на 3-20% ($p < 0,05$).

Происходит увеличение относительного количества деструктивных семенных канальцев: после введения ЛПС *E. coli* особенно на 3-и и 40-е сутки (в 4,3 и 3 раза, соответственно), а после введения ЛПС *S. marcescens* – на 3-и, 20-е и 50-е сутки (в 2,9; 2,3 и 2,4 раза, соответственно). Под действием обоих видов ЛПС на 5% ($p < 0,05$) снижается количество ассоциаций клеток сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев на 3-и, 40-е и 50-е сутки после их введения. Наблюдается вакуолизация цитоплазмы и гибель sustentоцитов. Их количество в извитых семенных канальцах снижается на 3-и, 10-е, 30-е и 40-е сутки после воздействия ЛПС (при введении ЛПС *E. coli* – на 20-35%; при введении ЛПС *S. marcescens* – на 18-40% ($p < 0,05$)). Происходит уменьшение площади ядер sustentоцитов, что наиболее выражено на 3-и и 30-е сутки после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 15-17% ($p < 0,05$); при введении ЛПС *S. marcescens* – на 8-17% ($p < 0,05$)). На 3-и сутки после введения ЛПС обнаруживаются изменения ультраструктуры sustentоцитов: практически отсутствуют складки в плазмолемме, ядра отличаются полиморфизмом и уменьшаются в размерах, в цитоплазме наблюдаются многочисленные, местами сливающиеся скопления фаголизосом, митохондрии с разной степенью фрагментации и редукции крист.

Происходит снижение количества сперматогоний в извитых канальцах семенников крыс: при воздействии ЛПС *E. coli* особенно на 3-и и 50-е сутки после воздействия – на 23-25% ($p < 0,05$); при воздействии ЛПС *S. marcescens* – на 3-и и 30-е сутки – на 10-24% ($p < 0,05$). В сохранившихся сперматогониях наблюдается вакуолизация цитоплазмы, а на ультрамикроскопическом уровне отмечается активация ядерного аппарата, повреждение митохондрий и умеренная гиперплазия лизосомального аппарата. Уменьшается количество сперматоцитов в канальцах семенников, особенно на 3-и, 40-е и 50-е сутки после воздействия (при введении ЛПС *E. coli* – на 15-26% ($p < 0,05$); при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19-22% ($p < 0,05$)). В цитоплазме сперматоцитов сутки наблюдается гипертрофия митохондрий и появление многочисленных фаголизосом. Всё это свидетельствует о глубоких нарушениях сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев семенников и нарушениях сперматогенеза после воздействия бактериальных ЛПС *E. coli* и *S. marcescens*. [4, 8, 9, 11, 12, 15, 16].

2. Однократное внутрибрюшинное введение ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* самцам крыс приводит к гистохимическим изменениям сперматогенного эпителия в семенниках крыс. В ранние сроки (3-и и 10-е сутки) после введения ЛПС в

цитоплазме первичных сперматоцитов снижается содержание РНП (при воздействии ЛПС *E. coli* – на 33% ($p<0,05$); при воздействии ЛПС *S. marcescens* – на 23-37% ($p<0,05$)), что свидетельствует об угнетении белкового синтеза в клетках. На 3-и сутки после воздействия в их цитоплазме повышается активность НАДН-ДГ (при введении ЛПС *E. coli* – на 28% ($p<0,05$); при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19% ($p<0,05$)). Затем, начиная с 10-х суток и все последующие сроки после воздействия происходит снижение уровня активности данного фермента, что говорит об угнетении функции митохондрий. В случае воздействия ЛПС *E. coli* наиболее выраженное снижение активности НАДН-ДГ наблюдается на 10-е и 50-е сутки – на 19-25% ($p<0,05$), а при воздействии ЛПС *S. marcescens* – на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е и 50-е сутки – на 35-44% ($p<0,05$). Во все исследуемые сроки, независимо от видовой специфичности ЛПС, снижается активность НАДФН-ДГ в первичных сперматоцитах, что указывает на угнетение биосинтетических процессов в клетке, приводящих к нарушению пластического обмена, и что коррелирует с ультраструктурными изменениями. При введении ЛПС *E. coli* наиболее значительное снижение регистрируется на 30-е сутки и составляет 74% ($p<0,05$), а при введении ЛПС *S. marcescens* – на 10-е, 20-е, 30-е, 40-е и 50-е сутки и составляет 31-43% ($p<0,05$). После воздействия ЛПС *E. coli* в цитоплазме первичных сперматоцитов происходит увеличение активности ЛДГ во все исследуемые сроки, особенно на 3-и сутки после воздействия – на 20% ($p<0,05$). При введении ЛПС *S. marcescens* на 3-и сутки активность ЛДГ повышается незначительно, а начиная с 10-х суток после воздействия происходит снижение уровня его активности, особенно на 20-е и 50-е сутки – на 24-29% ($p<0,05$). Всё это свидетельствует о нарушении энергетического обмена в клетках-предшественниках сперматозоидов [3, 13, 14].

3. Однократное внутрибрюшинное введение ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы самцам крыс за 44-46 суток до спаривания не оказывает негативного влияния на фертильность животных. У всех самок крыс в экспериментальных группах в яичниках регистрируются желтые тела беременности. В группе животных при воздействии ЛПС *E. coli* количество жёлтых тел беременности в яичниках по медиане составляет 12,0, при воздействии ЛПС *S. marcescens* – 11,0, у контрольных животных – 12,0. Количество желтых тел беременности у самок, оплодотворенных контрольными и опытными самцами, не имеет различий. Наличие желтых тел беременности в яичниках самок в экспериментальных группах свидетельствует о том, что все самки были оплодотворены, – следовательно, фертильность самцов не нарушена [1, 2, 5, 6, 7].

4. Введение ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы самцам крыс за 44-46 суток до спаривания приводит к значительному увеличению

предимплантационной гибели зародышей. Значение медианы предимплантационной гибели зародышей при воздействии ЛПС *E. coli* равно 5,60; при воздействии ЛПС *S. marcescens* – 3,45; у контрольных животных – 0,00. При этом показатели постимплантационной гибели потомства крыс не отличаются от таковых в контроле (значение медианы при введении ЛПС *E. coli* равно 0, при введении ЛПС *S. marcescens* – 0,2; у контрольных животных – 0). Процессы фетогенеза у выживших плодов крыс не нарушаются, о чем свидетельствуют полученные данные по массе плодов, плацент, плодно-плацентарного коэффициента и кранио-каудальным размерам плодов животных, которые не имеют отличий от контрольных показателей. Показатель медианы массы живых плодов контрольных животных составляет 2,26 г, а массы плодов, полученных в результате оплодотворения самцами, получавшими ЛПС *E. coli* и *S. marcescens*, – 2,19 и 2,25 г, соответственно. Показатель медианы массы плацент контрольных самок составляет 0,61 г, а массы плацент у самок, оплодотворённых опытными самцами – 0,56 и 0,65 г, соответственно. Плодно-плацентарный коэффициент при введении ЛПС *E. coli* равен 3,75; при введении ЛПС *S. marcescens* – 3,81; у контрольных животных – 3,68. Значение медианы кранио-каудальных размеров плодов контрольных животных составляет 31,97 мм, опытных крыс (при введении ЛПС *E. coli* и *S. marcescens*) – 31,55 мм и 32,34 мм, соответственно [1, 2, 5, 6, 7, 10].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Представленные в работе результаты углубляют и расширяют представление о причинах самопроизвольного прерывания беременности на ранних сроках, а также позволяют расширить знания о влиянии бактериальных ЛПС на сперматогенез.

2. Полученные данные, выявленные в ходе настоящего экспериментального исследования, указывают на необходимость проведения профилактических мероприятий по предупреждению самопроизвольного прерывания беременности на ранних сроках.

3. Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный процесс Гродненского государственного медицинского университета (5 актов внедрения).

4. Полученные научно-обоснованные данные о морфологических, морфометрических и гистохимических изменениях в семенниках крыс могут использоваться при проведении дальнейших научных исследований по изучению воздействия ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* на семенники животных, а также на развитие полученного от них потомства.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах

1. Поплавская, Е.А. Эмбриотропное действие бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов (*E. coli* и *S. marcescens*) при введении их самцам крыс перед спариванием / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Журн. ГрГМУ. – 2007. – № 1. – С. 165–166.

2. Поплавская, Е.А. Влияние бактериальных липополисахаридов *E. coli* и *S. marcescens*, введённых самцам крыс перед спариванием на показатели пре- и постимплантационной гибели и развитие плодов / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Новости мед.-биол. наук = News of Biomed. Sci. – 2012. – Т. 6, № 4. – С. 140–144.

3. Поплавская, Е.А. Влияние бактериального липополисахарида *Escherichia coli*, введенного самцам крыс, на активность некоторых ферментов в цитоплазме сперматоцитов первого порядка / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Вестн. ВГМУ. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 50–57.

4. Поплавская, Е.А. Структурные изменения извитых семенных канальцев семенников крыс при воздействии бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Новости мед.-биол. наук = News of Biomed. Sci. – 2013. – Т. 7, № 2. – С. 122–128.

Материалы конференций

5. Поплавская, Е.А. Эмбриотропное действие бактериального липополисахарида *E. coli* при введении его самцам крыс перед спариванием / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Актуальные вопросы теоретической и практической медицины : материалы Респ. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов, посвящ. 15-летию образования Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 1-2 дек. 2005 г. : в 2 т. / ГоГМУ ; редкол.: С.В. Жаворонок [и др.]. – Гомель : ГоГМУ, 2005. – Т. 2. – С. 53–55.

6. Поплавская, Е.А. Влияние бактериального липополисахарида *Serratia marcescens* при введении его самцам крыс перед спариванием на показатели пре- и постимплантационной гибели потомства / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Актуальные проблемы морфологии : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию Бел. гос. мед. ун-та, Минск, 23-24 нояб. 2006 г. / БГМУ ; редкол.: П.Г. Пивченко. – Минск : БГМУ, 2006. – С. 128–129.

7. Лис, Р.Е. Влияние липополисахарида *S. marcescens* на показатели пре- и постимплантационной гибели потомства при введении его самцам крыс перед спариванием / Р.Е. Лис, Е.А. Поплавская // Безопасное материнство в

XXI веке : материалы VIII съезда акушеров-гинекологов и неонатологов, Витебск, 17-18 окт. 2007 г. / ВГМУ ; редкол.: В.И. Жарко [и др.]. – Витебск, 2007. – С. 237–239.

8. Лис, Р.Е. Морфологические изменения в семенных канальцах самцов крыс при воздействии бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов / Р.Е. Лис, Е.А. Поплавская // Актуальные вопросы медицины : (материалы конф., посвящ. 50-летию УО «ГрГМУ»), [Гродно, 23-24 окт. 2008 г.] / Гродн. гос. мед. ун-т ; ред. кол.: П.В. Гарелик (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2008. – С. 200–201.

9. Поплавская, Е.А. Влияние бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов на формирование структуры семенных канальцев самцов крыс / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Актуальные проблемы медицины : [сб. материалов конф., Гродно, 17 дек. 2009 г.] / ГрГМУ ; редкол.: В.М. Шейбак (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2009. – С. 310–313.

10. Лис, Р.Е. Влияние бактериальных липополисахаридов *E. coli* и *S. marcescens*, введённых самцам крыс перед спариванием на развитие плодов / Р.Е. Лис, Е.А. Поплавская // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч. конф., Гродно, 22 дек. 2010 г. / ГрГМУ ; редкол.: В.М. Шейбак (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2010. – С. 17–21.

11. Поплавская, Е.А. Влияние бактериальных липополисахаридов *E. coli* и *S. marcescens* на количество сперматогоний в семенных канальцах самцов крыс / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч. конф., Гродно, 22 дек. 2010 г. / ГрГМУ ; редкол.: В.М. Шейбак (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2010. – С. 39–41.

12. Поплавская, Е.А. Влияние бактериальных липополисахаридов *E. coli* и *S. marcescens* на структуру сперматогенного эпителия семенных канальцев / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Фундаментальные науки и современная медицина : материалы междунар. конф., Минск, 25-26 окт. 2012 г. / НАН Беларуси, Ин-т физиологии НАН Беларуси ; редкол.: И.В. Залуцкий [и др.]. – Минск : Промбытсервис, 2012. – С. 259–262.

13. Поплавская, Е.А. Влияние бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов, *E. coli* и *S. marcescens*, введенных самцам крыс, на активность НАДФН₂-дегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в цитоплазме сперматоцитов 1-го порядка на 1,3,6 сутки после введения / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., [Гродно], 22 янв. 2013 г. : в 2 ч. / [редкол.: В.А. Снежицкий и др.]. – Гродно, 2013. – Ч. 2. – С. 159–162.

14. Поплавская, Е.А. Активность ферментов в цитоплазме клеток сперматогенного эпителия семенных канальцев крыс при воздействии бактериальных липополисахаридов / Е.А. Поплавская, Р.Е. Лис // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. науч.-практ. конф., Гродно], 23 янв. 2014 г. / [редкол.: В.А. Снежицкий (отв. ред.), В.В. Зинчук, М.Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – С. 199–200.

15. Поплавская, Е.А. Морфологические особенности семенников крыс при воздействии бактериальных липополисахаридов грамотрицательных бактерий // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегодной науч.-практ. конф., [Гродно], 23 янв. 2014 г. / [редкол.: В.А. Снежицкий (отв. ред.), В.В. Зинчук, М.Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – С. 198–199.

Тезисы докладов

16. Лис, Р.Е. Влияние бактериальных липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов на морфологические изменения в семенных канальцах самцов крыс / Р.Е. Лис, Е.А. Поплавская // Материалы Республиканской конференции, посвященной 100-летию со дня рождения В.А. Бандарина, Минск, 29 мая 2009 г. / БГМУ ; редкол.: Е.В. Барковский [и др.]. – Минск : БГМУ, 2009. – С. 76–77.

РЭЗІЮМЭ

Паплаўская Алена Аляксандраўна

Парушэнне сперматагенезу самцоў белых пацукоў пад уплывам ліпаполіцукрыдаў грамадмоўных бактэрыяў (*E. coli* і *S. marcescens*) як прычына рэпрадукцыйных страт

Ключавыя словы: ліпаполіцукрыды (ЛПЦ) грамадмоўных бактэрыяў, сперматагенез, рэпрадукцыйныя страты, семянікі, гісталагія, морфаметрыя, ультраструктура.

Аб'ект даследавання: семянікі пацукоў-самцоў, матка і яечнікі самак, плады пацукоў.

Мэта даследавання: выявіць парушэнні сперматагенезу ў самцоў белых пацукоў пад уплывам ЛПЦ грамадмоўных бактэрыяў і вызначаць сувязі паміж парушэннямі сперматагенезу і рэпрадукцыйнымі стратамі ў прэнатальным перыядзе антагенезу.

Метады даследавання: тэраталагічны, саматаметрычны, гісталагічны, гістахімічны, цытафотаметрычны, морфаметрычны, электронна-мікраскапічны і статыстычны. **Апаратура:** крыстат Microm HM 525 (Leica Microsystems GmbH, Германія), светлавы мікраскоп Axioskop 2 plus (Zeiss, Германія), лічбавыя відэакамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германія), Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германія), электронны мікраскоп JEM-1011 (JEOL, Японія).

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню ўстаноўлены ўплыў ЛПЦ грамадмоўных бактэрыяў *E. coli* і *S. marcescens*, якія былі ўведзены самцам пацукоў перад спарваннем, на перарыванне цяжарнасці ў самак у даімплантацыйны перыяд. Паказаны ўплыў бактэрыяльных ЛПЦ на морфафункцыянальны стан семянікоў пацукоў у розныя тэрміны пасля ўздзеяння.

Рэкамендацыі па выкарыстанні. Вынікі праведзенага даследавання сведчаць пра неабходнасць правядзення прафілактычных мерапрыемстваў па папярэджанні самаадвольнага перарывання цяжарнасці на ранніх тэрмінах. Атрыманыя дадзеныя могуць выкарыстоўвацца пры правядзенні далейшых навуковых даследаванняў па вывучэнню ўздзеяння ЛПЦ грамадмоўных бактэрыяў *E. coli* і *S. marcescens* на семянікі жывёл, а таксама на развіццё атрыманага ад іх патомства.

Галіна выкарыстання: гісталагія, цыталогія, клеткавая біялогія, эксперыментальная эмбрыялогія, акушэрства і гінекалогія.

РЕЗЮМЕ

Поплавская Елена Александровна

Нарушение сперматогенеза самцов белых крыс под влиянием липополисахаридов грамотрицательных бактерий (*E. coli* и *S. marcescens*) как причина репродуктивных потерь

Ключевые слова: липополисахариды (ЛПС) грамотрицательных бактерий, сперматогенез, репродуктивные потери, яичко, гистология, морфометрия, ультраструктура.

Объект исследования: семенники крыс-самцов, матка и яичники самок, плоды крыс.

Цель исследования: выявить нарушения сперматогенеза у самцов белых крыс под влиянием липополисахаридов грамотрицательных бактерий и установить связь между нарушениями сперматогенеза и репродуктивными потерями в пренатальном периоде онтогенеза.

Методы исследования: тератологический, соматометрический, гистологический, гистохимический, цитофотометрический, морфометрический, электронно-микроскопический и статистический. **Аппаратура:** криостат Microm HM 525 (Leica Microsystems GmbH, Германия), световой микроскоп Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровые видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия), Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия), электронный микроскоп JEM-1011 (JEOL, Япония).

Полученные результаты и их научная новизна. Впервые установлено влияние ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens*, введенных самцам крыс до спаривания, на прерывание беременности у самок в доимплантационном периоде. Показано влияние бактериальных ЛПС на морфофункциональное состояние семенников крыс в разные сроки после воздействия.

Рекомендации по использованию. Результаты проведенного исследования указывают на необходимость проведения профилактических мероприятий по предупреждению самопроизвольного прерывания беременности на ранних сроках. Полученные данные могут использоваться при проведении дальнейших научных исследований по изучению воздействия ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* на семенники животных, а также на развитие полученного от них потомства.

Область применения: гистология, цитология, клеточная биология, экспериментальная биология, акушерство и гинекология.

SUMMARY

Poplavskaya Elena Aleksandrovna

Violation of spermatogenesis of male white rats under the influence of lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria (*E. coli* and *S. marcescens*) as a reason of reproductive losses

Key words: lipopolysaccharide (LPS) of Gram-negative bacteria, spermatogenesis, reproductive losses, testis, histology, morphometry, ultrastructure.

Object of study: testes of white male rats, uterus and ovaries of females, fetuses of rats.

Aim of study: to reveal the infringements of spermatogenesis in male white rats under the influence of lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria and establish a relationship between violations spermatogenesis and reproductive losses during the prenatal period of ontogenesis.

Methods of study: teratological, somatometrical, histological, histochemical, cytophotometrical, morphometrical, electron microscopical and statistical.

Apparatuses: cryostat Microm HM 525 (Leica Microsystems GmbH, Germany), light microscope Axioskop 2 plus (Zeiss, Germany), digital video cameras Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Germany), Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Germany), electron microscope JEM-1011 (JEOL, Japan).

Received results and their novelty. For the first time the influence of LPS of Gram-negative bacteria *E. coli* and *S. marcescens*, introduced to male rats before mating on the termination of pregnancy in females during preimplantation period has been established. The influence of bacterial LPS on the morphofunctional state of the testes of rats at different times after exposure has been shown.

Recommendations on use. The results of this study indicate the necessity to implement preventive measures for the prevention of miscarriage in early pregnancy. The data obtained can be used in further research to study the influence of LPS of Gram-negative bacteria *E. coli* and *S. marcescens* testes of animals as well as on the development of their offspring.

Field of application: histology, cytology, cell biology, experimental biology, obstetrics and gynecology.

Научное издание

Поплавская Елена Александровна

НАРУШЕНИЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА САМЦОВ БЕЛЫХ КРЫС
ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
(*E. coli* и *S. marcescens*)
КАК ПРИЧИНА РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОТЕРЬ

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Подписано в печать 18.09.2015.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. **1,16**. Уч.-изд. л. **1,19**. Тираж **80** экз. Заказ **179**.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».

ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.

