

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 18, №1

2019



УДК 611.631.018:[577.114/.115:579.84]-092.9

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ СЕМЕННИКОВ КРЫС НА 40-е СУТКИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

© Поплавская Е.А., Поплавский Д.Ю.

Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 230009, Гродно, ул. Горького, 80

Резюме

Цель. Изучение и сравнительный анализ структурных изменений в семенниках крыс на 40-е сут. после воздействия бактериальных липополисахаридов *Escherichia coli* и *Serratia marcescens*.

Методика. Самцам крыс вводили ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы внутрибрюшинно, однократно. Готовили парафиновые срезы, окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование, морфометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения ImageWarp (Bit Flow, США). Оценку достоверности изменения численных значений проводили с помощью непараметрической статистики с применением компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows.

Результаты. В результате исследования установлено, что на 40-е сут. после воздействия ЛПС в семенниках самцов крыс происходит развитие разнообразных структурных изменений: независимо от вида ЛПС увеличивается количество деструктивных семенных канальцев на срезе – в 3 раза ($p < 0,05$); снижается количество клеточных ассоциаций в канальцах (при введении ЛПС *E. coli* – на 5,57% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 5,27% ($p < 0,05$); уменьшается количество интерстициальных эндокриноцитов (при введении ЛПС *E. coli* – на 36,43% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19,51% ($p < 0,05$)) и снижается площадь их ядер (при введении ЛПС *E. coli* – на 15,22% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 18,39% ($p < 0,05$)); в извитых семенных канальцах – уменьшается количество sustentоцитов (при введении ЛПС *E. coli* – на 34,70% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 40,10% ($p < 0,05$)) и снижается площадь их ядер; а также уменьшается количество клеток сперматогенного эпителия – сперматогоний и сперматоцитов (при введении ЛПС *E. coli* – на 21,91% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19,64% ($p < 0,05$)).

Заключение. Сделан вывод, что однократное внутрибрюшинное введение ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы самцам крыс, независимо от вида ЛПС, вызывает развитие структурных изменений в семенниках животных опытных групп: увеличивается количество деструктивных семенных канальцев на срезе; снижается количество клеточных ассоциаций в канальцах; уменьшается количество интерстициальных эндокриноцитов и снижается площадь их ядер; в извитых семенных канальцах – уменьшается количество sustentоцитов и снижается площадь их ядер, а также происходит уменьшение количества клеток сперматогенного эпителия – сперматогоний и сперматоцитов. Все перечисленные изменения могут свидетельствовать о нарушении функций клеток, и, в конечном итоге, приводить к нарушению образования мужских половых клеток.

Ключевые слова: липополисахариды, семенник, сперматогенез, крысы

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF THE RATS TESTES ON THE 40th DAYS AFTER EXPOSURE TO BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDES

Poplavskaja E.A., Poplavskij D.Ju.

Grodno State Medical University, 80, Gorkogo St., 230009, Grodno, Republic of Belarus

Abstract

Objective. To study and perform a comparative analysis of structural changes in the testes of rats on the 40th day after administration of bacterial lipopolysaccharides *Escherichia coli* and *Serratia marcescens*.

Methods. Male rats were once injected with LPS *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* at a dose of 50 mg / kg intraperitoneally. Paraffin sections were prepared, stained with hematoxylin and eosin. Studies of histological specimens, their microphotography, and morphometry were performed at different

magnifications of the Axioskop 2 plus microscope (Zeiss, Germany), Leica DFC 320 digital video camera (Leica Microsystems, Germany) and computer analysis programs ImageWarp (Bit Flow, USA). The assessment of the reliability of changes in the numerical values was performed using non-parametric statistics with the Statistica 6.0 computer program for Windows.

Results. As a result of the study, it was established that on the 40th day after LPS exposure, various structural changes develop in the testes of male rats: regardless of the type of LPS, the number of destructive seminiferous tubules on the cut increases by 3 times ($p < 0.05$); the number of cellular associations in the tubules decreases (on administration of LPS *E. coli* – by 5.57% ($p < 0.05$), on the administration of LPS *S. marcescens* – by 5.27% ($p < 0.05$); the number of interstitial endocrinocytes (on the administration of LPS *E. coli* – by 36.43% ($p < 0.05$), on the introduction of LPS *S. marcescens* decreases by 19.51% ($p < 0.05$) and the area their nuclei (on the introduction of LPS *E. coli* – by 15.22% ($p < 0.05$), on the introduction of LPS *S. marcescens* decreases by 18.39% ($p < 0.05$); in convoluted tubules the number of sustentocytes decreases (on the introduction of LPS *E. coli* – by 34.70% ($p < 0.05$), on the introduction of LPS *S. marcescens* – by 40.10% ($p < 0.05$) and the area of their nuclei decreases; as well as the number of spermatogenic epithelium cells – spermatogonia and spermatocytes (on the administration of LPS *E. coli*, by 21.91% ($p < 0.05$), and on the introduction of LPS *S. marcescens*, by 19.64% ($p < 0.05$).

Conclusion. It was concluded that a single intraperitoneal injection of LPS of gram-negative bacteria *E. coli* and *S. marcescens* at a dose of 50 μg / kg of weight to male rats, regardless of the type of LPS, causes the development of structural changes in the testes of animals from the experimental groups: an increase in the number of destructive seminiferous tubules on the cut; a decrease in the number of cellular associations in a tubule; a decrease in the number of interstitial endocrinocytes and in the area of their nuclei; in convoluted tubules the number of sustentocytes and the area of their nuclei, and the number of cells of the spermatogenic epithelium – spermatogonia and spermatocytes decrease. All of these changes may indicate dysfunction of cells, and, ultimately, lead to disruption of the formation of male germ cells.

Keywords: lipopolysaccharide, testis, spermatogenesis, rats

Введение

В последние годы возросла динамика мужского бесплодия – состояния, которое является следствием ряда заболеваний и патологических воздействий на репродуктивную систему мужчины. Причины этого состояния и структура до сих пор излагаются нечётко и достаточно противоречиво, несмотря на внушительный перечень факторов, нарушающих сперматогенез. Актуальность изучения специфичности действия различных неблагоприятных факторов на сперматогенез продиктована тем обстоятельством, что до настоящего времени нет четких разграничений между степенью угнетения сперматогенеза под влиянием того или иного фактора. Более того, нет единой модели угнетения мужской репродуктивной функции, объясняющей включение различных составляющих репродуктивного аппарата в зависимости от направленности и силы действия неблагоприятного фактора. [3].

В последнее время отмечается значимое снижение количественных и, главное, качественных показателей спермы [10]. Несмотря на то, что многие научные изыскания последних лет позволили нам погрузиться в проблему настолько глубоко, что мы стали говорить о качестве ДНК сперматозоидов, различных эпигенетических механизмах регуляции сперматогенеза, а также о возможных факторах, которые могут вмешиваться в данный процесс, мы, вероятно, все еще далеки от понимания истинных причин мужского бесплодия в каждом конкретном случае. [1, 8]

Сперматогенез – динамический процесс развития мужских половых клеток, находящийся под строгим генетическим и гормональным контролем, подчиняющийся пространственно-временным закономерностям, который включает в себя такие процессы как самообновление и коммитация сперматогониальных стволовых клеток, пролиферация и апоптоз, дифференцировки и мейоз, репарации и регенерации. Подобная сложность делает его «легкой мишенью» для всякого рода негативных воздействий, в том числе и липополисахаридов грамотрицательных микроорганизмов [6].

Бактериальные липополисахариды (ЛПС) – постоянный структурным компонентом клеточных мембран грамотрицательных бактерий. Интерес к липополисахаридам обусловлен не только их уникальной структурой и весьма широким разнообразием вызываемых эффектов, но и тем, что организм человека постоянно контактирует с достаточно большим количеством этого токсина, что обеспечивает поддержание гомеостаза, адаптацию организма к стрессовым воздействиям, способствуют предотвращению проникновения потенциально патогенной флоры в кровоток, стимулируют иммунитет и неспецифическую резистентность организма, при этом, обладая

выраженным токсическим эффектом [2, 4]. Однако влияние бактериальных липополисахаридов в разные сроки после воздействия на структуру семенников практически не изучено.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования явилось изучение и сравнительный анализ структурных изменений в семенниках крыс на 40-е сут. после воздействия бактериальных липополисахаридов (ЛПС) *Escherichia coli* (*E. coli*) и *Serratia marcescens* (*S. marcescens*).

Методика

Объектом исследования являлись половозрелые самцы беспородных белых крыс. Агентом воздействия – липополисахариды грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens*, производства фирмы «Sigma», США.

В эксперименте было использовано 18 самцов беспородных белых крыс. Масса самцов составляла 230 ± 30 г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, на одинаковом пищевом рационе в соответствии с нормами содержания лабораторных животных, 12/12-часовом ритме освещения и темноты с соблюдением требований, изложенных в Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными. Все этапы исследования проводились с разрешения комиссии по биомедицинской этике учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет».

Из самцов были сформированы две опытные и одна контрольная группы. Самцам первой опытной группы вводили ЛПС *E. coli*, самцам второй опытной группы – ЛПС *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы внутривентриально однократно. В качестве контроля использовались интактные животные. Самцов экспериментальных групп на 40-е сут. после воздействия ЛПС усыпляли парами эфира с последующей декапитацией. Животных вскрывали и выделяли семенники. Одну часть семенников фиксировали в жидкости Карнуа, готовили парафиновые срезы, толщиной 5 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. На окрашенных 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), в межканальцевой строме определяли количество интерстициальных эндокриноцитов в поле зрения и определяли площадь их ядер (10 полей зрения), количество sustentocитов на срезе канальца и определяли площадь их ядер, подсчитывали количество сперматогоний и сперматоцитов на срезе канальца (на 20-ти срезах канальцев). Иллюстративный материал получали с помощью цифровой фотокамеры Leica DFC 320 в комплексе с микроскопом Axioscop 2 plus (Carl Zeiss, Германия).

Для предотвращения систематической ошибки измерений образцы семенников от сравниваемых контрольных и опытных животных обрабатывали параллельно в одинаковых условиях. Погрешность измерений составила менее 5%. В результате морфометрических исследований получены количественные непрерывные данные. Их обрабатывали с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер 31415926535897) с применением описательной статистики. Для каждого показателя определяли значение медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$).

Результаты исследования

В большинстве извитых канальцев наблюдается нормальная иерархия расположения клеток сперматогенного эпителия – сперматогонии, первичные и вторичные сперматоциты, сперматиды и сперматозоиды, занимающие центр канальца. Наряду с нормальной картиной – наблюдается картина деструктивных изменений: центры некоторых канальцев заполнены смесью из сперматогоний, первичных и вторичных сперматоцитов, а ближе к базальной области строение канальца остается нормальным. Вышеуказанные нарушения присутствовали как у опытных, так и у контрольных животных, но их относительное количество у контрольных животных было значительно меньшим, чем у опытных.

Экспериментально установлено, что у самцов, получавших ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* относительное количество канальцев с деструктивными изменениями было статистически достоверно увеличено в 3 раза по сравнению с контрольными показателями (рис. 1, табл. 1). При анализе количества клеточных ассоциаций в извитых семенных канальцах семенников животных выявлено, что на 40-е сутки после воздействия, независимо от вида ЛПС, их количество снижено по сравнению с контрольными показателями: после воздействия ЛПС *E. coli* – на 5,57% ($p < 0,05$),

после воздействия ЛПС *S. marcescens* – на 5,27% ($p < 0,05$).

В семенниках опытных животных при введении ЛПС наблюдалась отечность межканальцевой стромы и уменьшение количества интерстициальных клеток по сравнению с аналогичным показателем в контроле. Их количество на 40-е сут. после воздействия ЛПС *E. coli* статистически достоверно снижено по сравнению с таковым в контроле на 36,43% ($p < 0,05$), после воздействия ЛПС *S. marcescens* – на 19,51% ($p < 0,05$) (табл. 1). Ядра клеток, независимо от вида ЛПС, как показали данные морфометрии, уменьшены в размере: при введении ЛПС *E. coli* – на 15,22% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 18,39% ($p < 0,05$).

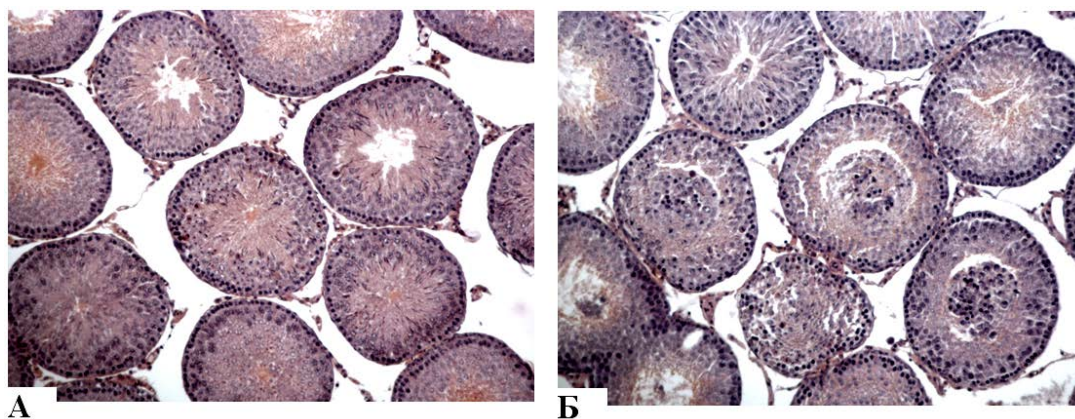


Рис. 1. Строение извитого семенного канальца у контрольных животных (А) и у крыс на 40-е сут. после однократного внутрив брюшинного введения липополисахаридов (Б). Увеличение количества деструктивных семенных канальцев в семенниках у крыс в опытных группах. Цифровая микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.

Таблица 1. Структура семенников у самцов крыс в контрольной группе и на 40-е сут. после воздействия липополисахаридов ($M_e (Q_1; Q_2)$)

Исследуемые показатели	Контроль	Опыт ЛПС <i>E. coli</i>	Опыт ЛПС <i>S. marcescens</i>
Количество деструктивных семенных канальцев	8,20 (3,99; 10,55)	24,29* (18,29; 27,22)	17,52 (11,11; 18,80)
Количество клеточных ассоциаций	3,41 (3,22; 3,52)	3,22 (3,18; 3,25)	3,23 (3,22; 3,36)
Количество интерстициальных эндокриноцитов	8,20 (7,88; 8,66)	6,01* (5,88; 7,27)	6,01* (5,88; 7,27)
Площадь ядер интерстициальных эндокриноцитов, μm^2	23,97 (23,91; 24,17)	20,32* (18,84; 22,56)	19,56* (16,73; 23,43)
Количество sustentоцитов	21,87 (21,87; 22,98)	14,28* (13,57; 4,68)	15,36* (14,63; 15,90)
Площадь ядер sustentоцитов, μm^2	46,89 (43,49; 50,51)	40,25 (34,24; 44,04)	37,14 (36,33; 44,07)
Количество сперматогоний	52,60 (52,30; 53,80)	47,25 (42,00; 48,40)	48,45 (43,30; 52,60)
Количество сперматоцитов	41,34 (39,98; 41,87)	32,28* (23,57; 32,30)	33,22* (33,20; 33,86)

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем

В опытных группах на светооптическом уровне в sustentоцитах наблюдаются выраженные морфологические изменения, заключающиеся в вакуолизации цитоплазмы клеток, в отдельных участках канальца наблюдается гибель клеток (рисунок 2). Экспериментально установлено, что при введении ЛПС наблюдается статистически достоверное снижение количества sustentоцитов в извитых семенных канальцах семенников: при введении ЛПС *E. coli* – на 34,70% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 40,10% ($p < 0,05$) (табл. 1). Данные морфометрии показали и уменьшение площади их ядер, при этом показатели статистически не достоверны (табл. 1, рис. 2).

В результате проведенных исследований установлено, что на 40-е сут. после воздействия, независимо от вида ЛПС, происходит снижение среднего количества нормальных сперматогоний по сравнению с контрольными показателями, показатели при этом статистически не достоверны (табл. 1, рис. 3). Данные морфометрического анализа показали и значительное снижение количества сперматоцитов в канальцах семенников у животных опытных групп, по сравнению с

таковым в контроле: при введении ЛПС *E. coli* – на 21,91% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19,64% ($p < 0,05$) (табл. 1, рис. 3).

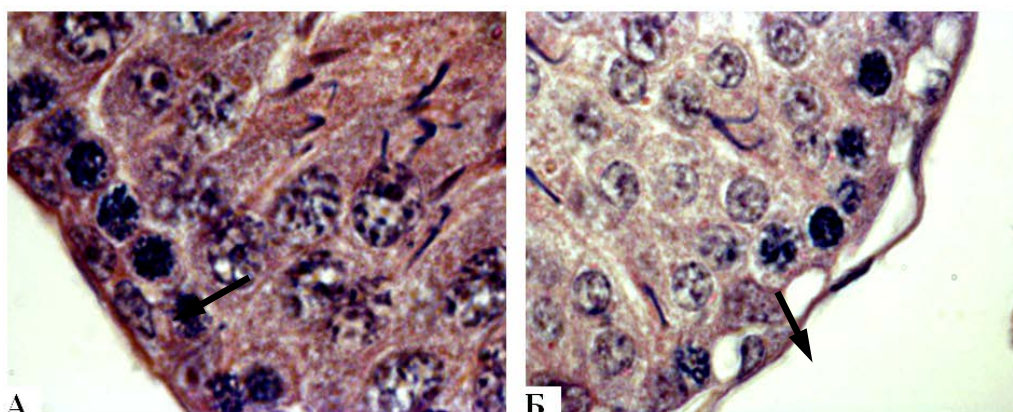


Рис. 2. Суспендоциты в семенных канальцах семенников у крыс контрольной группы (А), и у крыс на 40-е сут. после однократного внутрибрюшинного введения липополисахаридов (Б). Вакуолизация цитоплазмы и снижение количества суспендоцитов в семенниках у крыс в опытных группах. Цифровая микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 1000.

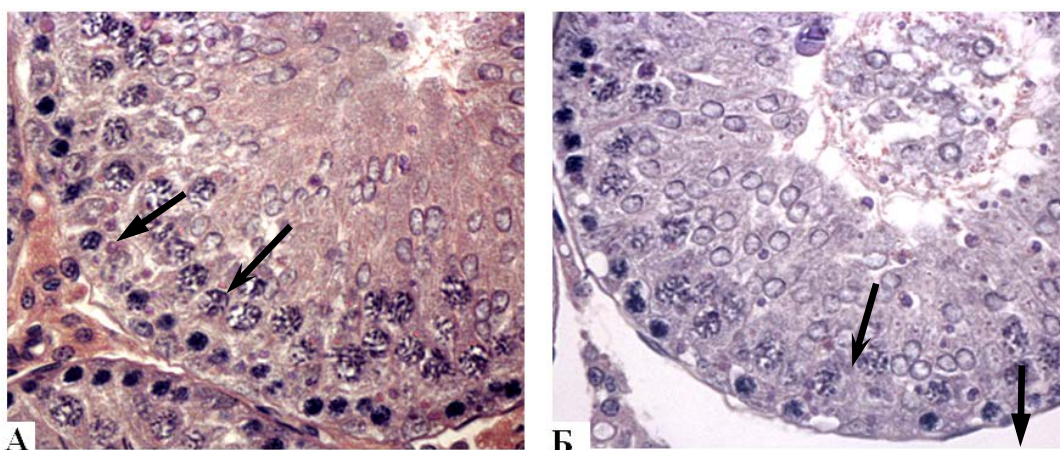


Рис. 3. Количество сперматогоний и сперматозоидов в канальце у контрольных крыс (А) и у крыс на 40-е сут. после однократного внутрибрюшинного введения ЛПС (Б). Уменьшение количества сперматозоидов в семенниках у крыс в опытных группах. Цифровая микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Обсуждение результатов исследования

Результаты морфометрического анализа семенников позволили оценить изменения, происходящие в семенниках крыс в ответ на воздействие бактериальных липополисахаридов. В процессе исследования установлено, что однократное внутрибрюшинное введение ЛПС грамотрицательных бактерий *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы самцам крыс на 40-е сут. после воздействия, независимо от вида ЛПС, вызывает развитие структурных изменений в семенниках животных опытных групп. В семенниках самцов крыс наблюдается увеличение относительного количества деструктивных семенных канальцев на срезе семенника в 3 раза, уменьшается количество клеточных ассоциаций в канальцах: после воздействия ЛПС *E. coli* – на 5,57% ($p < 0,05$), после воздействия ЛПС *S. marcescens* – на 5,27% ($p < 0,05$). В межканальцевой строме происходит уменьшение количества интерстициальных эндокриноцитов по сравнению с аналогичным показателем в контроле: после воздействия ЛПС *E. coli* – на 36,43% ($p < 0,05$), после воздействия ЛПС *S. marcescens* – на 19,51% ($p < 0,05$) и снижение площади их ядер: при введении

ЛПС *E. coli* – на 15,22% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 18,39% ($p < 0,05$). В извитых семенных канальцах семенников опытных животных уменьшается количество sustentоцитов: при введении ЛПС *E. coli* – на 34,70% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 40,10% ($p < 0,05$) и происходит снижение площади их ядер (показатели статистически не достоверны). Так же наблюдается снижение количества клеток сперматогенного эпителия – сперматогоний (показатели статистически не достоверны) и сперматоцитов (при введении ЛПС *E. coli* – на 21,91% ($p < 0,05$), при введении ЛПС *S. marcescens* – на 19,64% ($p < 0,05$)).

Поскольку установлено, что важную роль в обеспечении процессов сперматогенеза играют интерстициальные эндокриноциты, синтезирующие тестостерон, и sustentоциты, обеспечивающие развитие клеток сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев семенника [9], логично предположить, что все вышеуказанные изменения в семенниках крыс опытных животных, которые сопровождаются и нарушениями метаболизма в клетках сперматогенного эпителия [5, 7], могут свидетельствовать о замедлении пролиферации и дифференцировки клеток, приводящие к нарушению их функций, и в конечном итоге – к нарушению процесса образования мужских половых клеток – сперматогенеза.

Выводы

1. Введение бактериальных ЛПС *E. coli* и *S. marcescens* в дозе 50 мкг/кг массы внутрибрюшинно, однократно самцам крыс на 40-е сут. после воздействия вызывает ряд структурных изменений в семенниках крыс: увеличение количества деструктивных семенных канальцев на срезе, снижение количества клеточных ассоциаций в канальцах семенника, уменьшение количества интерстициальных эндокриноцитов в межканальцевой строме и клеток эпителио-сперматогенного слоя (сперматогоний и сперматоцитов) извитых семенных канальцев семенника, а также снижение площади их ядер.
2. Структурные изменения в семенниках крыс, вызванные введением бактериальных ЛПС, независимо от их вида, приводят к замедлению процессов пролиферации и дифференцировки клеток сперматогенного эпителия, нарушению их функций, и, в конечном итоге, к нарушению процессов образования мужских половых клеток.

Литература (references)

1. Безруков Е.А., Проскура А.В. Влияние факторов окружающей среды и образа жизни на репродуктивный потенциал мужчины // Проблемы репродукции. – 2016. – №5. – С. 133-140 [Bezrukov E.A., Proskura A.V. *Problemy reprodukcii* Reproduction problems. – 2016. – N5. – P. 133-140 (in Russian)]
2. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В., Веткова Л.Г. Молекулярные аспекты повреждающего действия бактериальных липополисахаридов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2004. – №3. – С. 98-105. [Bondarenko V.M., Rjabichenko E.V., Vetkova L.G. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii* Journal microbiology, epidemiology and immunobiology. – 2004. – N3. – P. 98-105. (in Russian)]
3. Логинов П.В. Репродуктивная функция мужчин, подверженных воздействию неблагоприятных факторов // Фундаментальные исследования. – 2015. – №2-27. – С. 6043-6049 [Loginov P.V. *Fundamental'nye issledovaniya*. Basic research. – 2015. – N2-27. – P. 6043-6049. (in Russian)]
4. Никитин А.И. Факторы среды и репродуктивная система человека. // Морфология. – 1998. – №6. – С. 7-16. [Nikitin A.I. *Morfologija*. Morphology. – 1998. – N6. – P. 7-16. (in Russian)]
5. Поплавская Е.А., Лис Р.Е. Влияние бактериальных липополисахаридов грамотрицательных бактерий, *E.coli* и *S. marcescens*, введенных самцам крыс, на активность ферментов в цитоплазме сперматоцитов 1-го порядка на 1,3,6 сутки после введения // Известия Национальной Академии Наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2014. – №4. – С. 81-85. [Poplavskaja E.A., Lis R.E. *Izvestija Nacional'noj Akademii Nauk Belarusi. Serija biologicheskikh nauk*. News of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Biological Sciences. – 2014. – N4. – P. 81-85. (in Russian)]
6. Поплавская Е.А., Поплавский Д.Ю., Хильманович Е.Н. Структурные особенности семенников крыс при введении бактериального липополисахарида *Serratia marcescens* в ранние сроки после воздействия // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – №4, Т.17. – С. 5-11. [Poplavskaya E.A., Poplavskij D.YU., Hil'manovich E.N. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii*. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. – 2018. – N4, T.17. – P. 5-11. (in Russian)]

7. Разниченко А.Г. Влияние химио- и радиотерапии на сперматогенез у онкологических больных // Проблемы репродукции. – 2007. – №4. – С. 70-75. [Raznichenko A.G. *Problemy reprodukcii*. Problems of reproduction. – 2007. – N4. – P. 70-75. (iNRussian)]
8. Benchaib M, Braun V, Lornage J, et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. // *Human Reproduction*. – 2003. – V.18, N5. – P. 1023-1028.
9. Johnson L., Thompson D.L.Jr, Varner D.D. Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis // *Animal Reproduction Science*. – 2008. – V.105, N1/2. – P. 23-51.
10. Rolland M., Le Moal J., Wagner V. et al. Decline in semen concentration and morphology in a sample of men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Human Reproduction*. – 2013. – V.28, N2. – P.462-470.

Информация об авторах

Поплавская Елена Александровна – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета. Гродно, Республика Беларусь. E-mail: Len.poplavska@mail.ru

Поплавский Денис Юрьевич – студент лечебного факультета Гродненского государственного медицинского университета. Гродно, Республика Беларусь. E-mail: denispoplavski@gmail.com