

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 611.37+611–013

doi:10.18499/2225-7357-2023-12-4-54-61

1.5.22 – клеточная биология

3.3.2 – патологическая анатомия



## Модель гипогонадизма способом ишемизации яичек и ее морфологическое обоснование

А. Д. Лисовский<sup>1</sup>, А. В. Дробленков<sup>1, 2✉</sup>, П. С. Бобков<sup>1, 2</sup>, А. А. Байрамов<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия<sup>2</sup>Санкт-Петербургский медико-социальный институт, Санкт-Петербург, Россия

**Аннотация.** Данное исследование посвящено морфологическому обоснованию модели мужского гипогонадизма и установлению эффективности его заместительной терапии при помощи морфологических методов. **Материал и методы.** Были исследованы 5 групп взрослых самцов крыс Вистар по 4 особи в каждой. Четыре группы крыс были экспериментальными. У них под наркозом перевязывали временной лигатурой левый и правый семенной канатик с сосудистым пучком, индуцируя гипогонадизм. У животных двух первых экспериментальных групп крыс лигатуру накладывали на 30 и 60 мин соответственно. Животным двух других экспериментальных групп проводили заместительную терапию путем введения кисспептина К6. Животным третьей экспериментальной группы кисспептин начинали вводить через несколько минут после восстановления кровотока в яичке (ex tempore), а крысам четвертой группы – через 3 суток. Продолжительность заместительной терапии – 7 суток. В гистологических срезах правого и левого яичка (n=8) подсчитывали число жизнеспособных и гибнущих интерстициальных эндокринных клеток (под контролем проводимой иммуногистохимической реакции с каспазой 3), вычисляли долю этих видов клеток от их общего количества, устанавливали площадь жизнеспособных эндокриноцитов. В крови животных всех групп определяли уровень тестостерона. Достоверность различий медианы, верхнего и нижнего квартилей сравниваемых параметров определяли, используя непараметрический критерий Манна–Уитни. **Результаты.** Установлено, что моделирование мужского гипогонадизма методом наложения двухсторонней лигатуры на сосуды семенного канатика в течение 60 минут и переживания животными последующие 10 суток индуцирует выраженные реактивные изменения и гибель части интерстициальных клеток, торможение и остановку сперматогенеза. Кисспептин KS6, вводимый ex tempore и регулярно после острой ишемии, обладает протекторным эффектом в отношении интерстициальных эндокриноцитов и сперматогенных клеток яичка, в том числе анти-апоптотическим, восстанавливающим сперматогенез, реализуемым вероятно, через активацию центральных звеньев гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси.

**Ключевые слова:** мужской гипогонадизм, ишемия яичек, интерстициальные эндокриноциты, реактивные изменения

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Лисовский А.Д., Дробленков А.В., Бобков П.С., Байрамов А.А. Модель гипогонадизма способом ишемизации яичек и ее морфологическое обоснование // Журнал анатомии и гистопатологии. 2023. Т. 12, №4. С. 54–61. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-4-54-61>

## ORIGINAL ARTICLES

Original article

## Model of Hypogonadism by Method of Testicular Ischemization and its Morphological Substantiation

А. Д. Лисовский<sup>1</sup>, А. В. Дробленков<sup>1, 2✉</sup>, П. С. Бобков<sup>1, 2</sup>, А. А. Байрамов<sup>1</sup><sup>1</sup>Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia<sup>2</sup>St. Petersburg Medical and Social Institute, St. Petersburg, Russia

**Abstract.** This study is devoted to the morphological substantiation of the model of male hypogonadism and establishing the effectiveness of its replacement therapy using morphological methods. **Material and methods.** 5 groups of adult male Wistar rats (4 individuals each) were studied. Four groups of rats were experimental. Under anesthesia, the left and right spermatic cords with the vascular bundle were tied with a temporary ligature, inducing hypogonadism. In the first two experimental groups of rats, the ligature was applied for 30 and 60 minutes (respectively). Animals in the other two experimental groups received replacement therapy by administering kisspeptin K6. Animals of the third experimental group began to receive kisspeptin a few minutes after restoration of blood flow in the testicle (ex tempore), and rats of the fourth group - after 3 days. The duration of replacement therapy is 7 days. In histological sections of the right and left testicle (n = 8), the number of viable and dying interstitial endocrine cells was counted (under the control of an immunohistochemical reaction with caspase 3), the percentage of these types of cells from their total number was calculated, and the area of

viable endocrinocytes was determined. Testosterone levels were determined in the blood of animals of all groups. The significance of differences in the median, upper and lower quartiles of the compared parameters was determined using the nonparametric Mann–Whitney test. **Results.** It has been established that the modeling of male hypogonadism by applying a double-sided ligature to the vessels of the spermatic cord for 60 minutes and the animals experiencing it for the next 10 days induces pronounced reactive changes and the death of some interstitial cells, inhibition and cessation of spermatogenesis. Kisspeptin KS6, administered ex tempore and regularly after acute ischemia, has a protective effect on interstitial endocrinocytes and testicular spermatogenic cells, including anti-apoptotic, restoring spermatogenesis, probably realized through the activation of the central links of the hypothalamic-pituitary-testicular axis.

**Keywords:** male hypogonadism, testicular ischemia, interstitial endocrinocytes, reactive changes

**Conflict of interests:** the authors declare no conflict of interests.

**For citation:** Lisovskii A.D., Droblenkov A.V., Bobkov P.S., Bairamov A.A. Model of hypogonadism by method of testicular ischemization and its morphological substantiation. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2023. V. 12, №4. P. 54–61. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2023-12-4-54-61>

## Введение

Актуальность разработки моделей гипогонадизма с целью поиска новых эффективных способов его лечения и профилактики обусловлена широкой распространенностью мужского бесплодия [13]. При этом, несмотря на значительный прогресс, главным образом в генетике, а также постепенное увеличение частоты УЗИ- и МРТ-исследований мужских половых путей, этиология гипогонадизма остается неясной примерно в 50% случаев [15].

Одно из новых перспективных направлений в исследовании способов восстановления нарушений эндокринных функций яичек связано с исследованием терапевтического потенциала пептидных препаратов, содержащих оригинальную молекулу регуляторного белка семейства кисспептинов (Kiss1). Основные эффекты белков данного семейства, направленные на усиление выработки гипоталамического гонадолиберина, вызывают выработанный ответ эндокриноцитов всех звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, поскольку функционируют через их мембранный рецептор кисспептина (GPR54/KISS1R), связанный с G-белком [14, 17, 18]. Накапливающиеся данные о функциональной роли Kiss1 определили рост исследовательского интереса в отношении степени вовлеченности этого вида регуляторных белков в патогенез гипогонадизма [6].

Между тем моделирование мужского гипогонадизма у взрослых животных разработано слабо, существуют косвенные модели гипогонадизма, например диабетическая, которые прямо не направлены на клетки-мишени гипоталамо-гипофизарно-яичковой эндокринной оси [2]. В литературе отсутствуют сведения о реактивных изменениях эндокринных клеток яичка при моделировании повреждения яичек разной длительности, что мешает создать морфологическую основу для разработки моделей мужского гипогонадизма.

Целью исследования является морфологический анализ интерстициальных эндокриноцитов яичка в норме, при эксперимен-

тальном гипогонадизме, а также после заместительной терапии.

## Материал и методы исследования

Ишемия яичек была вызвана путем наложения временной лигатуры на левый и правый семенной канатики с сосудистым пучком, аналогично методике воспроизведения тотальной ишемии яичника у крыс [3, 9].

Для эксперимента, одобренного этическим комитетом Института экспериментальной медицины (номер разрешения: 1/20 от 27.02.2020), были использованы 6 групп взрослых самцов крыс линии Вистар 6–8-месячного возраста массой 260–300 г (по 4 особи в каждой), выращенные в питомнике Рапполово (Ленинградская область). Четыре группы крыс были экспериментальными. Этих животных перед операцией, проводимой согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ от 2003 г. №267), наркотизировали по следующей схеме: золетил 0,3 мг («Virbac», Франция) и ксиланит 0,8 мг (ЗАО «НИТА-ФАРМ», Россия, г. Саратов), которые вводили внутривентриально из расчета суммарно 1,1 мг / 100 г массы животного. Действие наркоза верифицировали по исчезновению реакции на болевые раздражители (укол лапы) и угнетению зрачкового рефлекса. После наркоза крыс фиксировали на операционном столе в положении на спине. Кожу мошонки обрабатывали спиртом и разбавленным спиртовым раствором йода, затем находили и мобилизовали левый и правый семенной канатики с сосудистым пучком яичка в дистальной области мошонки. Между семенными канатиками сквозь кожный слой мошонки делали прокол, через который проводили две нитки для лигатуры толщиной 2 мм. Временной лигатурой перевязывали выделенные области мошонки – левый и правый семенной канатики с сосудистым пучком яичка. Туго затянутая лигатура вызывала гемостаз (выраженный венозный застой) в яичке, оцениваемый визуально. После снятия лигатуры, операционное поле обрабатывали стрептоцидом и 5% спиртовым

раствором йода. На второй день после операции анальгезию осуществляли по схеме: золетил – 0,1 мг / 100 г и ксилазин – 0,1 мл / 100 г массы крысы.

В двух первых экспериментальных группах крыс лигатуру накладывали на 30 или 60 минут соответственно, вызывая тем самым ишемию яичка средней или тяжелой степени. Животным двух других экспериментальных групп после острой однократной ишемии яичек длительностью 60 минут проводили заместительную терапию путем внутрибрюшинного введения киспептина KS6 (Cloud Clone, США) из расчета 0,5 мг на 1 кг веса животного. KS6 является структурным аналогом киспептина Kiss1 млекопитающих, отличающимся от Kiss1 концевым фрагментом (исследованные функции которого дублируют функции Kiss1 [5, 6]). При этом животным третьей экспериментальной группы киспептин начинали вводить через несколько минут после восстановления кровотока яичка (*ex tempore*), а крысам четвертой группы – через 3 суток. Продолжительность заместительной терапии составляла 7 суток.

Группа контроля состояла из ложноперированных крыс, которым под наркозом формировали и ушивали операционную рану без перевязки семенного канатика.

По истечении 10 суток животных декапитировали при помощи гильотины, оба яичка извлекали и фиксировали в 9% растворе нейтрального формалина. После заливки в парафин по стандартной схеме готовили срезы обоих яичек в продольной плоскости толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином Майера и эозином.

В срезах правого и левого яичек ( $n=8$ ) подсчитывали число жизнеспособных и гибнущих интерстициальных эндокринных клеток (под контролем проводимой иммуногистохимической реакции с каспазой 3), вычисляли долю этих видов клеток от их общего количества, устанавливали площадь жизнеспособных эндокриноцитов.

При помощи программы Imagescope (Электронный анализ, Россия) на стандартной площади среза 0,5 мм<sup>2</sup> подсчитывали число жизнеспособных и гибнущих эндокриноцитов, вычисляли долю этих видов клеток от их общего количества.

Для оценки числа гибнущих интерстициальных эндокриноцитов яичка были использованы моноклональные мышинные антитела против каспазы 3 (Affinity Biosciences, China) в разведении 500 мкг/мл. Вторичные биотинилированные антитела применяли из набора VECTASTAIN ABC (USA). Связанные антигены визуализировали при помощи диаминобензидина, после чего препараты заключали в бальзам.

Перед декапитацией с целью верификации развития гипогонадизма у животных всех групп исследовали кровь, взятую из хвостовой

вены. В плазме крови концентрацию тестостерона определяли при помощи твердофазного иммуноферментного анализатора Synergy 2 (BioTek USA) с использованием Elisa kit набора (CSB-E05100rTestEnzyme-linkedImmunosorbentAssayKitForthe quantitative determination of rat testosterone concentrations), которую также сравнивали со стандартами (с концентрацией 25,6 нг/мл, 6,4 нг/мл, 2 нг/мл, 0,5 нг/мл, 0,13 нг/мл, 0 нг/мл) на аппарате вертикального оптического абсорбциометра-монокроматора BioTek Synergy 2.

При использовании пакета статистической программы GraphPad PRISM 6.0 (GraphPad Software, USA) было установлено, что распределение параметров каждого вариационного ряда отличалось от нормального. Поэтому для установления достоверности различий сравниваемых величин вычисляли их медиану, верхний и нижний квартили, которые сравнивали, используя непараметрический критерий Манна–Уитни. Для установления достоверности различий концентраций тестостерона методом параметрической статистики (вычисляли среднюю арифметическую и ее стандартную ошибку:  $M \pm m$ ) использовали *t*-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,01$ .

## Результаты и их обсуждение

Интерстициальные эндокринные клетки яичка здоровых (контрольных) крыс представляли разнородную популяцию клеток, в которой преобладали крупные полигональные клетки с хорошо развитой светлой эозинофильной цитоплазмой и крупным светлым ядром, крупным ядрышком соответствующие их активной форме [19, 20]. Кроме клеток Лейдига интерстициальную соединительную ткань яичка составляло небольшое количество межклеточного вещества и единичные фибробласты, отличавшиеся, главным образом, формой, структурой ядра и склонностью к базофилии цитоплазмы. Способность к синтезу матрикса, наличие органелл синтетического аппарата, общее происхождение и способность к взаимотрансформации объединяет клетки Лейдига и фибробласты яичка [8, 19, 20].

Сперматогенные клетки во внутренней оболочке петель извитых канальцев находились на разных этапах сперматогенеза. Единичные сперматогонии и интерстициальные клетки содержали антиген к каспазе 3, сайты связывания которого контрастно выделялись на фоне слабо положительного диффузного окрашивания диаминобензидином структур яичка (рис. 1 а, б)

Через 30 мин ишемии и перерыве в 10 суток цитоплазма интерстициальных эндокриноцитов и строма между сечениями канальца были отечными. Многие сперматоген-



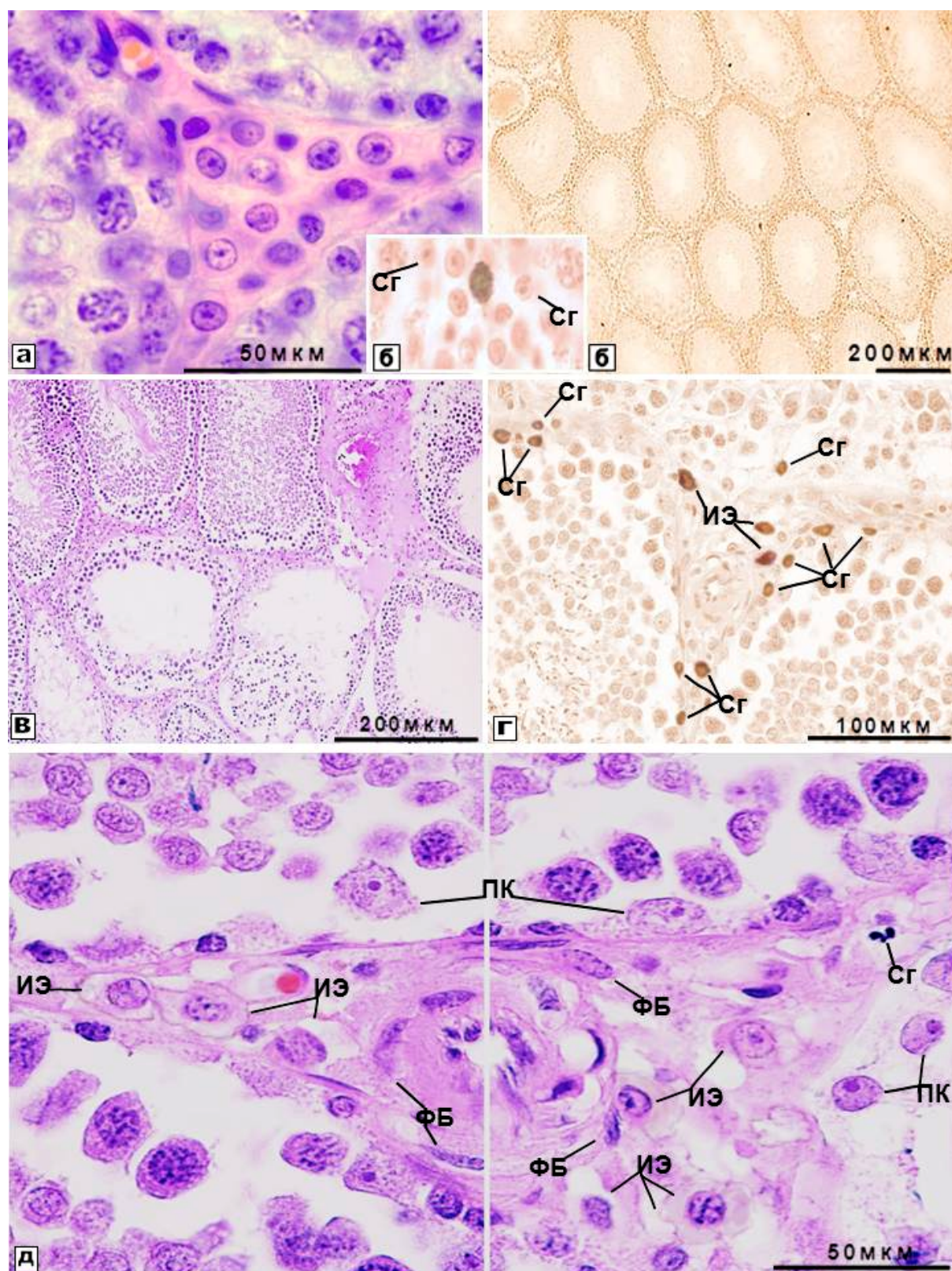


Рис. 1. Реактивные изменения тканей яичка крысы через 60 мин тотальной острой ишемии и 10 сут переживания (в, г, д) по сравнению с контролем (а, б). Обозначения: Сг – сперматогония, ИЭ – интерстициальный эндокриноцит, ПК – поддерживающая клетка, ФБ – фибробласт, СгГ – сегментоядерный гранулоцит. Окраска гематоксилином и эозином (а, в, д), иммуногистохимическое выявление каспазы 3 (б, ж). Ок.  $\times 10$ , об.  $\times 100$  (а, д, б\* – увеличенный фрагмент кадра б), об.  $\times 10$  (в), об.  $\times 40$  (г)

Fig. 1. Reactive changes in rat testicular tissue after 60 minutes of total acute ischemia and 10 days of recovery (в, г, д) compared to control (а, б). Designations: Сг – spermatogonia, ИЭ – interstitial endocrinocyte, ПК – supporting cell, ФБ – fibroblast, СгГ – segmented granulocyte. Hematoxylin and eosin staining (а, в, д), immunohistochemical detection of caspase 3 (б, ж). Oc. 10, ob. 100 (а, д, б\* – enlarged fragment of frame б), ob. 10 (в), ob. 40 (г).

Таблица 1 / Table 1

**Количественная характеристика интерстициальных эндокринных клеток и сперматогоний яичка после заместительной терапии кисспептином KS6 моделируемого гипогонадизма у крыс, (Me[Q1; Q3])**  
**Quantitative characteristic of testicular interstitial endocrine cells and spermatogonia after kisspeptin KS6 replacement therapy in simulated hypogonadism rats, (Me[Q1; Q3])**

Способ воздействия	Параметры					
	Интерстициальные эндокриноциты				Гибнущие сперматогонии	
	Жизнеспособные		Гибнущие			
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Нет	98,6	98,1	1,9	1,9	3,5	0,5
(ложная операция)	[92,3; 105,4]		[0,4; 3,3]		[1,4; 6,1]	
30 мин ишемия	87,7	84,1	16,5	15,9	10,1	1,6
	[73,1; 98,2]		[10,1; 21,0]*		[6,5; 18,2]*	
60 мин ишемия	54,8	53,6	47,5	46,4	42,6	6,6
	[40,1; 65,3]*		[37,4; 66,7]*		[29,7; 66,4]*	
60 мин ишемия и KS6 ex tempore	83,5	90,0	9,8	10,0	14,4	2,2
	[66,4; 95,3]**		[4,3; 16,6]**		[10,1; 19,3]**	
60 мин ишемия и KS6 через 3 сут	55,1	58,1	39,7	41,9	44,6	6,9
	[42,2; 66,8]		[30,1; 54,3]		[36,0; 58,1]*	

Примечание: число и доля клеток (%) в 0,2 мм<sup>2</sup> площади дольки яичка; \* – статистически значимые различия с параметрами у контрольных крыс (p<0,0001); \*\* – статистически значимые различия с параметрами у контрольных крыс и крыс после моделирования гипогонадизма (p<0,0001).

Таблица 2 / Table 2

**Изменения площади жизнеспособных интерстициальных эндокриноцитов яичка после заместительной терапии кисспептином KS6 моделируемого гипогонадизма у крыс, (Me[Q1; Q3])**  
**Changes in the area of viable testicular interstitial endocrinocytes after replacement therapy with kisspeptin KS6 in simulated hypogonadism rats, (Me[Q1; Q3])**

Способ воздействия	Площадь, мкм <sup>2</sup>
Нет	205,1
(ложная операция)	[180,4; 226,3]
30 мин ишемия	228,5
	[192,5; 254,9]
60 мин ишемия	293,0
	[218,0; 357,2]*
60 мин ишемия и KS6 ex tempore	201,0
	[176,4; 252,1]**
60 мин ишемия и KS6 через 3 сут	208,3
	[176,1; 254,5]**

Примечание: \* – статистически значимые различия с параметрами у контрольных крыс (p<0,0001); \*\* – статистически значимые различия с параметрами у контрольных крыс и крыс после моделирования гипогонадизма (p<0,0001).

ные клетки были отделены друг от друга и поддерживающих клеток (по-видимому вследствие нарушения синцитиальной связи), однако в сечениях канальца они представляли все 4 фазы сперматогенеза. Число клеток Лейдига и сперматогоний, чувствительных к каспазе 3, возросло в 3–8 раз (табл. 1); площадь интерстициальных существенно не изменилась (табл. 2). Уровень тестостерона в плазме крови животных 1-й экспериментальной группы был незначительно снижен (табл. 3).

Через 60 минут ишемии и 10-суточного перерыва интерстициальная строма яичка

была набухшей, разволокненной, окружала группы фибробластов; в ней обнаруживались единичные сегментоядерные лейкоциты, что свидетельствовало о развитии продуктивной воспалительной реакции. Обнаруживались сечения канальцев с уплощенной внутренней оболочкой, сперматогенез в которых останавливался на периоде роста (рис. 1 в, д). Интерстициальные клетки выглядели отечными, единичные – находились в процессе лизиса (некроз). Многие интерстициальные эндокриноциты и сперматогонии содержали антиген к каспазе 3 (рис. 1 г). Количество и доля жизнеспособных эндокриноцитов яичка этой группы животных были уменьшены, тогда как число и процент гибнущих эндокриноцитов – соответственно увеличены (табл. 1). Площадь сечения жизнеспособных эндокриноцитов была значительно увеличена (табл. 2), связи между клетками эпителио-сперматогенного слоя канальцев были нарушенными, по-видимому вследствие токсического отека. Перечисленные дегенеративные изменения интерстициальных и сперматогенных клеток происходили на фоне многократного снижения выработки тестостерона (табл. 3).

Аналогичные дегенеративные изменения тестостерон-продуцирующих интерстициальных клеток были обнаружены при моделировании женского гипогонадизма, индуцированного аналогичным образом [1]. Также были выявлены дегенеративные изменения тел кисспептин-продуцирующих нейроэндокринных клеток аркуатного гипоталамического ядра (уменьшение размеров, сморщивание, увеличение числа нежизнеспособных клеток-«теней»), перераспределение и снижение числа сайтов связывания рецепторов к тестостерону в отделанные сроки эксперимента, наблюдавшиеся при мужском гипогонадотропном гипогонадизме [3]. Данные

Таблица 3 / Table 3

**Содержание тестостерона в плазме крови самцов крыс при моделировании гипогонадизма и заместительной терапии кисспептином KS6 у крыс, (M±m)**  
**Testosterone content in the blood plasma of male rats during modeling of hypogonadism and replacement therapy with kisspeptin KS6 in rats, (M±m)**

№ экспериментальной группы	Способ воздействия	Концентрация тестостерона (нмоль/л)
	Нет (ложная операция)	14,1±2,28
1.	30 мин ишемия	9,62±2,12
2.	60 мин ишемия	3,72±0,71*
3.	60 мин ишемия и KS6 ex tempore	10,8±3,31*†
4.	60 мин ишемия и KS6 через 3 сут	6,11±0,92*#

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля; # –  $p < 0,05$  по сравнению с группой гипогонадных крыс №2; † –  $p < 0,05$  по сравнению с группой гипогонадных крыс №4, получавшей отсроченное лечение.

изменения были обусловлены снижением концентрации плазменного тестостерона, что было определено методом твердофазного ИФА в модели с удалением одного из яичек в раннем неонатальном периоде [6, 7]. Эти данные свидетельствуют о системном влиянии дефицита тестостерона (преимущественно дегенеративном) не только на периферические, но и на центральные звенья гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси. Последние в свою очередь могут частично определять морфофункциональные изменения эндокринных клеток яичка.

Заместительная терапия кисспептином KS6, вводимым в организм животных в течение первого часа после операции и ежедневно в течение 10 суток эксперимента, инициировала выраженные компенсаторные изменения исследованных структур яичка. Во многих сечениях извитого канальца присутствовали все 4 вида сперматогенных клеток, сайты связывания антигена каспазы 3 присутствовали в небольшом количестве интерстициальных эндокриноцитов и отдельных сперматогенных клетках. При данном способе заместительной терапии было выявлено значительное увеличение числа (и доли) жизнеспособных интерстициальных эндокриноцитов в яичке, а также сокращение абсолютного и удельного количества гибнущих клеток по сравнению с этими параметрами в основной экспериментальной группе (табл. 1). Вместе с тем влияние кисспептина KS6 на интерстициальные эндокринные клетки яичка выражалось склонностью к нормализации их строения: площадь их сечения была уменьшена и значительно не различалась с данным параметром в контроле (табл. 2). Выработка тестостерона, по сравнению с уровнем гормона в крови гипогонадных

крыс без лечения была увеличена более, чем в два раза (табл. 3).

В результате введения кисспептина KS6 через 3 суток после ишемии в течение 7 последующих суток количество и доля жизнеспособных и погибающих интерстициальных клеток яичка значительно не различались с этими величинами, полученными в ходе основного эксперимента без коррекции (табл. 3). Значительных различий в величине тел жизнеспособных эндокриноцитов при разных способах коррекции гипогонадизма кисспептином KS6 выявлено не было.

Однако тот же пептид, вводимый ex tempore и регулярно после острой ишемии в течение 10 суток обнаружил, по данным морфометрического анализа, компенсаторный протекторный эффект в отношении числа и площади жизнеспособных эндокриноцитов (табл. 1 и 2), сопровождающийся, в сравнении со 2-й и 3-й экспериментальными группами выраженным увеличением плазменного тестостерона до уровня, достоверно не различающегося с его уровнем в контроле (табл. 3).

Можно предположить, что данный компенсаторный периферический эффект кисспептина KS6 обусловлен его активирующим влиянием на гонадолиберин-продуцирующие нейроны гипоталамуса и гонадотропоциты гипофиза [10, 11]. Вместе с тем выявленная реципрокная закономерность (снижение концентрации половых стероидов и нарастание уровня ФСГ/ЛГ по мере увеличения длительности ишемии яичников) может являться следствием известных биологических механизмов взаимодействия этих стероидов и промотора гена рецептора гонадотропоцитов, который в нормальных условиях ингибирует экспрессию рецептора гонадотропина [10, 14].

## Заключение

Моделирование мужского гипогонадизма методом наложения двухсторонней лигатуры на сосуды семенного канатика в течение 60 минут и переживания животными последующих 10 суток индуцирует реактивное набухание и гибель части интерстициальных клеток, торможение и остановку сперматогенеза.

Кисспептин KS6, вводимый ex tempore и регулярно после острой ишемии, обладает протекторным эффектом в отношении интерстициальных эндокриноцитов, в том числе анти-апоптотическим, восстанавливающим сперматогенез. Вероятно, этот эффект реализуется через активацию центральных звеньев гипоталамо-гипофизарно-яичковой оси.

Апробируемая модель острой тотальной ишемии яичек и полученные морфометрические параметры тестикулярных эндокринных клеток могут быть использованы как основа для дальнейших фундаментальных и клинических исследований гипогонадизма.



## Список источников / References

1. Дробленков А.В., Прошина Л.Г., Юхлина Ю.Н., Байрамов А.А., Шабанов П.Д., Никитина И.Л. Тестостерон-зависимые изменения аркуатного ядра гипоталамуса и их обратимость при моделировании и мужского гипогонадизма. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2017;61(4):21–30. doi: 10.25557/IGPP.2017.4.8519 Droblenkov AV, Proshina LG, Yuhlina YuN, Bairamov AA, Shabanov PD, Nikitina IL. Testosterone-dependent changes in neurons of hypothalamic arcuate nucleus and reversibility of these changes by modeled male hypogonadism. *Patologicheskaya fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*. 2017 Dec 19;61(4(61)):21–30 (In Russ.). doi: 10.25557/IGPP.2017.4.8519
2. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Ермакова Н.Н. и др. Способ моделирования гипогонадизма, вызванного метаболическими нарушениями. Патент на изобретение № 2611936 С1 РФ. Заявл. 02.16.2016; Оpubл. 03.01.2017. Dygai AM, Skurikhin EG, Ermakova NN, et al. A method for modeling hypogonadism caused by metabolic disorders. Patent for invention No. 2611936 C1 RF. Application 16/02/2016; Publ. 01.03.2017 (In Russ.).
3. Маградзе Р.Н., Лисовский Д.А., Лисовский А.Д. и др. Реактивные изменения эндокринных клеток яичника при экспериментальном ишемическом повреждении. Вестник НовГУ. 2022;127(2):38–42. doi: 10.34680/2076-8052.2022.2(127).38-42 Magradze RN, Lisovsky DA, Lisovsky AD, Popkovsky NA, Bobkov PS, Bayramov AA, Droblenkov AV. Reactive Changes in Ovarian Endocrine Cells in Experimental Ischemic Damage. *Vestnik NovSU*. 2022;127(2):38–42. (In Russ.). doi: 10.34680/2076-8052.2022.2(127).38-42
4. Маградзе Р.Н., Лисовский Д.А., Лисовский А.Д. и др. Моделирование женского гипогонадизма путем ишемизации яичника и ее морфофункциональное обоснование. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022;20(3):289–95. doi: 10.17816/RCF203289-295 Magradze RN, Lisovsky AD, Lisovsky DA, Popkovsky NA, Bobkov PS, Байрамов А.А., et al. Modeling the female hypogonadism by means of ovarian ischemization and its morphofunctional justification. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022 Nov 9;20(3):289–95. (In Russ.). doi: 10.17816/RCF203289-295
5. Лебедев А.А., Блаженко А.А., Гольц В.А., Девяшин А.С., Лебедев В.А., Казаков С.В., и др. Действие аналогов ксипептина на поведение *Danio rerio*. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2022;20(2):201–10. doi: 10.17816/RCF202201-210 Lebedev AA, Blazhenko AA, Goltz VA, Devyashin AS, Lebedev VA, Kazakov SV, et al. Effects of kisspeptin analogues on the behavior of *Danio rerio*. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022 Oct 3;20(2):201–10. (In Russ.). doi: 10.17816/RCF202201-210
6. Никитина И.Л., Байрамов А.А., Ходулева Ю.Н., Шабанов П.Д. Ксипептины в физиологии и патологии полового развития – новые диагностические и терапевтические возможности. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2014;12(4):3–12. doi: 10.17816/RCF1243-12 Nikitina IL, Bayramov AA, Khoduleva YN, Shabanov PD. Kisspeptins in physiology and pathology of sex development - new diagnostic and therapeutic approaches // *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2014 Dec 15;12(4):3–12. (In Russ.). doi: 10.17816/RCF1243-12
7. Байрамов А.А., Никитина И.Л., Юхлина Ю.Н., Гринева Е.Н., и др. Способ моделирования мужского гипогонадотропного гипогонадизма. Патент России № 2020113871, 11.06.2021 Бюл. № 17. Russian patent № 2749477 С1, 03.04.2020. Bairamov A.A., Nikitina I.L., Yuhlina Yu.N., Grineva E.N., et al. Method for modeling male hypogonadotropic hypogonadism. Russian patent No. 2020113871, 11.06.2021 Byul. № 17 (In Russ.).
8. Саяпина И.Ю., Целуйко С.С., Лашин С.А., Остронков В.С. Функциональная морфология органов мужской репродуктивной системы при адаптации к низким температурам на фоне коррекции дигидрокверцетином. Благовещенск: ООО Типография; 2018. Sayapina IYu, Tseluiko SS, Lashin SA, Ostronkov VS. *Funktsional'naya morfologiya organov muzhskoi reproduktivnoi sistemy pri adaptatsii k nizkim temperaturam na fone korrektsii digidrokvertsetinom*. Blagoveshchensk: ООО Tipografiya; 2018 (In Russ.).
9. Хабриев К.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ОАО Издательство Медицина; 2005. Khabriev KU. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv*. Moscow: ОАО Izdatel'stvo Meditsina; 2005 (In Russ.).
10. Kauffman AS, Gottsch ML, Roa J, Byquist AC, Crown A, Clifton DK, et al. Sexual Differentiation of Kiss1 Gene Expression in the Brain of the Rat. *Endocrinology*. 2007 Apr 1;148(4):1774–83. doi: 10.1210/en.2006-1540
11. Kauffman AS, Clifton DK, Steiner RA. Emerging ideas about kisspeptin– GPR54 signaling in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Trends in Neurosciences*. 2007 Oct;30(10):504–11. doi: 10.1016/j.tins.2007.08.001
12. Laws SC, Beggs MJ, Webster JC, Miller WL. Inhibin Increases and Progesterone Decreases Receptors for Gonadotropin-Releasing Hormone in Ovine Pituitary Culture. *Endocrinology*. 1990 Jul;127(1):373–80. doi: 10.1210/endo-127-1-373
13. Lotti F, Maggi M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health. *Human Reproduction Update*. 2014 Jul 19;21(1):56–83. doi: 10.1093/humupd/dmu042
14. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001 May 31;411(6837):613–7. doi: 10.1038/35079135
15. Pandruvada S, Royfman R, Shah TA, Sindhvani P, Dupree JM, Schon S, et al. Lack of trusted diagnostic tools for undetermined male infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2021 Feb 1;38(2):265–76. doi: 10.1007/s10815-020-02037-5
16. Quiñones-Jenab V, Jenab S, Ogawa S, Funabashi T, Weesner GD, Pfaff DW. Estrogen regulation of gonadotropin-releasing hormone receptor messenger RNA in female rat pituitary tissue.

- Molecular Brain Research. 1996 Jun;38(2):243–50. doi: 10.1016/0169-328x(95)00322-j
17. Roux N de, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003 Sep 16;100(19):10972–6. doi: 10.1073/pnas.1834399100
  18. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Shagoury JK, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. The New England Journal of Medicine. 2003 Oct 23;349(17):1614–27. doi: 10.1056/NEJMoa035322
  19. Teerds KJ, Huhtaniemi IT. Morphological and functional maturation of Leydig cells: from rodent models to primates. Human Reproduction Update. 2015 Feb 27;21(3):310–28. doi: 10.1093/humupd/dmv008
  20. Yang Y, Zhou C, Zhang T, Li Q, Mei J, Liang J, et al. Conversion of Fibroblast into Functional Leydig-like Cell Using Defined Small Molecules. Stem Cell Reports. 2020 Aug;15(2):408–23. doi: 10.1016/j.stemcr.2020.07.002

#### Информация об авторах

Лисовский Анатолий Дмитриевич – аспирант, Институт экспериментальной медицины; lisovskiy.t@mail.ru

✉ Дробленков Андрей Всеволодович – д-р мед. наук, ведущий научн. сотр. Института экспериментальной медицины, зав. кафедрой медико-биологических дисциплин Санкт-Петербургского медико-социального института; ул. Академика Павлова, 12, Санкт-Петербург, 197022, Россия; droblenkov.a@yavdex.ru;

<https://orcid.org/0000-0003-4858-6170>

Бобков Павел Сергеевич – канд. мед. наук, старший научн. сотр. Института экспериментальной медицины, доцент кафедры медико-биологических дисциплин Санкт-Петербургского медико-социального института; bobkov\_pl@mail.ru;

<https://orcid.org/0000-0003-4858-6170>

Байрамов Алекбер Азизович – д-р мед. наук, ведущий научн. сотр. Института экспериментальной медицины; alekber@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0673-8722>

#### Information about the authors

Anatolii D. Lisovskii – Postgraduate student, Institute of Experimental Medicine; lisovskiy.t@mail.ru

✉ Andrei V. Droblenkov – Doct. Sci. (Med.), leading researcher of the Institute of Experimental Medicine; Head of the Department of Medical and Biological Disciplines of Saint Petersburg Medical and Social Institute; ul. Akademika Pavlova, 12, St. Petersburg, 197022, Russia; droblenkov.a@yavdex.ru;

<https://orcid.org/0000-0003-4858-6170>

Pavel S. Bobkov – Cand. Sci. (Med.), senior researcher of the Institute of Experimental Medicine; Associate Professor of the Department of Medical and Biological Disciplines of Saint Petersburg Medical and Social Institute; bobkov\_pl@mail.ru;

<https://orcid.org/0000-0003-4858-6170>

Alekber A. Bairamov – Doct. Sci. (Med.), leading researcher of the Institute of Experimental Medicine; alekber@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0673-8722>

Статья поступила в редакцию 7.09.2023; одобрена после рецензирования 16.12.2023; принята к публикации 26.12.2023.  
Submitted 7.09.2023; Revised 16.12.2023; Accepted 26.12.2023.