

УДК 591.463.05 : 636.087.7 : 616-001.18.001.6

UDC 591.463.05 : 636.087.7 : 616-001.18.001.6

**МОЛЛЮСКАМ КАК КОРРЕКТОР  
НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ  
АКТИВНОСТИ СЕМЕННИКОВ КРЫС,  
ИНДУЦИРОВАННЫХ АДАПТАЦИЕЙ К  
НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ**

**PROTECTIVE PROPERTIES OF MOLLUSKAM  
AGAINST THE TESTICULAR DISFUNCTION  
IN RATS INDUCED BY ADAPTATION TO LOW  
TEMPERATURES**

Саяпина Ирина Юрьевна  
к.м.н., доцент  
E-mail: [irina6336@mail.ru](mailto:irina6336@mail.ru)

Sayapina Irina Yurievna  
Cand. Sci. Med., associate professor  
E-mail: [irina6336@mail.ru](mailto:irina6336@mail.ru)

Огородникова Татьяна Леонидовна  
к.б.н.  
Амурская государственная медицинская академия,  
Благовещенск, Россия

Ogorodnikova Tatiana Leonidovna  
Cand. Sci. Biol.  
Amur State Medical Academy, Blagoveshchensk, Rus-  
sia

В статье приведены результаты исследований по коррекции тестикулярной дисфункции крыс моллюскамом. Установлено, что при адаптации к низким температурам моллюскам проявляет протективные свойства, предотвращая нарушения сперматогенеза и гибель клеток Лейдига в семенниках крыс

The article presents the researches of rat's testicular disfunction correction with Molluskam. It was revealed, that Molluskam has protective properties preventing spermatogenesis disorders and Leydig cells death in the rat testis during the adaptation to low temperatures

Ключевые слова: КРЫСЫ, СЕМЕННИК, АДАПТАЦИЯ, НИЗКИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ, СПЕРМАТОГЕНЕЗ, КЛЕТКИ ЛЕЙДИГА, МОЛЛЮСКАМ

Keywords: RATS, TESTIS, ADAPTATION, LOW TEMPERATURES, SPERMATOGENESIS, LEYDIG CELLS, MOLLUSKAM

Репродуктивная система человека и животных чрезвычайно чувствительна к действию экстремальных факторов среды, в связи с этим поиск средств, повышающих адаптационные возможности органов репродуктивной системы, является важнейшей медико-биологической проблемой. Одним из направлений современной экспериментальной репродуктологии является разработка препаратов, корригирующих тестикулярную дисфункцию, возникающую при взаимодействии организма животных с неблагоприятными факторами среды. Значимость данного направления определяется, по меньшей мере, двумя обстоятельствами. Во-первых, за последние десятилетия наблюдается существенное снижение репродуктивной функции у мужчин, что отрицательно сказывается на демографической ситуации в стране. Во-вторых, лечение инфертильных состояний у мужчин осложняется высокой чувствительностью половых клеток даже к неспецифической терапии, включающей адаптогены, витамин Е, поливитамины и микроэлементы [1].

Наиболее перспективными средствами для коррекции тестикулярной дисфункции являются биологически активные вещества (модификаторы биологического ответа) природного происхождения. В последние десятилетия интенсивно изучается новый источник природных соединений – морские организмы. На сегодняшний день получено большое количество биологически активных веществ из морских гидробионтов, на основе которых разработаны биологически активные добавки к пище (БАД), в том числе и БАД моллюскам. БАД моллюскам представляет собой комплекс заменимых, частично заменимых и незаменимых аминокислот, получаемых путем ферментативного гидролиза мантий двустворчатых и головоногих моллюсков [2]. Известно, что БАД моллюскам, обладая иммуномодулирующим и антиоксидантным действием, повышает сопротивляемость организма к действию неблагоприятных факторов среды [2]. В эксперименте было установлено, что БАД моллюскам оказывает положительное влияние на факторы врожденного иммунитета, нормализует показатели клеточного и гуморального иммунитета, улучшает процессы пролиферации и дифференцировки гемопоэтических клеток в красном костном мозге [2, 3]. В геронтологической практике моллюскам применяется для коррекции иммунного статуса и показателей системы перекисного окисления липидов – антиоксидантной системы у людей пожилого возраста [7]. Однако влияние БАД моллюскам на репродуктивную функцию человека или животных изучено не было. Цель настоящего экспериментального исследования – изучить репродуктивную и эндокринную функцию семенников крыс при адаптации организма к низким сезонным температурам на фоне коррекции БАД моллюскам.

### Материалы и методы

Исследование проведено на 90 нелинейных крысах-самцах *Rattus norvegicus Albinus* с массой тела 200-250 г. Животные содержались в виварии Амурской государственной медицинской академии при соблюдении 12-ти часового светового режима, на стандартном пищевом рационе, при

свободном доступе к пище и воде. Экспериментальные животные были разделены на 2 группы – группу сравнения (n 30) и группу коррекции (n 30). Экспериментальных животных ежедневно в течение 4-х недель охлаждали в климатокамере “ILKA” (Feutron, ГДР) при температуре  $-15^{\circ}\text{C}$  по 3 часа, с соблюдением адекватных условий влажности и вентиляции. Крысы из группы коррекции ежедневно перед охлаждением получали моллюскам *per os* в дозе 10 мг на кг массы тела животного. Интактные крысы (n 30), содержащиеся в стандартных температурных условиях вивария, составили группу контроля. Животные выводились из эксперимента на следующий день после завершения путем декапитации под тиопенталовым наркозом. Все манипуляции с животными проводились на основании разрешения Этического комитета Амурской государственной медицинской академии (протокол № 1 от 23 декабря 2005 г.), протокол эксперимента исследования на этапах содержания, моделирования и выведения животных из эксперимента соответствовал принципам биологической этики, изложенным в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ЕЭС, Страсбург, 1985).

Для морфологического и количественного анализа использовали парафиновые срезы семенников толщиной 5 мкм, для окраски которых ставили ШИК-реакцию с последующим окрашиванием ядер клеток гематоксилином. Индуцибельную NO-синтазу определяли при помощи моноклональных антител (Lab Vision, США), продукты пероксидазной реакции выявляли диаминобензидином (Хема, Россия), ядра клеток окрашивали гематоксилином, оптическую плотность продуктов реакции оценивали количественным методом и выражали в условных единицах.

Морфометрическое исследование семенников проводили при помощи аппаратно-программного комплекса, состоящего из программного обеспечения для количественного анализа ВидеоТест – Морфология 5.0, цифровой камеры DCM 130, адаптированной к световому микроскопу «Микро-

мед-1», и персонального компьютера. Количественный анализ инкреторной активности семенников включал подсчет относительного количества клеток Лейдига, измерение диаметра цитоплазмы и ядра клеток Лейдига, определяли процентное соотношение различных морфофункциональных типов интерстициальных эндокриноцитов [6], в сыворотке крови крыс определяли концентрацию тестостерона методом иммуноферментного анализа с использованием стандартного набора (Вектор-Бест, Россия). Для количественной оценки генеративной активности семенников измеряли диаметр извитых семенных канальцев, вычисляли индекс сперматогенеза, цитологический профиль сперматогенеза [6].

Учитывая ведущую роль процессов свободнорадикального окисления липидов в развитии холодовой патологии, в сыворотке крови крыс и тканях семенника определяли содержание гидроперекисей липидов, малонового диальдегида и диеновых конъюгатов, антиокислительную систему оценивали по содержанию витамина Е.

Для статистической обработки количественных данных использовалось программное обеспечение Statistica 6.0 (StatSoft, США), все данные представлены как  $M \pm m$ . Гипотезу нормальности распределения значений в выборках проверяли при помощи теста Колмогорова-Смирнова, после чего для сравнения выборок применялся параметрический t-критерий Стьюдента. Различия между выборками считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты и обсуждение**

Проанализируем в сравнительном аспекте результаты количественного исследования генеративной активности семенников крыс, получавших на протяжении 4-х недель адаптации БАД моллюскам, с результатами, полученными при изучении семенников крыс, которым не проводилась коррекция.

В семенниках крыс, не получавших коррекцию, снижены все показатели цитологического профиля сперматогенеза (табл. 1): по сравнению с

группой контроля количество прелептотенных сперматоцитов уменьшено на 13,9%, пахитенных сперматоцитов на 18,8%, круглых сперматид на 18,2%, популяция удлинённых сперматид уменьшена на 25,03% ( $p < 0,05$ ). Результаты морфометрии показали (табл. 1), что диаметр извитых семенных канальцев на 7,9% меньше, чем у intactных крыс ( $p < 0,05$ ).

В семенниках крыс, получавших моллюскам (табл. 1), относительное количество прелептотенных сперматоцитов, пахитенных сперматоцитов, круглых и удлинённых сперматид статистически значимо выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Более того, относительное количество прелептотенных сперматоцитов, пахитенных сперматоцитов и круглых сперматид не отличается от одноименных показателей у intactных крыс, а относительное количество удлинённых сперматид превышает контрольные значения (табл. 1). Диаметр извитых семенных канальцев в семенниках крыс из группы коррекции больше, чем у крыс из группы сравнения ( $p < 0,05$ ), в то же время, относительно семенников intactных крыс, диаметр канальцев незначительно уменьшен (табл. 1). Таким образом, результаты сравнительного анализа количественных данных показали, что БАД моллюскам предупреждает нарушения сперматогенеза, индуцированные адаптацией организма животных к низким сезонным температурам.

В семенниках крыс, которым не проводилась коррекция, в клетках эпителиосперматогенного слоя отмечается выраженное угнетение экспрессии индуцибельной NO-синтетазы (табл. 1), оптическая плотность продуктов реакции ниже контрольных значений ( $p < 0,05$ ). Оксид азота, синтез которого обеспечивает фермент NO-синтетаза, принимает активное участие в регуляции сперматогенеза, обеспечивая гомеостаз специфического микроокружения в извитых семенных канальцах семенников крыс [14]. Кроме того, оксид азота регулирует поддержание целостности специализированных межклеточных контактов, таких как плотные контакты Сертоли-Сертоли, а также контакты между sustentоцитами и сперматидами [14]. Исходя из важной роли оксида азота в регуляции сперматогенеза, угнете-

ние экспрессии NO-синтетазы указывалось как одна из вероятных причин нарушений сперматогенеза в семенниках крыс, которые не получали БАД моллюскам.

Таблица 1 – Количественные показатели функциональной активности семенников в норме и эксперименте (M±m)

Показатель	Группа контроля	Группа сравнения	Группа коррекции
Диаметр канальцев (мкм)	277,86±1,27	255,76±1,08 $p_1 < 0,05$	267,98±1,26 $p_2 < 0,05$
Индекс сперматогенеза (усл. ед.)	3,3±0,45	3,28±0,44 $p_1 > 0,05$	3,38±0,47 $p_2 > 0,05$
Прелептотенные сперматоциты (число)	66,03±1,29	56,83±1,15 $p_1 < 0,05$	70,65±2,25 $p_2 < 0,05$
Пахитенные сперматоциты (число)	81,13±1,78	65,83±1,28 $p_1 < 0,05$	76,75±2,54 $p_2 < 0,05$
Круглые сперматиды (число)	199,13±3,68	162,93±3,31 $p_1 < 0,05$	202,75±5,7 $p_2 < 0,05$
Удлиненные сперматиды (число)	219,23±4,47	163,8±3,65 $p_1 < 0,05$	246,75±7,45 $p_2 < 0,05$
Диаметр ядра клеток Лейдига (мкм)	6,23±0,02	6,57±0,03 $p_1 < 0,05$	6,40±0,02 $p_2 > 0,05$
Диаметр цитоплазмы клеток Лейдига (мкм)	8,31±0,03	9,04±0,04 $p_1 < 0,05$	8,29±0,09 $p_2 < 0,05$
Относительное количество клеток Лейдига (число)	10,9±0,28	8,84±0,27 $p_1 < 0,05$	12,5±0,37 $p_2 < 0,05$
Тестостерон (нмоль/л)	32,36±2,03	32,17±0,83 $p_1 > 0,05$	30,57±2,27 $p_2 > 0,05$
NO-синтетаза, единицы оптической плотности	0,272±0,009	0,199± 0,009 $p_1 < 0,05$	0,248±0,012 $p_2 < 0,05$

$p_1$  – уровень доверительной вероятности при сравнении показателей группы контроля и группы сравнения,  $p_2$  – уровень доверительной вероятности при сравнении показателей группы коррекции и группы сравнения.

В семенниках крыс, получавших во время холодовой адаптации моллюскам, отмечается хорошо выраженная реакция на NO-синтетазу. Цитоплазма сустентоцитов, прелептотенных и пахитенных сперматоцитов, а также удлиненных сперматид содержит продукты пероксидазной реакции в виде преципитатов светло-коричневого цвета, а оптическая плотность продуктов реакции выше, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Восстановление экспрессии NO-синтетазы в семенниках крыс, получавших моллюскам, может быть обусловлено непосредственным участием компонентов

БАД в метаболизме данного фермента. Как известно, оксид азота образуется в результате окисления L-аргинина кислородом при участии фермента NO-синтетазы [13, 18, 20]. Аргинин составляет 4% сухой массы БАД моллюскам [2], следовательно, дополнительное поступление в организм животных аргинина, являющегося субстратом для синтеза оксида азота, могло привести к усилению экспрессии NO-синтетазы. Дополнительное введение в организм крыс L-аргинина при длительной адаптации к холоду приводило к активному синтезу оксида азота, который усиливал систему антиоксидантной защиты в скелетных мышцах крыс и поджелудочной железе [18, 20] и восстанавливал секрецию лептина в бурой жировой ткани [13]. Таким образом, восстановление экспрессии NO-синтетазы в клетках эпителиосперматогенного слоя, опосредованно, через синтез оксида азота, может способствовать более полноценному осуществлению сперматогенной функции.

После проведения сравнительного анализа генеративной функции гонад, перейдем к рассмотрению структурно-функционального состояния эндокринного аппарата семенников крыс, получавших моллюскам. Необходимо отметить, что у крыс из группы коррекции, равно как и у крыс из группы сравнения, уровень сывороточного тестостерона находится на уровне контрольных значений (табл. 1). Однако структурное обеспечение функциональной активности эндокринного аппарата семенников у крыс из группы коррекции коренным образом отличается от структурных преобразований интерстициальных glanduloцитов в семенниках из группы сравнения.

В интерстициальной соединительной ткани семенников крыс, которым не проводилась коррекция, отмечается статистически значимое уменьшение относительного количества клеток Лейдига (табл. 1), тем не менее, уровень сывороточного тестостерона в группе сравнения поднимается практически до значений группы контроля. Структурной основой увеличе-

ния концентрации тестостерона в условиях уменьшения популяции интерстициальных гландулоцитов является компенсаторная гипертрофия клеток Лейдига (табл. 1), подтвержденная результатами морфологического, ультраструктурного и количественного анализа.

Основной причиной уменьшения количества клеток Лейдига в семенниках крыс после 4-х недель адаптации является усиление процессов генетически программируемой гибели клеток в популяции интерстициальных гландулоцитов, что согласуется с мнением других авторов [8, 9, 10, 12, 15, 17]. В роли индуктора дегенеративных изменений интерстициальных эндокриноцитов и последующей их гибели путем апоптоза является окислительный стресс, развивающийся при адаптации организма к низким температурам. Данное утверждение согласуется с результатами исследований других авторов, которые показывают, что окислительный стресс в семенниках крыс, вызванный различными причинами, приводит к развитию дегенеративных изменений в клетках Лейдига [5, 11, 16, 19].

На фоне приема моллюскама относительное количество клеток Лейдига в интерстиции семенников больше ( $p < 0,05$ ), чем в семенниках крыс из группы сравнения (табл. 1). Популяционный состав интерстициальных гландулоцитов, а также линейные размеры цитоплазмы клеток Лейдига существенно не различаются с показателями интактных крыс (табл. 1). Таким образом, на фоне приема БАД моллюскам эндокринный аппарат семенников функционирует в обычном режиме, обеспечивая организм животных достаточным количеством половых стероидов.

Рассмотрим результаты биохимического исследования процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной системы в тканях семенника и сыворотке крови животных, получавших во время адаптации к низким температурам БАД моллюскам.

В сыворотке крови крыс, получавших моллюскам, содержание малонового диальдегида достоверно ниже, чем у животных из группы сравнения,



и не имеет различий с группой контроля (табл. 2). Малоновый диальдегид, являющийся одним из конечных продуктов перекисного окисления липидов, служит надежным индикатором интенсивности процессов перекисного окисления в сыворотке крови [4, 5, 19]. В связи с этим определение концентрации малонового диальдегида широко применяется в медицинской практике и в экспериментальных исследованиях как наиболее информативный показатель, отражающий интенсивность процессов перекисного окисления липидов. В ряде экспериментальных и клинических исследований прием моллюскама препятствовал накоплению в сыворотке крови малонового диальдегида [2], что соответствует данным, полученным в ходе настоящего исследования.

Параллельно снижению уровня малонового диальдегида, на фоне приема моллюскама в сыворотке крови крыс статистически значимо увеличивается концентрация витамина Е (табл. 2). Свободные аминокислоты в комплексе с дипептидами, входящие в состав моллюскама, представляют собой комплекс антиоксидантов, выполняющих роль скэвенджеров свободных радикалов [2]. Следовательно, дополнительное введение молекул с антиоксидантной активностью уменьшает расход витамина Е, как представителя антиоксидантной системы организма, тем самым приводя к увеличению его концентрации в сыворотке крови. В то же время, концентрация диеновых конъюгатов и гидроперекисей липидов в сыворотке крови крыс из группы коррекции выше одноименных показателей у крыс группы контроля (табл. 2).

В тканях семенника крыс на фоне приема БАД моллюскам снижается содержание диеновых конъюгатов (табл. 2), являющихся наряду с малоновым диальдегидом еще одним конечным продуктом перекисного окисления липидов. Однако содержание гидроперекисей липидов в тканях семенника по сравнению с группой контроля остается повышенным (табл. 2), а содержание витамина Е в тканях семенника меньше контрольных значений

( $p < 0,05$ ). Высокий уровень гидроперекисей липидов, как и низкий уровень витамина Е, может быть обусловлен высокой интенсивностью стероидогенеза в условиях холодной адаптации организма.

Таблица 2 – Содержание основных продуктов перекисного окисления липидов и витамина Е в сыворотке крови и ткани семенников ( $M \pm m$ )

Группы животных	ДК (нмоль/г)	ГЛ (нмоль/г)	МДА (нмоль/л)	Витамин Е (мкг/г)
Сыворотка крови				
Группа контроля	27,2±3,0	26,06±1,46	4,84±0,27	51,12±4,11
Группа сравнения	48,9±3,4 $p_1 < 0,05$	32,76±1,81 $p_1 < 0,05$	6,06±0,34 $p_1 < 0,05$	32,48±2,29 $p_1 < 0,05$
Группа коррекции	44,96±2,31 $p_2 > 0,05$	31,05±2,79 $p_2 > 0,05$	4,97±0,24 $p_2 < 0,05$	39,77±2,15 $p_2 < 0,05$
Семенник				
Группа контроля	69,98±5,44	25,81±0,9	—	52,63±3,81
Группа сравнения	78,9±5,03 $p_1 < 0,05$	43,35±2,81 $p_1 < 0,05$	—	32,51±0,82 $p_1 < 0,05$
Группа коррекции	74,5±3,4 $p_2 < 0,05$	43,85±2,58 $p_2 > 0,05$	—	41,4±2,19 $p_2 > 0,05$

ДК – диеновые конъюгаты, ГЛ – гидроперекиси липидов, МДА – малоновый диальдегид.  $p_1$  – уровень доверительной вероятности при сравнении показателей группы контроля и группы сравнения,  $p_2$  – уровень доверительной вероятности при сравнении показателей группы коррекции и группы сравнения.

Таким образом, при окислительном стрессе, индуцированном адаптацией организма к низким сезонным температурам, моллюскам проявляет умеренную антиоксидантную активность, что обусловлено низкой антиоксидантной емкостью моллюскама, которая ниже антиоксидантной емкости такого мощного антиоксиданта, как кверцетин, почти в 30 раз [2]. Тем не менее, частичная коррекция моллюскамом окислительного стресса в сыворотке крови и семенниках предотвращает усиленную элиминацию клеток в популяции интерстициальных glanduloцитов.

### Заключение

Прием БАД моллюскамам предотвращает нарушения структурного и функционального гомеостаза семенников, индуцированные адаптацией к низким температурам. В извитых семенных канальцах отмечается количе-

ственное восстановление сперматогенеза, восстанавливается экспрессия индуцибельной NO-синтетазы. Качественные и количественные характеристики интерстициальных гландулоцитов, популяционный состав клеток Лейдига в семенниках крыс, получавших моллюскам, соответствуют интактным животным. Опираясь на полученные результаты, можно констатировать, что БАД моллюскам повышает адаптационные возможности семенников при действии на организм животных экстремально низких температур. Биостимулирующие эффекты моллюскама в совокупности с умеренным антиоксидантным действием позволяют использовать данный препарат в качестве средства, повышающего резистентность организма животных к неблагоприятным факторам среды.

#### Литература

1. Артифексов, С.Б., Основные направления сохранения и пути коррекции мужской infertility, обусловленной влиянием привычных интоксикаций / С.Б. Артифексов, А.А. Артифексова, И.А. Назаров и др. // Проблемы репродукции. 2004. № 5. С. 105.
2. Беседнова, Н.Н. Биологически активная добавка к пище «Моллюскам» (в помощь практическому врачу) / Н.Н. Беседнова, Т.Н. Пивненко, Т.С. Запорожец // Методическое пособие для врачей. Владивосток: ТИПРО-центр. 2007. 40 с. Запорожец, Т.С. Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия биополимеров морских гидробионтов / Т.С. Запорожец // Дисс. ... докт. мед. наук. – Владивосток, 2006. – 355 с.
3. Котельникова, С.В. Состояние перекисного окисления липидов в разных органах и тканях белых крыс в зимний и летний периоды в условиях кадмиевой интоксикации / С.В. Котельникова, Н.Г. Соколова, А.В. Котельников // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008. Т. 146. № 9. С. 264-265.
4. Логинов, П.В. Влияние витамина Е (β-токоферола) на гипоталамо-гипофизарно-гонадную систему самцов белых крыс при окислительном стрессе, индуцированном природными токсикантами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Астрахань. 2004. 24 с.
5. Ухов, Ю.И. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников / Ю.И. Ухов, А.Ф. Астраханцев // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1983. Т. 84, №3. С.66-72.
6. Шутикова, А.Л. Влияние БАД «Моллюскам» на показатели клеточного и гуморального иммунитета у лиц пожилого возраста / А.Л. Шутикова, Т.С. Запорожец, Эпштейн Л.М. и др. // Дальневосточный медицинский журнал. 2006. №3. С. 48-50.
7. Cheng, C.Y. Stress induces glucocorticoid-mediated apoptosis of rat Leydig cells in vivo. / C.Y. Cheng, Q. Wang, F.F. Wang et al. // Stress. 2012. Vol. 15, № 1. P. 74-78.
8. Gao, H.B. Glucocorticoid induces apoptosis in rat Leydig cells. / H.B. Gao, M.H. Tong, Y.Q. Hu et al. / Endocrinology. 2002. Vol. 143, № 1. P. 130-138.
9. Gong, Y.G. Deprivation of testicular innervation induces apoptosis of Leydig cells via caspase-8-dependent signaling: a novel survival pathway revealed / Y.G. Gong, Y.Q. Wang,

M. Gu et al. // *Biochemistry and Biophysics Researches and Communications*. 2009. Vol. 382, № 1. P. 165-170.

10. Gupta, R.S., Khan T.I., Agrawal D. The toxic effects of sodium fluoride on the reproductive system of male rats / R.S. Gupta, T.I. Khan, D. Agrawal et al. // *Toxicology and Industrial Health*. 2007. Vol. 23, № 9. P. 507-513.

11. Kim, K.H. Nicotine induces apoptosis in TM3 mouse Leydig cells / K.H. Kim, K.J. Joo, H.J. Park et al. // *Fertility and Sterility*. 2005. Vol. 83, № 4. P. 1093-1099.

12. Korac, A. Leptin immunoexpression and innervation in rat interscapular brown adipose tissue of cold-acclimated rats: the effects of L-arginine and L-NAME / A. Korac, B. Buzadzic, V. Petrovic et al. // *Folia Histochemistry and Cytobiology*. 2008. Vol. 46, № 4. P. 103-109.

13. Lee, N.P. Nitric oxide and cyclic nucleotides: their roles in junction dynamics and spermatogenesis / N.P. Lee, C.Y. Cheng // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2008. Vol. 1, № 1. P. 25-32.

14. Martinez, V.G. Galectin-1, a cell adhesion modulator, induces apoptosis of rat Leydig cells in vitro / V.G. Martinez, E.H. Pellizzari, E.S. Diaz et al. // *Glycobiology*. 2004. Vol. 14, № 2. P. 127-137.

15. Murugesan, P. Studies of the protective role of vitamin C and E against polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254)-induced oxidative damage in Leydig cells / P. Murugesan, T. Muthusami, K. Balasubramanian et al. // *Free Radical Research*. 2005. Vol. 39, № 11. P. 1259-1272.

16. O'Shaughnessy, P.J. Leydig cell regeneration and expression of cell signaling molecules in the germ cell-free testis / P.J. O'Shaughnessy, I.D. Morris, P.J. Baker // *Reproduction*. 2008. Vol. 135, № 6. P. 851-858.

17. Petrovic, V. Antioxidative defence alterations in skeletal muscle during prolonged acclimation to cold: role of L-arginine/NO-producing pathway / V. Petrovic, B. Buzadzic, A. Korac et al. // *The Journal of Experimental Biology*. 2008. Vol. 211. P. 114-120.

18. Rezvanfar, M.A. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress / M.A. Rezvanfar, R.A. Sadrkhanlou, A. Ahmadi et al. // *Human & Experimental Toxicology*. 2008. Vol. 27, № 12. P. 901-910.

19. Vasilijevic, A. The effects of cold acclimation and nitric oxide on antioxidative enzymes in rat pancreas / A. Vasilijevic, B. Buzadzic, A. Korac et al. // *Comp Biochem Physiol & Toxicol Pharmacol*. 2007. Vol. 145, № 4. P. 641-647.

### References

1. Artifeksov, S.B., Osnovnye napravlenija sohraneniya i puti korekcii muzhskoj infertil'nosti, obuslovlennoj vlijaniem privychnyh intoksikacij / S.B. Artifeksov, A.A. Artifeksova, I.A. Nazarov i dr. // *Problemy reprodukcii*. 2004. № 5. S. 105.

2. Besednova, N.N. Biologicheski aktivnaja dobavka k pishhe «Molljuskam» (v pomoshh' prakticheskomu vrachu) / N.N. Besednova, T.N. Pivnenko, T.S. Zaporozhec // *Metodicheskoe posobie dlja vrachej*. Vladivostok: TINRO-centr. 2007. 40 s. Zaporozhec, T.S. Kletochnye i molekularnye mehanizmy immunomodirujushhego dejstvija biopolimerov morskikh gid-robiontov / T.S. Zaporozhec // *Diss. ... dokt. med. nauk.* – Vladivostok, 2006. – 355 s.

3. Kotel'nikova, S.V. Sostojanie perekisnogo okislenija lipidov v raznyh organah i tkanjah belyh krysv v zimnij i letnij periody v uslovijah kadmievoj intoksikacii / S.V. Kotel'nikova, N.G. Sokolova, A.V. Kotel'nikov // *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2008. T. 146. № 9. S. 264-265.

4. Loginov, P.V. Vlijanie vitamina E (b-tokoferola) na gipotalamo-gipofizarno-gonadnuju sistemu samcov belyh krysov pri okislitel'nom stresse, inducirovannom pri-rodnymi toksikantami: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Astrahan'. 2004. 24 s.
5. Uhov, Ju.I. Morfometricheskie metody v ocenke funkcional'nogo sostojanija semennikov / Ju.I. Uhov, A.F. Astrahancev // Arhiv anatomii, gistologii i jembriologii. 1983. T. 84, №3. S.66-72.
6. Shutikova, A.L. Vlijanie BAD «Molljuskam» na pokazateli kletocnogo i gumoral'nogo immuniteta u lic pozhilogo vozrasta / A.L. Shutikova, T.S. Zaporozhec, Jep-shtejn L.M. i dr. // Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal. 2006. №3. S. 48-50.
7. Cheng, C.Y. Stress induces glucocorticoid-mediated apoptosis of rat Leydig cells in vivo. / C.Y. Cheng, Q. Wang, F.F. Wang et al. // Stress. 2012. Vol. 15, № 1. P. 74-78.
8. Gao, H.B. Glucocorticoid induces apoptosis in rat Leydig cells. / H.B. Gao, M.H. Tong, Y.Q. Hu et al. // Endocrinology. 2002. Vol. 143, № 1. P. 130-138.
9. Gong, Y.G. Deprivation of testicular innervation induces apoptosis of Leydig cells via caspase-8-dependent signaling: a novel survival pathway revealed / Y.G. Gong, Y.Q. Wang, M. Gu et al. // Biochemistry and Biophysics Researches and Communications. 2009. Vol. 382, № 1. P. 165-170.
10. Gupta, R.S., Khan T.I., Agrawal D. The toxic effects of sodium fluoride on the reproductive system of male rats / R.S. Gupta, T.I. Khan, D. Agrawal et al. // Toxicology and Industrial Health. 2007. Vol. 23, № 9. P. 507-513.
11. Kim, K.H. Nicotine induces apoptosis in TM3 mouse Leydig cells / K.H. Kim, K.J. Joo, H.J. Park et al. // Fertility and Sterility. 2005. Vol. 83, № 4. P. 1093-1099.
12. Korac, A. Leptin immunoexpression and innervation in rat interscapular brown adipose tissue of cold-acclimated rats: the effects of L-arginine and L-NAME / A. Korac, B. Buzadzic, V. Petrovic et al. // Folia Histochemistry and Cytobiology. 2008. Vol. 46, № 4. P. 103-109.
13. Lee, N.P. Nitric oxide and cyclic nucleotides: their roles in junction dynamics and spermatogenesis / N.P. Lee, C.Y. Cheng // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2008. Vol. 1, № 1. P. 25-32.
14. Martinez, V.G. Galectin-1, a cell adhesion modulator, induces apoptosis of rat Leydig cells in vitro / V.G. Martinez, E.H. Pellizzari, E.S. Diaz et al. // Glycobiology. 2004. Vol. 14, № 2. P. 127-137.
15. Murugesan, P. Studies of the protective role of vitamin C and E against polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254)-induced oxidative damage in Leydig cells / P. Murugesan, T. Muthusami, K. Balasubramanian et al. // Free Radical Research. 2005. Vol. 39, № 11. P. 1259-1272.
16. O'Shaughnessy, P.J. Leydig cell regeneration and expression of cell signaling molecules in the germ cell-free testis / P.J. O'Shaughnessy, I.D. Morris, P.J. Baker // Reproduction. 2008. Vol. 135, № 6. P. 851-858.
17. Petrovic, V. Antioxidative defence alterations in skeletal muscle during prolonged acclimation to cold: role of L-arginine/NO-producing pathway / V. Petrovic, B. Buzadzic, A. Korac et al. // The Journal of Experimental Biology. 2008. Vol. 211. P. 114-120.
18. Rezvanfar, M.A. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress / M.A. Rezvanfar, R.A. Sadrkhanlou, A. Ahmadi et al. // Human & Experimental Toxicology. 2008. Vol. 27, № 12. P. 901-910.
19. Vasilijevic, A. The effects of cold acclimation and nitric oxide on antioxidative enzymes in rat pancreas / A. Vasilijevic, B. Buzadzic, A. Korac et al. // Comp Biochem Physiol & Toxicol Pharmacol. 2007. Vol. 145, № 4. P. 641-647.