

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-15-21

УДК 616.379–008.64:616–003.96:612.084  
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология  
© Г.В. Брюхин, С.Д. Антонов, 2019



## Влияние иммобилизационного стресса на морфофункциональное состояние клеток Лейдига у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа

Г. В. Брюхин, С. Д. Антонов\*

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Челябинск, Россия

**Цель** исследования – анализ морфофункционального состояния клеток Лейдига семенников половозрелого потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа (СД 1), подвергнутого воздействию иммобилизационного стресса.

**Материал и методы.** Исследование проводилось на половозрелом (70-дневном) потомстве самок крыс с экспериментальным СД 1. Для достижения поставленной цели у экспериментальных животных с помощью стрептозотоцина моделировали СД 1. С целью оценки антистрессорной резистентности животных подвергали воздействию иммобилизационного стресса с помощью камер Когана. Объектом исследования служили семенники половозрелого потомства от самок крыс с экспериментальным СД 1. На серийных гистологических срезах проводили определение площади интерстициальной ткани и паренхимы семенников. Подсчитывали количество клеток Лейдига, в том числе фракции активных и неактивных эндокриноцитов, проводили расчет индекса активности, коэффициента, отражающего отношение суммарного количества клеток Лейдига к таковому клеток Сертоли на 1 семенной извитой каналец, и коэффициента, представляющего собой соотношение числа эндокриноцитов к суммарному числу сперматогенных клеток из расчета на один извитой семенной каналец.

**Результаты.** Клетки Лейдига потомства самок крыс с экспериментальным СД 1 обладают сниженной антистрессорной резистентностью, на что указывает более выраженное уменьшение числа эндокриноцитов и изменение их субпопуляционного состава: уменьшение числа активных клеток Лейдига и, напротив, увеличение числа неактивных, что в свою очередь обусловило снижение индекса активности эндокриноцитов, а так же привело к снижению уровня тестостерона крови. Как следствие, иммобилизационный стресс вызывает угнетение сперматогенеза у экспериментальных животных.

**Заключение.** Экспериментальный СД 1 у самок крыс обуславливает рождение потомства с нарушением сперматогенеза, одной из причин которого может являться нарушение морфофункционального состояния клеток Лейдига, и снижением антистрессорной резистентности эндокриноцитов семенников.

**Ключевые слова:** крысы, семенники, клетки Лейдига, сахарный диабет 1-го типа, сперматогенез.

### The Effect of Immobilization Stress on the Morphofunctional State of Leydig Cells in the Offspring of Female Rats with Experimental Type 1 Diabetes

© G. V. Bryukhin, S. D. Antonov\*, 2019  
South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

**The aim** of study was to analyze the morphofunctional state of Leydig cells of the testes in sexually mature offspring of female rats with experimental type 1 diabetes mellitus exposed to immobilization stress.

**Material and methods.** The study included sexually mature (70-day) offspring of female rats with experimental type 1 diabetes. To achieve the aim, type 1 diabetes was simulated in experimental animals using streptozotocin. All animals were subjected to immobilization stress using Kogan chambers in order to assess their antistress resistance. The object of the study was the testes of sexually mature offspring from female rats with experimental type 1 diabetes. Serial histological sections were used to determine the area of interstitial tissue and testis parenchyma. The number of Leydig cells, including the fractions of active and inactive endocrinocytes, was calculated; the activity index, a coefficient reflecting the ratio of the total number of Leydig cells to that of Sertoli cells per 1 convoluted tubule, and a coefficient representing the ratio of the number of endocrinocytes to the total number of spermatogenic cells were calculated based on one convoluted seminiferous tubule.

**Results.** Leydig cells in the offspring of female rats with experimental type 1 diabetes mellitus have a reduced antistress resistance; that is supported by a more pronounced decrease in the number of endocrinocytes and a change in their subpopulation composition: a decrease in the number of active Leydig cells and, conversely, an increase in the number of inactive cells, which, in turn, results in a decrease in the index endocrinocyte activity, and a decrease in blood testosterone levels. As a result, immobilization stress causes inhibition of spermatogenesis in experimental animals.

**Conclusion.** Simulated type 1 diabetes mellitus in female rats results in the birth of offspring characterized by impaired spermatogenesis; this may be due to violation of the morphofunctional state of Leydig cells, and a decrease in the antistress resistance of testicular endocrinocytes.

**Key words:** rats, testes, Leydig cells, diabetes mellitus type 1, spermatogenesis.

**\*Автор для переписки:**

Антонов Сергей Дмитриевич  
Южно-Уральский государственный медицинский университет, ул. Воровского, 64, г. Челябинск, 454092, Россия  
E-mail: s.d.antonov@mail.ru

**\*Corresponding author:**

Sergei Antonov  
South Ural State Medical University, ul. Vorovskogo, 64, Chelyabinsk, 454092, Russia  
E-mail: s.d.antonov@mail.ru

**Введение**

В настоящее время повсеместно отмечается рост бесплодных супружеских пар [9, 23]. В структуре бесплодия особую значимость занимает мужской фактор [2, 12], который обусловлен, как правило, неблагоприятными воздействиями эндогенного и экзогенного характера [6, 15]. При этом роль стрессорной составляющей в патогенезе мужской фертильности при сахарном диабете изучена мало [4]. Известно, что в обеспечении реализации репродуктивной стратегии особое значение имеют эндокриноциты семенников [1]. В научной литературе последних лет имеются многочисленные работы зарубежных и отечественных авторов, посвященные влиянию различных факторов на морфофункциональное состояние клеток Лейдига семенников, а так же на их пролиферативную и апоптотическую активность. В частности, S. Lui с соавт. (2017) изучали пролиферативную активность эндокриноцитов яичка, в условиях воздействия фактора роста стволовых клеток [21]. Помимо того, изучено морфофункциональное состояние клеток Лейдига у крыс с диабетом, а именно, Z. Du с соавт. (2018) установили уменьшение численности этих клеток у подопытных животных ввиду активации апоптоза [17]. Множество, как экспериментальных, так и клинических, данных показывает, что нарушения со стороны клеток Лейдига негативно влияют и на сперматогенез [25]. В то же время, имеется ряд немногочисленных исследований, посвященных влиянию сахарного диабета матери на генеративные свойства мужской половой железы потомства. Так, у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом установлено снижение массы семенников, концентрации сперматозоидов и их двигательной активности, а так же повышенный уровень метилирования ДНК у сперматозоидов [14, 18]. Заслуживает внимания исследование G. Jelodar с соавт. (2009), которые установили, что у половозрелого потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом имеет место снижение числа клеток Лейдига, клеток Сертоли и сперматогоний на фоне повышения концентрации глюкозы крови [19]. В то же время, особенности морфофункционального становления эндокринного аппарата яичек потомства матерей с сахарным диабетом 1-го типа изучены недостаточно.

В связи с этим, целью настоящего исследования явился анализ особенностей морфофункционального состояния клеток Лейдига у половозрелого потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа, подвергнувшегося воздействию иммобилизационного стресса.

**Материал и методы исследования**

Исследования проведены на белых лабораторных крысах Вистар (самках) и их половозрелом потомстве. У взрослых самок моделировали сахарный диабет 1-го типа по общепринятой методике с помощью стрептозотоцина (Streptozotocin; MP Biomedicals, LLC; USA) [5], который вводили животным внутривенно трижды с интервалом в 7 дней (по 2.5 мг на 100 г массы тела в 1-ю и в 3-ю недели и по 2 мг на 100 г массы тела во 2-ю неделю). Всего за весь курс 10 лабораторных животных с массой от 230 до 256 г получали по 17 мг стрептозотоцина, под влиянием которого у лабораторных животных развивался сахарный диабет, о чем свидетельствовал постоянный повышенный уровень содержания сахара в крови ( $32.56 \pm 2.44$  ммоль/л), который сохранялся на протяжении, как минимум, трех месяцев. Подсадка к интактным самцам для спаривания проводилась через 1 неделю после последнего введения стрептозотоцина. В результате рождались подопытные крысята. Эту группу составили 19 крысят из 10 пометов, 10 крысят из которых представили группу «опыт», а оставшиеся 9 животных были подвергнуты воздействию иммобилизационного стресса и составили группу «опыт-стресс». Контрольную группу составили 20 крысят из 14 пометов, из которых 11 крысят составили интактную группу, 9 крысят – группу «контроль-стресс».

Работа с лабораторными животными осуществлялась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18.03.1986 г. Экспериментальных животных содержали в стандартных условиях вивария ЮУГМУ. Этанализ животных проводили путем декапитации под эфирным наркозом. Протокол заседания этического комитета ФГБОУ ВО «ЮУГМУ Минздрава» № 8 от 11.11.2018.

Объектом исследования служили семенники половозрелого (70-дневного) потомства от самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа. С помощью морфометрической установки Motic BA 400 (фирма «Motic», Германия) на серийных гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили определение площади интерстициальной ткани и паренхимы семенников. Кроме того проводилось определение суммарного количества клеток

Лейдига, в том числе фракции активных (крупные или средних размеров, округлые или полигональные клетки) и неактивных (малые веретенообразные, округлые или полигональные клетки) эндокриноцитов из расчета на единицу условной площади (35520 мкм<sup>2</sup>) [11]. Индекс активности клеток Лейдига вычисляли как отношение числа активных эндокриноцитов к неактивным. Кроме того определяли коэффициент, характеризующий отношение общего количества клеток Лейдига к таковому клеток Сертоли на 1 семенной извитой каналец (K1), и коэффициент, представляющий собой соотношение числа эндокриноцитов к суммарному числу сперматогенных клеток из расчета на один семенной извитой каналец (K2).

Зрелые сперматозоиды получали из придатка семенника, который помещали в 1 мл предварительно подогретого до 37°C 5% раствора глюкозы. Придаток рассекали вдоль, затем фрагментом резиновой трубки сперматозоиды из эпидидимиса активно перемещали в раствор в течение 2 минут. Подсчет количества сперматозоидов проводили в камере Горяева [8].

Концентрацию тестостерона крови у экспериментальных животных определяли методом электрохемилюминесцентного иммуноанализа с использованием оборудования: «Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария». Забор крови осуществляли из сердца под эфирным наркозом по общепринятой методике, после чего животных выводили из эксперимента. Уровень тестостерона определяли в венозной сыворотке.

Для оценки антистрессорной резистентности клеток Лейдига семенников у потомства самок крыс моделировали иммобилизационный стресс путем иммобилизации животных на спине в камере Когана. В первый день иммобилизация крысят продолжалась с 10.00 до 15.00 часов. Затем после 2 часов отдыха животных вновь помещали в камеру Когана на ночь. На следующее утро в 10.00 иммобилизацию прекращали до 15.00 дня. В 17.00 часов того же дня животных вновь подвергали иммобилизации до 10.00 утра [7].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы «IBM SPSS Statistics 19». Для проверки гипотез о соответствии распределения признаков генеральной совокупности нормальному закону распределения применяли критерий Шапиро–Уилка. Так как распределение признаков отличалось от нормального, для количественных признаков рассчитывали следующие показатели описательной статистики: медиану (Me) и квартили (Q1; Q3). Для сравнения двух независимых групп по количественному признаку использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Все статистические гипотезы проверяли при кри-

тическом уровне значимости 0.05. Рассчитанный уровень значимости (p) приводился с точностью до трех знаков после запятой. В тех случаях, когда рассчитанный уровень значимости  $p < 0.001$ , в тексте и в таблице приводится соответствующая запись.

## Результаты и их обсуждение

Известно, что нормальное протекание сперматогенеза требует скоординированного влияния многочисленных факторов (генетических, клеточных, гормональных и др.), что делает процесс образования мужских половых клеток весьма чувствительным к различным негативным воздействиям, которые могут приводить к нарушению сперматогенеза.

Общепризнано, что сперматогенез представляет собой один из самых динамичных процессов в организме человека, связанных с клеточной пролиферацией и дифференцировкой, протекающих под влиянием разнообразных регуляторных факторов роста, цитокинов и гормонов, среди которых особое место занимает тестостерон, вырабатываемый клетками Лейдига [1, 13].

Прежде всего, нами установлено, что иммобилизационный стресс приводил к снижению суммарного содержания эндокриноцитов (табл. 1). Так, если у животных группы «контроль–стресс» исследуемый показатель снижался на 41.9% (по сравнению с интактными крысятами), то у подопытных животных группы «опыт–стресс» содержание клеток Лейдига уменьшалось всего на 11.1% по сравнению с группой «опыт». Наибольший интерес представляют данные о субпопуляционном составе клеток Лейдига. Нами установлено, что у интактных животных число активных эндокриноцитов под влиянием иммобилизационного стресса снижалось на 43.8% (рис. 1 и 2). При этом исследуемый показатель у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом снижался на 63.8%. На фоне уменьшения содержания у экспериментальных животных активных эндокриноцитов происходило изменение числа неактивных клеток Лейдига. Так, у интактных животных под влиянием иммобилизационного стресса наблюдалось уменьшение числа неактивных клеток Лейдига на 36.1%. При этом у подопытных крысят иммобилизационный стресс приводил, напротив, к увеличению в 2.22 раза числа неактивных клеток (рис. 1 и 2).

Изменение субпопуляционного состава клеток Лейдига у экспериментальных животных под влиянием иммобилизационного стресса обуславливало снижение индекса активности клеток Лейдига, отражающего отношение активных эндокриноцитов к неактивным. Как видно из табл. 2, у животных группы «контроль–стресс» исследуемый показатель снижался на 9.8% относительно

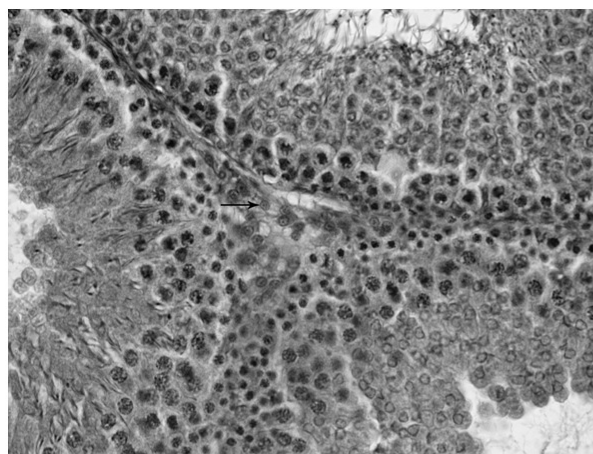


Рис. 1. Яичко 70-дневного самца крысы группы «контроль–стресс». Преобладание активных клеток Лейдига. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 10.

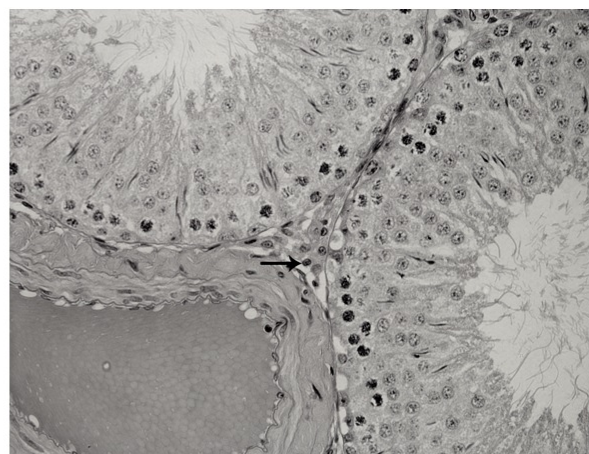


Рис. 2. Яичко 70-дневного самца крысы группы «опыт–стресс». Преобладание неактивных клеток Лейдига. Окраска гематоксилином и эозином. Об. 40, ок. 10.

Таблица 1

**Характеристика клеток Лейдига семенников потомства самок крыс с экспериментальным диабетом, подвергнувшегося иммобилизационному стрессу (из расчета на единицу условной площади) Me (Q1; Q3)**

Показатель	Контроль	Опыт	Контроль–стресс	Опыт–стресс
Клетки Лейдига (общ)	32.9 (27.1; 35.4)	20.7 (16.8; 25.2)* p < 0.001	19.1 (16.8; 22.7)* p < 0.001	18.4 (15.2; 19.2)** p = 0.045
Активные клетки Лейдига	21.7 (17.9; 23.0)	16.3 (12.2; 19.6)* p = 0.011	12.2 (10.4; 13.4)* p < 0.001	5.9 (5.4; 7.7)** p < 0.001
Активные клетки Лейдига (%)	64.7 (63.0; 70.2)	76.3 (66.8; 79.1)* p = 0.003	62.2 (57.6; 65.7) p = 0.123	29.9 (29.0; 48.0)** p < 0.001
Неактивные клетки Лейдига	10.8 (9.9; 12.3)	5.9 (4.1; 6.7)* p < 0.001	6.9 (6.1; 9.8)* p = 0.035	13.1 (8.4; 13.3)** p = 0.045
Неактивные клетки Лейдига (%)	35.3 (29.8; 37.0)	23.7 (20.9; 33.2)* p = 0.003	37.8 (34.3; 42.4) p = 0.123	70.1 (52.0; 71.0)** p < 0.001

Примечание: \* – результаты статистически значимы по сравнению с контролем (p<0.05); \*\* – результаты статистически значимы по сравнению с группой «контроль–стресс» (p<0.05).

Таблица 2

**Коэффициенты, отражающие активность клеток Лейдига экспериментальных животных (Me (Q1; Q3))**

Экспериментальная группа	Индекс активности	K1	K2
Контроль	1.83 (1.71; 2.36)	1.46 (1.22; 1.61)	0.064 (0.053; 0.071)
Опыт	3.22 (2.05; 3.78)* p < 0.001	0.98 (0.84; 1.09)* p < 0.001	0.063 (0.054; 0.077) p = 0.974
Контроль–стресс	1.65 (1.41; 1.91)* p = 0.004	0.93 (0.78; 1.14)* p < 0.001	0.045 (0.04; 0.056)* p = 0.023
Опыт–стресс	0.43 (0.41; 0.93)** p < 0.001	0.84 (0.76; 0.92) p = 0.052	0.08 (0.076; 0.091)** p = 0.001

Примечание: \* – результаты статистически значимы по сравнению с контролем (p<0.05); \*\* – результаты статистически значимы по сравнению с группой «контроль–стресс» (p<0.05).

контроля. При этом у подопытных животных под действием стресса этот показатель снижался на 86.6% по сравнению с «опытом».

При этом коэффициент, отражающий отношение числа клеток Лейдига к содержанию sustentocytes (K1), у интактных животных под влиянием стресса уменьшался на 36.3%. У подопытных крысят исследуемый показатель уменьшался незначительно (на

14.3%), но оказался сниженным по сравнению с группой контроля.

Еще одним показателем, отражающим характер регулирующего влияния эндокриноцитов, является отношение числа клеток Лейдига к суммарному содержанию сперматогенных клеток (K2). Нами установлено, что иммобилизационный стресс у животных контрольной группы вызывал снижение этого

показателя, а у крысят опытной группы исследуемый показатель увеличивался и превышал таковой в контроле, что обусловлено уменьшением суммарного содержания и клеток Лейдига, и сперматогенных клеток.

Эти данные согласуются с результатами следующей серии исследований. Известно, что одним из основных показателей функционального стояния эндокринного аппарата яичек является выработка гормонов. В связи с этим нами проведен анализ концентрации тестостерона в сыворотке крови. В группе «опыт» уровень тестостерона крови оказался значительно ниже (0.79 (0.64; 1.12) нмоль/л,  $p < 0.001$ ), чем в группе сравнения (3.0 (2.14; 3.5) нмоль/л). При этом, под действием иммобилизационного стресса у животных контрольной группы данный показатель так же был ниже (1.02 (0.77; 0.31) нмоль/л,  $p < 0.001$ ), чем в контроле. У экспериментальных животных группы «опыт–стресс» тестостерон крови был ниже (0.75 (0.62; 0.99) нмоль/л,  $p < 0.001$ ) по сравнению с контролем, однако значимых различий с группой «опыт» выявить не удалось ( $p = 0.645$ ).

Кроме того, нами было установлено, что содержание сперматозоидов в 1 мл эпидидимальной взвеси у животных интактной и опытной групп различалось. Так, если у интактных животных концентрация сперматозоидов в 1 мл составляла  $139 (121.75; 151.5) \times 10^6$ , то у подопытных крысят исследуемый показатель составлял всего  $94.5 (81.5; 113.75) \times 10^6$  ( $p = 0.001$ ). Под влиянием иммобилизационного стресса у интактных животных содержание сперматозоидов снижалось на 15.5% и составляло  $117.5 (105.75; 126.25) \times 10^6$ . При этом у подопытных крысят содержание сперматозоидов снижалось на 24.9% и составляло  $71 (63.75; 68.25) \times 10^6$  ( $p < 0.001$ ).

Согласно современным представлениям, между клетками Лейдига и клетками Сертоли устанавливаются сложные паракринные отношения, оказывающие регулирующее влияние на процессы сперматогенеза [1, 3, 13]. Установлено, что сустентоциты секретируют многочисленные биологически активные соединения, в том числе ингибин, активин, инсулиноподобный фактор роста – 1, трансформирующие факторы роста альфа и бета, с помощью которых клетки Сертоли прямо или опосредованно регулируют активность клеток Лейдига и, как следствие – активность стероидогенеза [10, 24]. Так, в постнатальном периоде становление эндокриноцитов включает процессы пролиферации, морфологической дифференцировки и приобретения клетками способности синтезировать тестостерон [20]. На стадии предшественников клетки Лейдига имеют удлинённую форму, небольшой объем цитоплазмы и слабо развитый эндоплазматический ретикулум (ЭПР). Далее интерстициальные клетки приобретают округлую форму,

увеличиваются в размерах благодаря развитию ЭПР и накоплению липидных гранул [22]. Благодаря активному делению популяция незрелых клеток возрастает и они дифференцируются в зрелые (функционально активные) клетки Лейдига, что сопровождается увеличением их размеров, снижением количества липидных гранул, увеличением объема ЭПР [16]. Количество рецепторов к лютеинизирующему гормону гипофиза увеличивается, продукция тестостерона возрастает в 150 раз, а способность к делению резко снижается [26]. Можно предположить, что экспериментальный сахарный диабет 1-го типа в сочетании с воздействием иммобилизационного стресса негативно сказываются на пролиферативной активности клеток Лейдига, активируя апоптоз, в результате чего резко нарушается соотношение активных и неактивных фракций интерстициальных эндокриноцитов семенников.

### Заключение

У половозрелого потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа, подвергнутого воздействию иммобилизационного стресса, имеет место нарушение морфофункционального состояния клеток Лейдига, на что указывает существенное снижение суммарного содержания эндокриноцитов, изменение их субпопуляционного состава (уменьшение числа активных эндокриноцитов и увеличение фракции неактивных клеток), а так же снижение уровня тестостерона в крови. Это приводит к более выраженному, чем в группе сравнения, нарушению сперматогенеза.

В целом полученные результаты позволяют сделать заключение, что тестостерон-продуцирующие клетки семенников потомства самок крыс обладают сниженной антистрессорной резистентностью. Логично предположить, что у подопытных животных под влиянием кортикостероидов, секреция которых резко увеличивается при действии стрессового фактора, активность клеток Лейдига угнетается, что приводит к нарушению выработки тестостерона и, как следствие, угнетению сперматогенеза.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы / References

1. Ахмерова Л.Г. Развитие клеток Лейдига. Успехи физиологических наук. 2006; 37(1): 28–36 [Ahmerova LG. Leydig Cell Development. Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2006; 37(1): 28–36] (in Russian).
2. Боголюбов С.В., Витязева И.И., Макарова Н.П., Львова А.Г. Клиническое ведение

- пациентов с тератозооспермией в циклах вспомогательных репродуктивных технологий. Доктор.Ру. 2009; 6(50):34–8 [Bogolyubov SV, Vityazeva II, Makarova NP, Lvova AG. Clinical management of teratozoospermic patients in infertility treatment with assisted reproductive technologies. Doctor.Ru] (in Russian).
3. Бречка Н.М., Невзоров В.П., Коренева Е.М., Малова Н.Г. Нарушение ультраструктуры клеток Сертоли и Лейдига под воздействием серотонина гидрохлорида. Проблемы эндокринной патологии. 2012; 2:73–9 [Brechka NM, Nevzorov VP, Koreneva EM, Malova NG. Narushenie ul'trastruktury kletok Sertoli i Leidiga pod vozdeistviem serotonin gidrokhlorida. Problemi endokrinnoi patologii. 2012; 2:73–9] (in Russian).
  4. Григорян О.Р., Андреева Е.Н. Сахарный диабет и беременность. В кн.: Дедов И.И., Шестакова М.В., ред. Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика. М.: ООО Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2011:733–67 [Grigoryan OR, Andreeva EN. Sakharnyi diabet i beremennost'. In: Dedov I.I., Shestakova M.V., red. Sakharnyi diabet: diagnostika, lechenie, profilaktika. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2011:733–67] (in Russian).
  5. Закирьянов А.Р., Плахотный М.А., Онищенко Н.А., Володина А.В., Клименко Е.Д., Кобозева Л.П., Мичунская А.Б., Поздняков О.М. Диабетические осложнения у крыс при длительных сроках моделирования сахарного диабета 1-го типа. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2007; 4:21–5 [Zakiryanov AR, Plakhotny MA, Onischenko NA, Volodina AV, Klimenko ED, Kobozeva LP, Michunskaya AB, Pozdnyakov OM. Diabetic complications in rats in long-term modeling of type I diabetes mellitus. Pathological physiology and experimental therapy. 2007; 4:21–5] (in Russian).
  6. Кулаков В.И., Леонов В.В., Кузьмичева Л.Н., Смольникова В.Ю. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии. М.: МИА; 2005. 592 [Kulakov VI, Leonov VV, Kuz'micheva LN, Smol'nikova VYu. Lechenie zhenskogo i muzhskogo besplodiya. Vspomogatel'nye reproduktivnye tekhnologii. Moscow: MIA; 2005. 592] (in Russian).
  7. Лобанова Н.Н., Панушева Н.И., Белова Т.И. Изменения содержания катехоламинов в структурах мозга крыс, перенесших иммобилизационный стресс. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1986; 11: 526–7 [Lobanova NN, Panusheva NI, Belova TI. Izmeneniya soderzhaniya katekholaminov v strukturakh mozga kryss, pereneshikh immobilizatsionnyi stress. Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny. 1986; 11: 526–7] (in Russian).
  8. Луцкий Д.Л., Николаев А.А. Морфологическое исследование эякулята: методическое пособие. Астрахань; 1999. 46 [Lutskii DL, Nikolaev AA. Morfologicheskoe issledovanie eyakulyata: metodicheskoe posobie. Astrakhan'; 1999. 46] (in Russian).
  9. Овсянникова Т.В., Макаров И.О., Камилова Д.П. Бесплодный брак: принципы диагностики и лечения. Эффективная фармакотерапия. 2012; 18: 7–9 [Ovsyannikova TV, Makarov IO, Kamilova DP. Besplodnyi brak: printsipy diagnostiki i lecheniya. Effektivnaya farmakoterapiya. 2012; 18: 7–9] (in Russian).
  10. Потемкина Т.Е., Кузнецова С.В., Ляляев В.А. Изменение параметров семенной жидкости самцов белых крыс при различных видах экспериментального стресса. Современные технологии в медицине. 2009; 2: 23–6 [Potyomina TE, Kuznetsova SV, Lyalyaev VA. Alteration of the white rat male seminal fluid parameters at different types of experimental stress. Modern Technologies in Medicine. 2009; 2: 23–6] (in Russian).
  11. Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1983; 3: 66–72 [Ukhov YuI, Astrakhtantsev AF. Morfometricheskie metody v otsenke funktsional'nogo sostoyaniya semennikov. Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii. 1983; 3: 66–72] (in Russian).
  12. Чалый М. Репродуктивная функция мужчин в XXI веке. Врач. 2009; 6:6–7 [Chalyi M. Male reproductive function in the 21st century. Vrach. 2009; 6:6–7] (in Russian).
  13. Шевлюк Н.Н., Стадников А.А. Клетки Лейдига семенников позвоночных (онтогенез, ультраструктура, цитофизиология, факторы и механизмы регуляции). Оренбург: Издательство ОрГМА; 2010. 484 [Shevlyuk NN, Stadnikov AA. Kletki Leidiga semennikov pozvonochnykh (ontogenez, ul'trastruktura, tsitofiziologiya, faktory i mekhanizmy regulatsii). Orenburg: Izdatel'stvo OrGMA; 2010. 484] (in Russian).
  14. Amorim EM, Damasceno DC, Perobelli JE, Spadotto R, Fernandez CD, Volpato GT, et al. Short- and long-term reproductive effects of prenatal and lactational growth restriction caused by maternal diabetes in male rats. Reproductive Biology and Endocrinology. 2011;9(1):154. doi: 10.1186/1477-7827-9-154
  15. Carlsen E, Petersen JH, Andersson A-M, Skakkebaek NE. Effects of ejaculatory frequency and season on variations in semen quality. Fertility and Sterility. 2004 Aug;82(2):358–66. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.01.039
  16. Chen H, Wang Y, Ge R, Zirkin BR. Leydig cell stem cells: Identification, proliferation and differentiation. Molecular and Cellular Endocrinology. 2017 Apr;445:65–73. doi: 10.1016/j.mce.2016.10.010
  17. Du Z, Xu S, Hu S, Yang H, Zhou Z, Sidhu K, et al. Melatonin attenuates detrimental effects of diabetes on the niche of mouse spermatogonial stem cells by maintaining Leydig cells. Cell Death & Disease. 2018 Sep 20;9(10). doi: 10.1038/s41419-018-0956-4
  18. Ge Z-J, Liang Q-X, Hou Y, Han Z-M, Schatten H, Sun Q-Y, et al. Maternal obesity and diabetes may cause DNA methylation alteration in the spermatozoa of offspring in mice. Reproductive Biology and Endocrinology. 2014;12(1):2. doi: 10.1186/1477-7827-12-29
  19. Jelodar G, Khaksar Z, Pourahmadi M. Endocrine profile and testicular histomorphometry in adult rat offspring of diabetic mothers. The Journal of Physiological Sciences. 2009 Jun 18;59(5):377–82. doi: 10.1007/s12576-009-0045-7
  20. Kuopio T, Tapanainen J, Pelliniemi LJ, Huhtaniemi I. Developmental stages of fetal-type Leydig cells in prepubertal rats. Development. 1989; 107:213–20.

21. Liu S, Chen X, Wang Y, Li L, Wang G, Li X, et al. A role of KIT receptor signaling for proliferation and differentiation of rat stem Leydig cells in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2017 Mar;444:1–8. doi: 10.1016/j.mce.2017.01.023.
22. Martin LJ. Cell interactions and genetic regulation that contribute to testicular Leydig cell development and differentiation. *Molecular Reproduction and Development*. 2016 Apr 26;83(6):470–87. doi: 10.1002/mrd.22648
23. McLaren JF. Infertility Evaluation. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2012 Dec;39(4):453–63. doi: 10.1016/j.ogc.2012.09.001
24. Rebourcet D, Darbey A, Monteiro A, Soffientini U, Tsai YT, Handel I, et al. Sertoli Cell Number Defines and Predicts Germ and Leydig Cell Population Sizes in the Adult Mouse Testis. *Endocrinology*. 2017 Jul 5;158(9):2955–69. doi: 10.1210/en.2017-00196
25. Winters SJ, Moore JP, Clark BJ. Leydig cell insufficiency in hypospermatogenesis: a paracrine effect of activin-inhibin signaling? *Andrology*. 2018 Feb 6;6(2):262–71. doi: 10.1111/andr.12459
26. Zirkin BR, Papadopoulos V. Leydig cells: formation, function, and regulation<sup>†</sup>. *Biology of Reproduction*. 2018 Mar 16;99(1):101–11. doi: 10.1093/biolre/i0y059

---

Поступила в редакцию 26.09.2019  
Принята в печать 1.12.2019

---

Received 26.09.2019  
Accepted 1.12.2019

---

Для цитирования: Брюхин Г.В., Антонов С.Д. Влияние иммобилизационного стресса на морфофункциональное состояние клеток Лейдига у потомства самок крыс с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(4): 15–21. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-15-21

For citation: Bryukhin G.V., Antonov S.D. The effect of immobilization stress on the morphofunctional state of Leydig cells in the offspring of female rats with experimental type 1 diabetes. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(4): 15–21. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-15-21

---