

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-4-26-36>

Инактивация тучных клеток нивелирует негативные последствия влияния высокой температуры на сперматогенез

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Ю.С. Храмцова^{1,2}, А. Садек^{2,3}, О.В. Измestyева², Б.Г. Юшков^{1,2,3}

¹ Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук; Екатеринбург, Россия

² Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина; Екатеринбург, Россия

³ Центр специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий»; Екатеринбург, Россия

Контакт: Храмцова Юлия Сергеевна, hramtsova15@mail.ru

Аннотация:

Введение. Одной из причин снижения мужской фертильности является чрезмерное перегревание яичек в результате различных причин. У пациентов с некоторыми формами мужского бесплодия наблюдается увеличение количества тучных клеток в семенниках, что указывает на связь этих клеток с данной проблемой и возможность коррекции нарушений сперматогенеза модуляцией состояния последних.

Цель. Исследовать влияние инактивации тучных клеток препаратом кетотифен на сперматозоиды крыс на разных стадиях созревания при действии высокой температуры.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 5 группах крыс самцов линии Wistar: 1) интактная, 2 и 3) контрольная и опытная группы многократного воздействия высокой температуры (48 суток, 43±1°C ежедневно 30 мин), 4 и 5) контрольная и опытная группы многократного воздействия высокой температуры + кетотифен. Оценивали спермограмму и сперматозоиды придатка, уровень тестостерона. Морфологические исследования сперматозоидов проводили с помощью ImageJ 1.53t. Данные статистически проанализированы с использованием GraphPad Prism 9.5.1.

Результаты. У интактных животных наблюдаются различия морфофункциональных параметров эпидидимальных сперматозоидов и сперматозоидов нативного якулята. У особей, подвергшихся многократному воздействию высокой температуры, отмечается значительное снижение концентрации, подвижности и агрегации сперматозоидов на всех стадиях созревания, увеличивается процент дефектных клеток. Инактивация тучных клеток кетотифеном сохраняет параметры нативного якулята и сперматозоидов придатка на уровне контроля, что свидетельствует о благоприятном влиянии применения препарата на нарушенный сперматогенез.

Заключение. Инактивация тучных клеток препаратом кетотифен нивелирует негативные последствия влияния высокой температуры на сперматогенез.

Ключевые слова: сперматогенез; сперматозоиды; высокая температура; тестостерон; семенник; придаток семенника; кетотифен.

Для цитирования: Храмцова Ю.С., Садек А., Измestyева О.В., Юшков Б.Г. Инактивация тучных клеток нивелирует негативные последствия влияния высокой температуры на сперматогенез. Экспериментальная и клиническая урология 2025;18(4):26-36; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-4-26-36>

<https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-4-26-36>

Inactivation of mast cells eliminates the negative effects of high temperature on spermatogenesis

EXPERIMENTAL STUDY

Yu.S. Khramtsova^{1,2}, A. Sadek^{2,3}, O.V. Izmayeva², B.G. Yushkov^{1,2,3}

¹ Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Yekaterinburg, Russia

² Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin; Yekaterinburg, Russia

³ Center for Specialized Medical Care «Institute of Medical Cell Technologies», Yekaterinburg, Russia

Contacts: Yulia S. Khramtsova, hramtsova15@mail.ru

Summary:

Introduction. Excessive overheating of the testicles, caused by various factors including pathologies, is one of the reasons for the decline in male fertility. In patients with some forms of male infertility an increase in testicular mast cells has been observed, suggesting a link between these cells and fertility issues. This raises the possibility of correcting spermatogenesis disorders by modulating mast cells activity.

Objective. This study aims to investigate the effect of mast cell inactivation using mast cells blocker ketotifen on rat sperm at different maturation stages under high-temperature conditions.

Materials and methods. The experiment involved 5 groups of male Wistar rats: 1) intact group, 2 and 3) control and experimental groups subjected to repeated high temperature exposure (48 days, 43±1°C for 30 min daily), 4 and 5) control and experimental groups exposed to high temperatures

while receiving ketotifen. Ejaculate and epididymal sperm were evaluated using spermogram analysis, and testosterone levels were measured, and testosterone level measurements were performed. Morphological analysis of spermatozoa was conducted using ImageJ 1.53t. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 9.5.1.

Results. Intact animals show differences in the morphological and physiological parameters of epididymal and ejaculate sperm. Repeated exposure to high temperature resulted in a significant decrease in sperm concentration, motility, and agglutination at all stages of maturation, while the percentage of defective cells increased. Mast cell inactivation maintains ejaculate and epididymal sperm parameters at control levels, indicating a beneficial effect of the drug on impaired spermatogenesis.

Conclusion. Inactivating mast cells with mast cells blocker ketotifen effectively neutralizes the adverse effects of high temperatures on spermatogenesis.

Key words: spermatogenesis; spermatozoa; high temperature; testosterone; testis; epididymis; ketotifen.

For citation: Khramtsova Yu.S., Sadek A., Izmestyeva O.V., Yushkov B.G. Inactivation of mast cells eliminates the negative effects of high temperature on spermatogenesis. *Experimental and Clinical Urology* 2025;18(4):26-36; <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2025-18-4-26-36>

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные исследования показывают, что примерно половина всех случаев бесплодия связана с женским фактором, от 20 до 30% – с мужским и до 30% относятся к смешанным [1]. Соответственно, мужское бесплодие на сегодняшний день является серьезной проблемой, присутствующей у 50% бесплодных пар [2]. Мужской репродуктивный потенциал снижается ввиду различных факторов [3, 4], среди которых можно выделить повышение температуры мошонки, как одну из наиболее распространенных причин, вызывающих снижение фертильности у мужчин. Это в значительной степени связано с меняющимся образом жизни [1, 5].

Гипертермии способствуют производственные факторы, гиподинамия, ожирение, ношение тесного белья, а также патологические изменения в яичках (например, варикоцеле) и другое. Точное понимание механизма теплового воздействия на сперматогенез и его микроокружение, качество эякулята, а также поиск новых мишеней для возможной коррекции негативных последствий будут способствовать снижению его значения в общей доле мужского бесплодия, т. к. воздействие высоких температур является обратимым и предотвратимым фактором [6, 7].

Патологии различных органов и систем могут быть обусловлены как поражением его специфических клеток, так и их микроокружением. Тучные клетки – важные компоненты микроокружения мужских репродуктивных органов, участвующие в регуляции сперматогенеза. В последнее десятилетие появляются работы, свидетельствующие о повышенном количестве тучных клеток у мужчин с бесплодием [8, 9], а блокаторы этих клеток приводят к некоторым положительным эффектам при различных патологических состояниях [10, 11]. Это дает основание полагать, что инактивация тучных клеток может приводить к снижению негативных последствий влияния высокой температуры на сперматогенез.

В связи с этим целью настоящей работы – исследовать влияние инактивации тучных клеток препаратом кетотифен на сперматозоиды крыс на разных стадиях созревания при воздействии высокой температуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве экспериментальных животных использовали 45 половозрелых самцов крыс линии Wistar массой $392,0 \pm 10,8$ г возрастом 4 месяца. Во время эксперимента животных содержали в обычных условиях вивария при двенадцатичасовом световом дне, без специальной диеты и без ограничения питьевой воды.

Содержание, питание, уход и выведение животных из эксперимента осуществляли в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.08.1987 г.) и Федерального Закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. Исследование одобрено решением этического комитета ИИФ УрО РАН (№10-23 от 09.10.2023).

Все животные были разделены на 5 групп:

- 1) группа интактных животных (ИНТ), $n=15$;
- 2) контрольная группа многократного теплового воздействия (МТ (К)), $n=10$;
- 3) опытная группа многократного теплового воздействия (МТ (О)), $n=10$;
- 4) контрольная группа, получавшая препарат кетотифен (МТК (К)), $n=5$;
- 5) опытная группа многократного теплового воздействия, получавшая препарат кетотифен (МТК (О)), $n=5$.

Перед началом исследования у каждой особи методом окситоциновой стимуляции был произведен забор нативного эякулята и исследованы его характеристики с целью отбора в эксперимент только животных с нормальным сперматогенезом.

Многократное воздействие высокой температуры проводили [5] путем размещения животных в специально оборудованный термостат при температуре $43 \pm 1^\circ\text{C}$ [12, 13] с сохранением доступа к воде и воздуху ежедневно на 30 мин в течение 48 суток (срок соответствует длительности 1 полного цикла сперматогенеза у крыс). Контрольная группа животных подвергалась тем же манипуляциям, но при выключенном термостате. На 24 сутки эксперимента было проведено промежуточное исследование нативного эякулята у животных обеих групп. ■

В 4 и 5 экспериментальных группах за 14 дней до воздействия высокой температуры и в течение 48 суток в ходе эксперимента животным ежедневно вводили препарат кетотифен 1 мг/кг внутривенно через зонд.

У всех групп животных были взяты нативный эякулят и эпидидимальные сперматозоиды из головки придатка яичка для анализа спермограммы и оценки морфологических параметров сперматозоидов, а также кровь из бедренной вены для определения концентрации тестостерона в крови.

Забор нативного эякулята. Нативный эякулят получали методом окситоциновой стимуляции [5,6]. Крыс наркотизировали эфиром, затем инсулиновым шприцом внутривенно вводили 0,2 мл раствора окситоцина концентрацией 5 МЕ/мл (Московский эндокринный завод, Россия). С полового члена крысы аккуратно отодвигали препуций и придерживали его до наступления эякуляции. Полученный эякулят с помощью дозатора собирали на предметное стекло, замеряли его объем, разводили в 2 раза физиологическим раствором комнатной температуры, после проводили оценку параметров спермограммы.

Забор эпидидимальных сперматозоидов. Для забора эпидидимальных сперматозоидов [14] у самцов крыс после их эвтаназии передозировкой диэтиловым эфиром оперативным методом выделяли придатки семенников. Для извлечения семенной жидкости производили продольный разрез, отрезая головную часть придатка одинакового размера у всех крыс, затем ее помещали в пробирку и добавляли 2 мл физиологического раствора температурой 37°C. Пробирку тщательно встряхивали и помещали в термостат при температуре 37°C на 10 мин. Затем пробирку повторно встряхивали и проводили анализ сперматозоидов.

Подсчет спермограммы. Микроскопическое исследование сперматозоидов в камере Горяева проводили при помощи светового микроскопа Leica DM2500 (Leica, Германия) при увеличении 40х15 по следующим показателям:

а) **Концентрация сперматозоидов** (млн/мл). В 1 мл эякулята проводили подсчет сперматозоидов в 5 больших квадратах, расположенных по диагонали слева сверху и направо вниз. Концентрацию рассчитывали по формуле:

$$C = (A \times 250 \times 2 \times 1000) / 5, \text{ где}$$

C – концентрация сперматозоидов;

A – количество посчитанных сперматозоидов.

б) **Содержание подвижных сперматозоидов (%)**. В случайно выбранном поле зрения было подсчитано общее количество клеток и количество подвижных клеток. Расчет процентного содержания подвижных клеток вели по формуле:

$$A = (B \times 100) / C, \text{ где}$$

A – процентное содержание подвижных сперматозоидов;

B – количество подвижных сперматозоидов;

C – общее количество сперматозоидов.

в) **Агглютинация сперматозоидов.** Параметр оценивали по всей камере, для оценки использовали следующую классификацию:

(+ / 1 балл) – до 10–15% сперматозоидов склеены в небольшие агглютинаты;

(++ / 2 балла) – до 50% сперматозоидов склеены как в небольшие, так и в крупные агглютинаты;

(+++ / 3 балла) – массовая агглютинация, почти все сперматозоиды склеены в большие конгломераты.

г) **Наличие лецитиновых зерен.** Параметр оценивали по всей камере, для оценки использовали следующую классификацию:

1 балл – малое количество;

2 балла – среднее количество;

3 балла – большое количество.

Для удобной регистрации полученных данных был разработан протокол исследования.

Оценка морфологических параметров сперматозоидов. Для морфологической оценки из эякулята и семенной жидкости эпидидимиса были приготовлены мазки. С помощью светового микроскопа Leica DM2500 (Leica, Германия), оснащенного камерой Basler acA1920-40um (Basler, Германия), проводили подсчет клеток для выявления процента сперматозоидов без дефектов. При этом визуально оценивали клетки на наличие дефектов головки, шейки и хвоста. Расчет вели на 100 клеток у каждой особи (всего проанализировали 3000 сперматозоидов) (рис. 1).

После проводили фотофиксацию сперматозоидов с помощью камеры и программы MultiMedia Catalog 2008–2020. На полученных фото в программе FIJI ImageJ 1.54f после соответствующей калибровки пикселей в микрометры проводили измерения следующих морфометрических параметров сперматозоидов: длина головки, мкм; ширина головки, мкм; площадь головки, мкм²; периметр головки, мкм; расстояние между апикальной частью головки и ее основанием, мкм; угол наклона головки, градусы; ширина основания хвоста, мкм; длина хвоста, мкм; соотношение хвоста к головке; шероховатость; линейность, %.

Шероховатость рассчитывали с использованием формулы:

$$R = 4\pi A / P^2,$$

где R – шероховатость, A – площадь головки, мкм², P – периметр головки, мкм.

Линейность рассчитывали с использованием формулы:

$$L = C / H \times 100,$$

где L – линейность, C – расстояние между апикальной частью головки и ее основанием, мкм, H – длина головки, мкм.

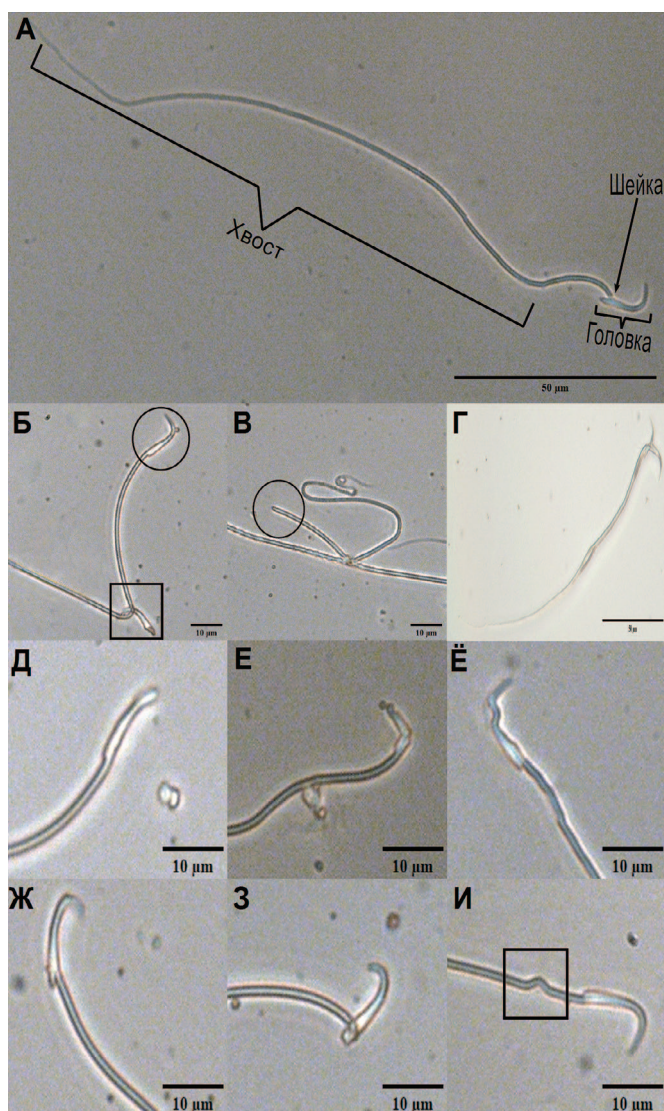


Рис. 1. Примеры дефектов сперматозоидов крыс. А – нормальный сперматозоид, Б – головка без хвоста и большой угол наклона головки, В – хвост без головки, Г – сперматозоид с двумя головками и дополнительными дефектами, Д – уплощенная головка, Е – булавочная головка, Ё – деформация головки, Ж – изогнутый угол наклона головки, З – патология шейки, И – изогнутый хвост. Без окрашивания, ув. х 400

Fig. 1. Examples of defects in rat spermatozoa. А – normal spermatozoon, Б – head without tail and large head tilt angle, В – tail without head, Г – two-headed spermatozoon with additional defects, Д – flattened head, Е – pinhead, Ё – deformation of head, Ж – curved head tilt angle, З – neck pathology, И – curved tail. Unstained, magnification x 400

У каждой особи перечисленные параметры измеряли у 50 сперматозоидов. Всего было проанализировано 1650 сперматозоидов.

Концентрация тестостерона. Исследование концентрации тестостерона в сыворотке крови проводили с использованием автоматического иммуноферментного анализатора Lazurite (Dynex Technologies, США) и набора реагентов для количественного иммуноферментного определения общего тестостерона в сыворотке – Тестостерон-Имаксиз (IMAXIZ) (Vital Development, Россия).

Статистические методы. Все полученные данные были обработаны в программе GraphPad Prism 9.5.1. Показатели нативного эякулята и эпидидимисов

при сравнении 2 экспериментальных групп проанализированы с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, при сравнении 3 и более групп использовали непараметрический тест для независимых переменных Краскела-Уоллеса, а для точного определения отличий между каждой независимой группой проводили тест Данна для попарных сравнений с последующей коррекцией с помощью двухэтапного пошагового метода Бенджамини, Кригера и Екутиэли. Морфометрические параметры сперматозоидов при сравнении 2 экспериментальных групп анализировали с помощью параметрического t-критерия Уэлча, при сравнении 3 и более групп использовали однофакторный дисперсионный анализ (One-Way ANOVA), для определения отличий между группами применяли апостериорный критерий Геймсу-Хоуэллу. Показатели нативного эякулята крыс до и после воздействия температуры сравнивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа Фридмана по рангам, а для попарных сравнений выборок применили критерий Вилкоксона для связанных повторных наблюдений. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены, как $M \pm SE$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании интактных крыс показаны различия эпидидимальных сперматозоидов и сперматозоидов нативного эякулята. Так, концентрация сперматозоидов в нативном эякуляте ниже, чем их концентрация в придатке. Снижаются также подвижность сперматозоидов и их способность к агглютинации. Наблюдается ряд различий в морфометрических параметрах. Нативные сперматозоиды имеют увеличенную головку, длину хвоста и шероховатость по сравнению с эпидидимальными сперматозоидами (табл. 1).

Многочисленное воздействие высокой температуры приводит к постепенному снижению всех параметров нативного эякулята в течение всего срока эксперимента: концентрации и процента подвижных сперматозоидов, агглютинации, количества лецитиновых зерен. При этом в группе контроля параметры не изменяются, что свидетельствует об изменении сперматозоидов именно под влиянием высокой температуры (табл. 2).

Снижаются и все параметры эпидидимальных сперматозоидов – концентрация, подвижность, агглютинация (агглютинация сперматозоидов у человека считается отрицательным показателем фертильности, но для крыс она играет важную роль в процессе оплодотворения), что свидетельствует о нарушении их созревания в придатках. Это подтверждается и увеличением количества клеток, имеющих самые разнообразные морфологические дефекты головки, ■

Таблица 1. Параметры сперматозоидов крыс интактной группы на разной стадии созревания
Table 1. Sperm parameters of intact rats at different stages of maturation

Параметры Parameters	Исследуемые образцы/Studied samples		Уровень значимости, <i>p</i> Significance, <i>p</i> -value
	Придаток Epididymis	Нативный эякулят Ejaculate	
Масса придатка, г Epididymis mass, g	0,85 ± 0,03	–	–
Объем эякулята, мкл Ejaculate volume, µl	–	16,00 ± 2,92	–
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, 10 ⁶ /ml	145,20 ± 20,90	56,53 ± 7,96 ^a	0,001
Процент подвижных сперматозоидов, % Sperm motility, %	58,20 ± 5,45	38,15 ± 2,83 ^a	0,008
Агглютинация, балл Agglutination, points	2,60 ± 0,25	1,80 ± 0,14 ^a	0,033
Содержание сперматозоидов без дефектов, % Sperm without defects, %	19,60 ± 1,21	18,3 ± 0,15	0,548
Лецитиновые зерна, балл Lecithin granules, points	–	1,86 ± 0,09	–
Морфометрические параметры сперматозоидов / Sperm morphometric parameters			
Длина головки, мкм Head length, µm	15,29 ± 0,04	16,28 ± 0,04 ^б	< 0,001
Ширина головки, мкм Head width, µm	1,11 ± 0,02	1,44 ± 0,01 ^б	< 0,001
Площадь головки, мкм ² Head area, µm ²	15,88 ± 0,17	17,41 ± 0,13 ^б	< 0,001
Периметр головки, мкм Head perimeter, µm	32,73 ± 0,09	33,88 ± 0,07 ^б	< 0,001
Расстояние между верхней частью головки и ее основанием, мкм Chord, µm	10,39 ± 0,09	11,25 ± 0,06 ^б	< 0,001
Угол наклона головки, градусы Head angle, degrees	83,56 ± 0,48	77,39 ± 0,46 ^б	< 0,001
Ширина основания хвоста, мкм Tail base width (mid-piece width), µm	0,87 ± 0,01	0,86 ± 0,01	0,209
Длина хвоста, мкм Tail length, µm	156,66 ± 0,66	160,52 ± 0,33 ^б	< 0,001
Рассчитанные параметры / Calculated parameters			
Соотношение хвоста к головке Tail/Head ratio	10,26 ± 0,05	9,88 ± 0,03 ^б	< 0,001
Шероховатость Roughness	0,186 ± 0,002	0,190 ± 0,001 ^б	0,034
Линейность, % Linearity, %	68,07 ± 0,63	69,25 ± 0,40	0,115

^a – отличия достоверны от соответствующего показателя придатка по критерию Манна-Уитни (*p* < 0,05)

^б – отличия достоверны от соответствующего показателя придатка по t-критерию Уэлча (*p* < 0,05)

^a – differences are significant compared to the corresponding parameter of epididymis according to the Mann-Whitney test (*p* < 0,05)

^б – differences are significant compared to the corresponding parameter of epididymis according to Welch's t-test (*p* < 0,05)

Таблица 2. Параметры нативного эякулята крыс при многократном воздействии высокой температуры на разные сроки эксперимента
Table 2. Ejaculate parameters after repeated exposure to high temperature

Параметры Parameters	Результаты (M ± SE) / Results (M ± SE)					
	MT(K) / RT(C)			MT(O) RT(X)		
	До эксперимента (0 сутки) Before the experiment	24 сутки эксперимента After 24 days of the experiment	После эксперимента (48 сутки) At the end of the experiment	До эксперимента (0 сутки) Before the experiment	24 сутки эксперимента After 24 days of the experiment	После эксперимента (48 сутки) At the end of the experiment
Объем, мкл Volume, µl	17,50 ± 3,00	15,00 ± 2,36	19,00 ± 3,32	18,50 ± 2,80	17,00 ± 2,71	17,30 ± 3,34
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, 10 ⁶ /ml	42,40 ± 12,82	46,20 ± 3,33	74,60 ± 9,98 ^a	103,30 ± 25,29	28,60 ± 5,94	11,40 ± 5,13 ^{a, б}
Процент подвижных сперматозоидов, % Sperm motility, %	36,60 ± 4,41	42,40 ± 0,88	43,00 ± 4,23	33,40 ± 2,42	18,00 ± 5,78	7,10 ± 4,01 ^{a, б}
Агглютинация, балл Agglutination, points	1,50 ± 0,22	1,40 ± 0,16	2,20 ± 0,20	2,00 ± 0,21	1,00 ± 0,30	0,50 ± 0,27 ^{a, б}
Лецитиновые зерна, балл Lecithin granules, points	2,30 ± 0,15	2,20 ± 0,13	2,30 ± 0,15	2,90 ± 0,10	1,40 ± 0,34	0,60 ± 0,22 ^{a, б}

^a – отличия достоверны от соответствующего показателя контрольной группы по критерию Манна-Уитни (*p* < 0,05);

^б – отличия достоверны от соответствующего показателя группы 0 сут по двухфакторному дисперсионному анализу Фридмана по рангам с апостериорным множественным сравнением по критерию Вилкоксона (*p* < 0,05)

^a – differences are significant compared to the corresponding parameter of the control group according to the Mann-Whitney test (*p* < 0,05);

^б – differences are significant compared to the corresponding parameter of the 0 day group, based on to the two-way Friedman analysis of variance by ranks with post-hoc comparisons using the Wilcoxon test (*p* < 0,05)

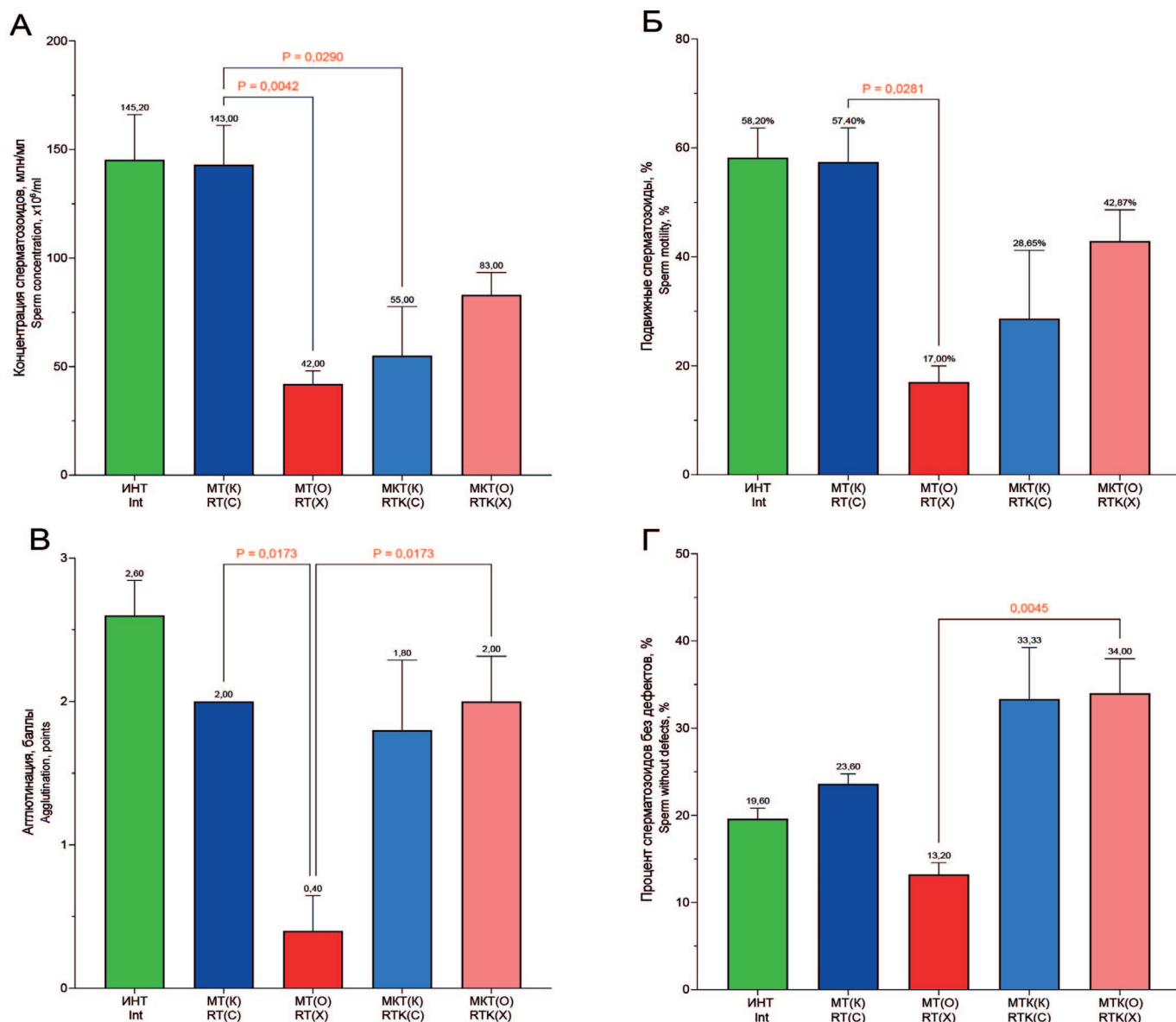


Рис. 2. Параметры эпидидимальных сперматозоидов крыс при многократном воздействии высокой температуры на фоне приема Кетотифена. Примечание: различия достоверны по критерию Краскела-Уоллеса с последующим анализом по критерию Данна и коррекцией по методу Бенджамини, Кригера и Екутиэли ($p < 0,05$)
Fig. 2. Epididymal sperm parameters of rats after repeated exposure to high temperature, with and without ketotifen intake. Note: differences are significant according to the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn post-hoc test, with correction using the Benjamini, Krieger and Yekutieli method ($p < 0,05$)

шейки и хвоста (рис. 2). Многократное воздействие высокой температуры приводит к значительным изменениям морфометрических параметров сперматозоидов по сравнению с контрольной группой. Так, под действием температуры увеличиваются длина, площадь, периметр головки, расстояние между верхней частью головки и ее основанием, ширина, основание и длина хвоста по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 3).

Все описанные выше негативные изменения сперматозоидов на разных стадиях созревания под влиянием высокой температуры происходят на фоне сниженного уровня тестостерона в крови (рис. 3).

На фоне инактивации тучных клеток препаратом кетотифен отмечается сохранение практически всех параметров спермограммы на уровне контрольной группы. При одновременном действии высокой температуры и препарата не отмечается снижение концентрации

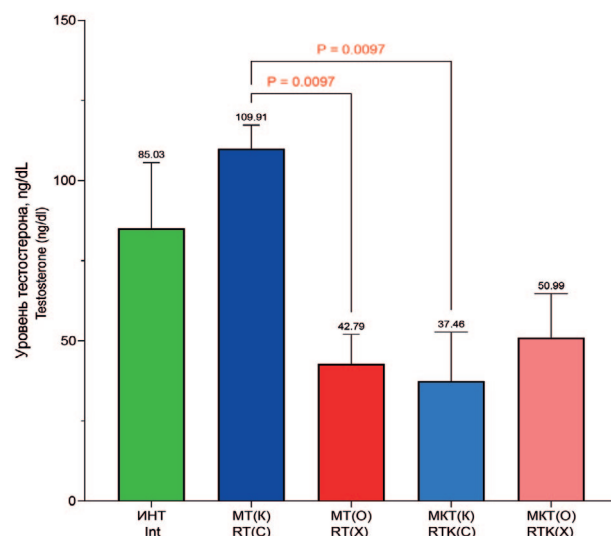


Рис. 3. Концентрация общего тестостерона в сыворотке крови крыс, нг / дл. Примечание: различия достоверны по критерию Краскела-Уоллеса с последующим анализом по критерию Данна и коррекцией по методу Бенджамини, Кригера и Екутиэли ($p < 0,05$)
Fig. 3. Total testosterone concentration in rat blood serum, ng/dl. Note: differences are significant according to the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn post-hoc test, with correction using the Benjamini, Krieger and Yekutieli method ($p < 0,05$)

Таблица 3. Морфометрические параметры эпидидимальных сперматозоидов крыс при многократном воздействии высокой температуры на фоне приема Кетотифена

Table 3. Morphometric parameters of epididymal sperm after repeated exposure to high temperature, with and without ketotifen intake

Параметры Parameters	Экспериментальные группы Experimental groups					Уровень значимости, <i>p</i> Significance, <i>p</i> -value
	ИНТ Int	МТ(К) / RT(C)	МТ(О) RT(X)	МТК(К) RTK(C)	МТК(О) RTK(X)	
Длина головки, мкм Head length, μm	15,29 \pm 0,04	14,39 \pm 0,07	14,95 \pm 0,09 ^a	15,74 \pm 0,05 ^a	15,66 \pm 0,04 ^b	МТ(К) – МТ(О); <0,001 МТК(К) – МТК(О); 0,61 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Ширина головки, мкм Head width, μm	1,11 \pm 0,02	1,07 \pm 0,02	1,08 \pm 0,02	1,57 \pm 0,01 ^a	1,56 \pm 0,01 ^b	МТ(К) – МТ(О); 0,98 МТК(К) – МТК(О); 0,96 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Площадь головки, мкм ² Head area, μm^2	15,88 \pm 0,17	15,94 \pm 0,17	18,37 \pm 0,22 ^a	16,38 \pm 0,10	17,29 \pm 0,10 ^{6, b}	МТ(К) – МТ(О); <0,001 МТК(К) – МТК(О); <0,001 МТ(К) – МТК(К); 0,12 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Периметр головки, мкм Head perimeter, μm	32,73 \pm 0,08	30,76 \pm 0,16	32,53 \pm 0,09 ^a	33,12 \pm 0,10 ^a	33,09 \pm 0,08 ^b	МТ(К) – МТ(О); <0,001 МТК(К) – МТК(О); 1,00 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); 0,03
Расстояние между верхней частью головки и ее основанием, мкм Chord, μm	10,39 \pm 0,09	10,43 \pm 0,08	11,07 \pm 0,08 ^a	11,99 \pm 0,04 ^a	11,92 \pm 0,04 ^b	МТ(К) – МТ(О); <0,001 МТК(К) – МТК(О); 0,60 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Угол наклона головки, градусы Head angle, degrees	83,56 \pm 0,48	85,58 \pm 0,60	86,30 \pm 0,78	79,50 \pm 0,61 ^a	82,21 \pm 0,53 ^{6, b}	МТ(К) – МТ(О); 0,88 МТК(К) – МТК(О); 0,005 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Ширина основания хвоста, мкм Tail base width (mid-piece width), μm	0,87 \pm 0,01	0,95 \pm 0,01	1,02 \pm 0,05 ^a	0,78 \pm 0,01 ^a	0,80 \pm 0,004 ^b	МТ(К) – МТ(О); <0,001 МТК(К) – МТК(О); 0,32 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Длина хвоста, мкм Tail length, μm	156,66 \pm 0,66	149,81 \pm 0,99	158,69 \pm 0,71 ^a	161,0 \pm 0,26 ^a	160,3 \pm 0,10 ⁶	МТ(К) – МТ(О); <0,001 МТК(К) – МТК(О); 0,07 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); 0,13
Рассчитанные параметры / Calculated parameters						
Соотношение хвоста к головке Tail/Head ratio	10,26 \pm 0,05	10,48 \pm 0,09	10,71 \pm 0,08	10,25 \pm 0,04	10,26 \pm 0,03 ^b	МТ(К) – МТ(О); 0,21 МТК(К) – МТК(О); 1,00 МТ(К) – МТК(К); 0,07 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Шероховатость Roughness	0,19 \pm 0,002	0,21 \pm 0,003	0,22 \pm 0,002	0,19 \pm 0,001 ^a	0,20 \pm 0,001 ^{6, b}	МТ(К) – МТ(О); 0,40 МТК(К) – МТК(О); <0,001 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); <0,001
Линейность, % Linearity, %	68,07 \pm 0,63	72,76 \pm 0,56	74,43 \pm 0,53	76,26 \pm 0,30 ^a	76,24 \pm 0,25 ^b	МТ(К) – МТ(О); 0,13 МТК(К) – МТК(О); 1,00 МТ(К) – МТК(К); <0,001 МТ(О) – МТК(О); 0,01

^a – отличия достоверны от соответствующего показателя контрольной группы по однофакторному дисперсионному анализу (One-Way ANOVA) с апостериорным множественным сравнением по критерию Геймсу-Хоуэллу ($p < 0,05$)

⁶ – отличия достоверны от соответствующего показателя контрольной группы с приемом кетотифена по однофакторному дисперсионному анализу (One-Way ANOVA) с апостериорным множественным сравнением по критерию Геймсу-Хоуэллу ($p < 0,05$)

^b – отличия достоверны от соответствующего показателя опытной группы по однофакторному дисперсионному анализу (One-Way ANOVA) с апостериорным множественным сравнением по критерию Геймсу-Хоуэллу ($p < 0,05$)

^a – differences are significant compared to the corresponding parameter of the control group according to one-way ANOVA with post-hoc multiple comparisons using the Games-Howell criterion ($p < 0.05$)

⁶ – differences are significant compared to the corresponding parameter of the control group receiving Ketotifen according to one-way ANOVA with post-hoc multiple comparisons using the Games-Howell criterion ($p < 0.05$)

^b – differences are significant compared to the corresponding parameter of the experimental group according to one-way ANOVA with post-hoc multiple comparisons using the Games-Howell criterion ($p < 0.05$)

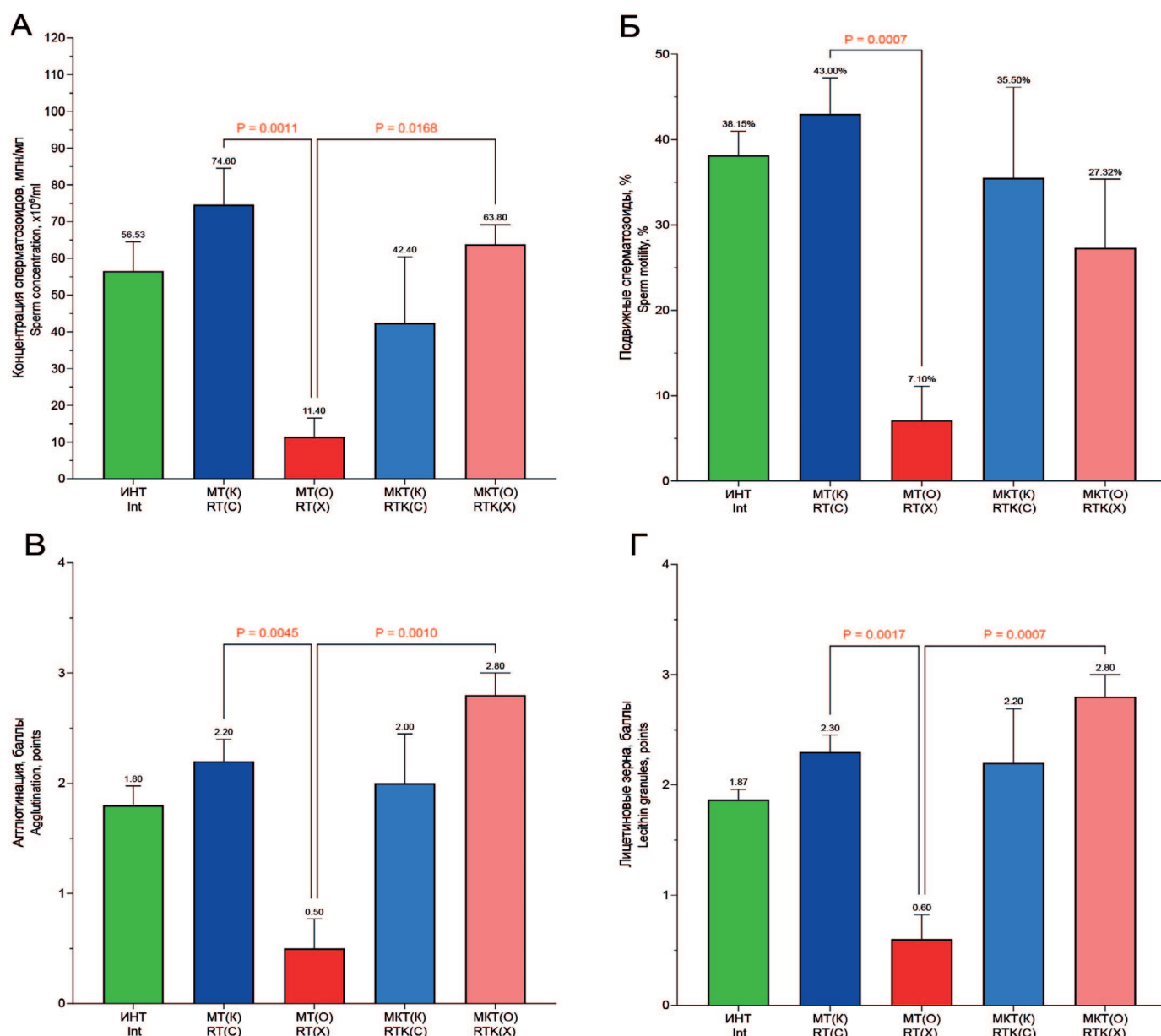


Рис. 4. Параметры нативного эякулята крыс при многократном воздействии высокой температуры на фоне приема Кетотифена. Примечание: различия достоверны по критерию Краскела-Уоллеса с последующим анализом по критерию Данна и коррекцией по методу Бенджамини, Кригера и Екутиэли ($p < 0,05$)
Fig. 4. Ejaculate parameters of rats after repeated exposure to high temperature, with and without ketotifen intake. Note: differences are significant according to the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn post-hoc test, with correction using the Benjamini, Krieger and Yekutieli method ($p < 0.05$)

сперматозоидов, их агглютинации, количества лецитиновых зерен. Процент подвижных сперматозоидов достоверно не изменяется, но отмечается положительная тенденция на его сохранение (рис. 4Б).

Применение препарата положительно влияет и на параметры сперматозоидов из придатка. Так, по сравнению с опытной группой не происходит снижения концентрации и агглютинации сперматозоидов. Клетки сохраняют свою подвижность (рис. 2Б). Отмечаются изменения морфометрических параметров эпидидимальных сперматозоидов: уменьшается площадь головки, угол ее наклона, ширина хвоста, соотношение хвоста к головке и шероховатость по сравнению с опытной группы без приема препарата. При этом длина хвоста остается без изменений.

Применение препарата без теплового воздействия

также вызывает ряд изменений в сперматозоидах. Под воздействием препарата кетотифен наблюдается увеличение длины, ширины, периметра головки, расстояния между верхней частью головки и ее основанием, длины хвоста и линейности по сравнению с контрольной группой, не получавшей препарат. Также отмечается уменьшение угла наклона, ширины основания хвоста и шероховатости (табл. 3). Концентрация тестостерона в крови снижается в группе животных, принимавших препарат (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Половое созревание самцов крыс наступает через 40–60 суток после рождения [15, 16]. В эксперименте использованы крысы возрастом 4 месяца с полностью

сформированной репродуктивной системой. Образование сперматозоидов у крыс, как и у большинства млекопитающих, происходит в извитых семенных канальцах яичка, расположенного в мошонке. Сформированные сперматозоиды крыс имеют четкое разделение на части: головка (в форме крючка), шейка и хвост (рис. 1А), выделяются в просвет семенных канальцев и транспортируются до придатка яичка для дальнейшего созревания.

Показано, что концентрация эпидидимальных сперматозоидов выше концентрации сперматозоидов в нативном эякуляте. Это объясняется аккумуляцией сперматозоидов в придатке, поступающих из семенных канальцев. Далее эти клетки смешиваются с секретом добавочных желез, что и приводит к уменьшению их концентрации. В нативном эякуляте снижаются также подвижность сперматозоидов и их способность к агглютинации, что свидетельствует о функциональных изменениях сперматозоидов по мере их продвижения от головки придатка до хвоста.

Изменяются и все морфологические параметры сперматозоидов, в частности увеличивается площадь головки у сперматозоидов нативного эякулята. Это связано с процессом созревания сперматозоидов у млекопитающих, где клетки, хранящиеся в хвосте придатка яичка, имеют более развитые акросомы, чем сперматозоиды из головки придатка [17]. Модификации длины хвоста, шейки и угла наклона головки связаны с улучшением подвижности сперматозоидов. Это подтверждает и то, что созревание сперматозоидов происходит на протяжении всего пути по семявыносящим протокам и за их пределами (в половых путях самки).

Таким образом, эпидидимальные сперматозоиды из головки придатка крыс отличаются от сперматозоидов нативного эякулята по ряду морфофункциональных характеристик. Это подтверждают и подобные исследования, проведенные на других видах животных [18, 19]. Несмотря на то, что эпидидимальные сперматозоиды морфологически схожи со сперматозоидами эякулята и обладают большей подвижностью, они не способны к самостоятельному преодолению биологических и физиологических факторов в половых путях самки с последующим оплодотворением яйцеклетки, хоть и способны к оплодотворению *in vitro* [20].

Морфометрические показатели сперматозоидов интактных крыс неоднократно определяли разные группы исследователей. Например, группа ученых G. van der Horst с соавторами с помощью компьютерного анализа морфологии сперматозоидов (CASMA) крыс измерила ряд параметров и предложила их в качестве референтных значений [21]. Однако некоторые параметры морфометрического анализа сперматозоидов с использованием ImageJ, полученные в ходе дан-

ного эксперимента, отличаются от их результатов. Скорее всего, это связано с различными методами оценки, а также с возрастом, количеством животных в экспериментах и достаточно большим диапазоном нормальных значений морфометрических показателей сперматозоидов, что необходимо учитывать при проведении дальнейших исследований.

Действие высокой температуры сроком равным полному циклу сперматогенеза негативно влияет на сперматозоиды разных стадий созревания. Так, уменьшение концентрации сперматозоидов в нативном эякуляте происходит в результате структурных и функциональных изменений в клетках не только на стадии размножения сперматогоний, но и на других стадиях сперматогенеза. Это подтверждают авторы статьи, которые показали, что наиболее уязвимыми к тепловому повреждению у крыс являются сперматциты и ранние округлые сперматиды. Снижение агглютинации и подвижности сперматозоидов свидетельствует о влиянии повышенной температуры не только на первые этапы сперматогенеза, но и на созревание сперматозоидов в эпидидимисах. Таким образом, повышение температуры влияет и на уже сформировавшиеся сперматозоиды, в результате чего может наблюдаться значительное снижение фертильности у самцов крыс. Длительное воздействие высоких температур может вызывать запуск усиленного апоптоза активно делящихся клеток под действием окислительного стресса, нарушения репарации ДНК и усиленную денатурацию белков [22].

Уменьшение содержания лецитиновых зерен в нативном эякуляте под действием высокой температуры свидетельствует о нарушении биохимических процессов, протекающих в добавочных железах, при этом изменяется состав их секретов, что в свою очередь может приводить к ухудшению не только показателей спермограммы, но и свойств эякулята в целом [23]. Изменение этих свойств значительно снижает устойчивость сперматозоидов в половых путях самки, что в разы снижает их фертильную способность. К тому же уменьшение лецитиновых зерен указывает на ухудшение липидного обмена, что приводит к дефициту выработки тестостерона необходимого для поддержания сперматогенеза (рис. 3).

Под воздействием высокой температуры изменяются практически все морфометрические показатели сперматозоидов. Увеличение размеров головки сперматозоидов у опытной группы может указывать на неполное формирование ее структуры, связанное с недостаточно плотной укладкой хроматина, что в итоге приводит к неполноценному оплодотворению, которое чаще всего сопровождается анеуплоидиями или вовсе отсутствием оплодотворения [24]. Изменение структуры основания хвоста может существенно снижать его способность к передвижению [25].

В качестве инактивирующего агента для тучных клеток был использован препарат кетотифен, который показал высокую эффективность как в наших предыдущих исследованиях [26], так и в исследованиях других ученых [10, 11]. Ранее нами было показано снижение функциональной активности тестикулярных тучных клеток под действием данного препарата. Настоящее исследование демонстрирует положительное влияние инактивации тучных клеток на показатели как нативного эякулята, так и эпидидимальных сперматозоидов при нарушении сперматогенеза под действием высокой температуры. При воздействии препарата не отмечается снижение показателей спермограммы, что свидетельствует о сохранении оплодотворяющей способности сперматозоидов.

Изменения ряда морфометрических параметров также свидетельствуют о положительном эффекте инактивации тучных клеток. Уменьшение площади и угла головки указывает на правильное формирование ее структуры. Значение ширины основания хвоста, приближающееся к значениям интактной и контрольной групп, может указывать на улучшение подвижности сперматозоида. Восстановление соотношения хвост/головка и параметров шероховатости указывает на положительный эффект кетотифена в защите от теплового стресса. Однако некоторые параметры, такие как периметр головки, линейность и определен-

ные характеристики хвоста сперматозоида, показали минимальное улучшение или его отсутствие.

В группе, получавшей кетотифен без воздействия высокой температуры, наблюдались некоторые потенциально негативные эффекты препарата, такие как снижение уровня тестостерона и концентрации сперматозоидов, увеличение длины хвоста. Это свидетельствует о неблагоприятном влиянии инактивации тучных клеток на сперматогенез в норме и об их необходимом участии в регуляции этого процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительное воздействие высоких температур приводит к ухудшению морфофункциональных характеристик сперматозоидов. Резкое снижение параметров спермограммы у особей, которых подвергали ежедневному нагреву в течение полного цикла сперматогенеза, подтверждает предположение о нарушениях развития клеток еще на стадии сперматогоний. Все это приводит к торможению сперматогенеза и, как следствие, к плавному, но значительному снижению фертильности. Инактивация тучных клеток препаратом кетотифен нивелирует негативные последствия влияния высокой температуры на сперматогенез, сохраняя большинство параметров нативного эякулята и сперматозоидов придатка. ■

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Babakhanzadeh E, Nazari M, Ghasemifar S, Khodadadian A. Some of the factors involved in male infertility: a prospective review. *Int J Gen Med* 2020;29:41. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S241099>
2. Punjani N, Lamb DJ. Male infertility and genitourinary birth defects: there is more than meets the eye. *Fertil Steril* 2020;114(2):209-18. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.06.042>
3. Ширинов В.Н. Современное состояние проблемы мужского бесплодия: обзор клинических рекомендаций европейской ассоциации урологов. *Клиническая практика* 2016;1 (25):39-50. [Shirshov V.N. Current state of the male infertility problem: a review of the clinical guidelines of the European Association of Urology. *Klinicheskaya praktika = Clinical practice* 2016;1(25):39-50 (In Russian)]. <https://doi.org/10.17816/clinpract7139-50>
4. Bisconti M, Simon JF, Grassi S, Leroy B, Martinet B, Arcolia V, et al. Influence of risk factors for male infertility on sperm protein composition. *Int J Mol Sci* 2021;22(23):13164. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms222313164>
5. Потемина Т.Е., Тукмакова Т.С. Влияние теплового воздействия на сперматогенез в эксперименте. *Современные технологии в медицине* 2011;(4):99-101. [Potemina T., Tukumakova T. The effect of thermal exposure on spermatogenesis in an experiment. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine = Modern technologies in medicine* 2011;(4):99-101. (In Russian)].
6. Крылова Е.В., Потемина Т.Е., Корягин А.С., Нестеров Г.Д. Профилактическое действие маточного молочка пчел на показатели сперматогенеза крыс при остром тепловом стрессе. *Вестник Нижегородского университета им Н.И. Лобачевского* 2011;(6-1):138-43. [Krylova E.V., Potemina T.E., Koryagin A.S., Nesterov G.D. Preventive effect of royal jelly on spermatogenesis indices in rats under acute heat stress. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im N.I. Lobachevskogo = Bulletin of N.I. Lobachevsky Nizhny Novgorod University* 2011;(6-1):138-43. (In Russian)].
7. Furland NE, Luquez JM, Oresti GM, Aveladão MI. Mild testicular hyperthermia transiently increases lipid droplet accumulation and modifies sphingolipid and glycerophospholipid acyl chains in the rat testis. *Lipids* 2011;46:443-54. <https://doi.org/10.1007/s11745-011-3527-3>
8. Welter H, Köhn FM, Mayerhofer A. Mast cells in human testicular biopsies from patients with mixed atrophy: increased numbers, heterogeneity, and expression of cyclooxygenase 2 and prostaglandin D2 synthase. *Fertil Steril* 2011;96(2):309-13. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.05.035>
9. Abdel-Hamid AA, Atef H, Zalata KR, Abdel-Latif A. Correlation between testicular mast cell count and spermatogenic epithelium in non-obstructive azoospermia. *Int J Exp Pathol* 2018;99(1):22-8. <https://doi.org/10.1111/iep.12261>
10. Saharkhiz N, Nikbakht R, Hemadi M. Ketotifen, a mast cell blocker improves sperm motility in asthenospermic infertile men. *J Hum Reprod Sci* 2013;6(1):19-22. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.112373>
11. Moreno D, Sobarzo CM, Lustig I, Rodriguez Pena MG, Guazzone VA. Effect of ketotifen fumarate on experimental autoimmune orchitis and torsion of the spermatic cord. *Asian J Androl* 2020;22:112-117. https://doi.org/10.4103/aja.aja_30_19
12. Wu Y-Q, Rao M, Hu S-F, Ke D-D, Zhu C-H, Xia W. Effect of transient scrotal hyperthermia on human sperm: an iTRAQ-based proteomic analysis. *Reprod Biol Endocrinol* 2020;18:1-11. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00640-w>
13. Ilkhani S, Moradi A, Aliaghaei A, Norouzi M, Abdi S, Rojhani E, et al. Spatial arrangement of testicular cells disrupted by transient scrotal hyperthermia and subsequent impairment of spermatogenesis. *Andrologia* 2020;52(9):e13664. <https://doi.org/10.1111/and.13664>
14. Гетманенко А.Ю., Бугаева Л.И., Спасов А.А., Лебедева С.А., Кузубова Е.А., Мальцев М.С. Исследование полового поведения и сперматогенеза у крыс-самцов с экспериментальным дефицитом магния. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета* 2016;4 (60):20-3. [Getmanenko A.Yu., Bugaeva L.I., Spasov A.A., Lebedeva S.A., Kuzubova E.A., Maltsev M.S. Study of sexual behavior and spermatogenesis in male rats with experimental magnesium deficiency. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Volgograd State Medical*

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- University 2016;4 (60):20-3. (In Russian)].
15. Quinn R. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition* 2005;21(6):775. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.04.002>
16. Fuochi S, Galasso ME, Colombo R, Giaquinto D, De Girolamo P, D'Angelo L. Puberty onset curve in CD (Sprague Dawley) and long Evans outbred male rats. *Lab Anim* 2022;56(5):471-5. <https://doi.org/10.1177/00236772221078725>
17. Gervasi MG, Visconti PE. Molecular changes and signaling events occurring in spermatozoa during epididymal maturation. *Andrology* 2017;5(2):204-18. <https://doi.org/10.1111/andr.12320>
18. Gloria A, Contri A, De Amicis I, Robbe D, Carluccio A. Differences between epididymal and ejaculated sperm characteristics in donkey. *Anim Reprod Sci* 2011;128(1-4):117-22. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.007>
19. Bezerra LG, Silva AM, Jurema AP, Dantas MR, Pereira AG, Oliveira M.F., et al. Changes in sperm morphology, morphometry, and motility from the epididymis to the vas deferens in Rheas (*Rhea americana*, Linnaeus, 1758). *Animals* 2023;13(9):1483. <https://doi.org/10.3390/ani13091483>
20. James ER, Carrell DT, Aston KI, Jenkins TG, Yeste M, Salas-Huetos A. The role of the epididymis and the contribution of epididymosomes to mammalian reproduction. *Int J Mol Sci* 2020;21(15):5377. <https://doi.org/10.3390/ijms21155377>
21. van Der Horst G, Skosana B, Legendre A, Oyeyipo P, Du Plessis SS. Cut-off values for normal sperm morphology and toxicology for automated analysis of rat sperm morphology and morphometry. *Biotech Histochem* 2018;93(1):49-58. <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1380842>
22. Cai H, Qin D, Peng S. Responses and coping methods of different testicular cell types to heat stress: overview and perspectives. *Biosci Rep* 2021;41(6):BSR20210443. <https://doi.org/10.1042/BSR20210443>
23. Винник Ю.Ю., Борисов В.В. Общая клиничко-лабораторная и инструментальная характеристика течения хронического абактериального простатита с воспалительным компонентом у мужчин первого периода зрелого возраста. *Урология* 2017;(5):36-41. [Vinnik Yu.Yu., Borisov V.V. General clinical-laboratory and instrumental characteristics of the course of chronic abacterial prostatitis with an inflammatory component in men of the first mature age. *Urologiya = Urology* 2017;(5):36-41. (In Russian)]. <https://doi.org/10.18565/urology.2017.5.36-41>
24. Брагина Е.Е., Арифалин Е.А., Лазарева Е.М., Лелекова М.А., Коломиец О.Л., Чоговадзе А.Г. и др. Нарушение конденсации хроматина сперматозоидов и фрагментация ДНК сперматозоидов: есть ли корреляция? *Андрология и генитальная хирургия* 2017;18(1):48-61. [Bragina E.E., Arifulin E.A., Lazareva E.M., Lelekova M.A., Kolomiets O.L., Chogovadze A.G., et al. Disruption of sperm chromatin condensation and sperm DNA fragmentation: is there a correlation? *Andrologiya i genitalnaya khirurgiya = Andrology and genital Surgery* 2017;18(1):48-61. (In Russian)]. <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2017-18-1-48-61>
25. Lehti MS, Sironen A. Formation and function of sperm tail structures in association with sperm motility defects. *Biol Reprod* 2017;97(4):522-36. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox096>
26. Храмова Ю.С., Арташян О.С., Юшков Б.Г., Волкова Ю.Л., Незговорова Н.Ю. Влияние тучных клеток на репаративную регенерацию тканей с разной степенью иммунологической привилегированности. *Цитология* 2016;58(5):356-63. [Khramtsova Yu.S., Artashyan O.S., Yushkov B.G., Volkova Yu.L., Nezgovorova N.Yu. Effect of mast cells on reparative regeneration of tissues with different degrees of immunological privilege. *Tsitologiya = Cytology* 2016;58(5):356-63. (In Russian)].

Сведения об авторах:

Храмова Ю.С. – к.б.н., доцент, с.н.с. лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук; Екатеринбург, Россия; RINCI Author ID 142151, <https://orcid.org/0000-0001-7781-772X>

Садек А. – аспирант и инженер-исследователь департамента биологии и фундаментальной медицины Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина; научный сотрудник центральной экспериментальной лаборатории биотехнологий Центра специализированных видов медицинской помощи «Институт медицинских клеточных технологий»; Екатеринбург, Россия; Author ID 1167144, <https://orcid.org/0000-0003-4344-9396>

Измestyeva О.В. – магистрант Уральского Федерального Университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина; Екатеринбург, Россия

Юшков Б.Г. – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУ науки Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук; Екатеринбург, Россия; Author ID 116706, <https://orcid.org/0000-0001-6368-0099>

Вклад авторов:

Храмова Ю.С. – концепция и дизайн исследования, написание текста, 30%
 Садек А. – экспериментальные исследования, анализ и систематизация данных, визуализация результатов, написание текста, 30%
 Измestyeva О.В. – экспериментальные исследования, анализ данных, 30%
 Юшков Б.Г. – общее руководство работой, редактирование текста, 10%

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания ИИФ УрО РАН (регистрационный номер НИОКТР № 122020900136-4). Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

Статья поступила: 19.12.24

Результаты рецензирования: 17.04.25

Исправления получены: 18.06.25

Принята к публикации: 25.09.25

Information about authors:

Khramtsova Yu.S. – PhD, assistant professor, senior researcher laboratory of immunophysiology and immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 142151, <https://orcid.org/0000-0001-7781-772X>

Sadek A. – PhD student, research engineer in the department of biology and fundamental medicine of the Ural Federal University; research scientist at the central experimental laboratory of biotechnologies of the Institute of medical cell technologies of the Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 1167144, <https://orcid.org/0000-0003-4344-9396>

Izmestyeva O.V. – master student of the Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

Yushkov B.G. – Dr. Sci., professor, cor.-member of the RAS, head of the laboratory of immunophysiology and immunopharmacology of the Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia; RSCI Author ID 116706; <https://orcid.org/0000-0001-6368-0099>

Authors' contributions:

Khramtsova Yu.S. – conceptualization and study design; writing the text, 30%
 Sadek A. – conducted experimental studies, data analysis and systematization, results visualization, writing the text, 30%
 Izmestyeva O.V. – conducted experimental studies and data analysis, 30%
 Yushkov B.G. – provided general supervision; text editing, 10%

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out within the framework of the state assignment of the IIP UB RAS (registration number NIOKTR No. 122020900136-4). The work was carried out using the equipment of the IIP UB RAS Collective Use Center.

Received: 19.12.24

Peer review: 17.04.25

Corrections received: 18.06.25

Accepted for publication: 25.09.25