

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УЛЬТРАСТРУКТУРА СЕМЕННИКОВ КРЫС ПОСЛЕ ДЕСТРУКТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДОКСОРУБИЦИНА ГИДРОХЛОРИДА И ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТОМ*

Бречка Н. М.¹, Невзоров В. П.², Селюкова Н. Ю.¹,
Коренева Е. М.¹, Малова Н. Г.¹, Бондаренко В. А.¹

¹ ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков, Украина;

² ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины»,
г. Харьков, Украина
natalia-iper@i.ua

Восстановление и стимуляция сперматогенной функции у мужчин, страдающих бесплодием, имеет большое значение, поскольку это связано с сохранением репродуктивного здоровья населения [1]. Для лечения многих воспалительных процессов половой сферы у мужчин часто применяют цитостатические препараты, но влияние таких препаратов приводит к токсическому воздействию на процессы сперматогенеза. Поэтому проводится поиск новых препаратов, сдерживающих негативное и токсическое воздействие антибиотиков с цитостатическим действием и возобновляющих процесс сперматогенеза. На сегодня существует достаточно большой перечень средств, преимущественно синтетических,

для лечения половых расстройств и улучшения состояния репродуктивной системы. Однако такая терапия достаточно часто малоэффективна, поэтому уже сегодня важным является поиск новых терапевтических подходов к лечению репродуктивных нарушений [1, 2].

Хондроитина сульфат (ХС) имеет большую терапевтическую широту действия и высокий индекс безопасности [3]. Существуют данные о том, что значительное количество протеогликанов, в том числе ХС и гепаран сульфат, расположенных в тканях яичка, могут принимать участие в различных регуляторных процессах сперматогенеза [4]. ХС положительно влияет на качественное состояние тестикулярной ткани крыс, вос-

* Работа выполнена в соответствии с плановой НИР отделения патологии половых желез ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины» «Оптимізація діагностики та терапії порушень репродуктивного здоров'я ендокринного генезу у осіб молодого віку» (№ госрегистрации 0111U000177).

Учреждением, финансирующим исследование, является НАМН Украины.

Авторы гарантируют ответственность за объективность представленной информации.

Авторы гарантируют отсутствие конфликта интересов и собственной финансовой заинтересованности.

Рукопись поступила в редакцию 5.07.2018.

становлює порушену трофіку половых клеток, знижує дистрофічні процеси в яичках крыс, що призводить до активації процесу сперматогенезу і підвищує рівень андрогенної насиченості організму. В зв'язі з цим, ХС може розглядатися як потенціальний коректор при репродуктивних і сперматопатіях і порушеннях сексуального здоров'я [4, 5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Експеримент проводили на білих половозрілих самцях крыс популяції Вистар масою тіла 340–380 г. Животні були розділені на 3 групи: 1 гр. — негативний контроль (інтактні крыси), 2 гр. — позитивний контроль (контрольна патологія), 3 гр. — животні, які на фоні дії цитостатиків отримували ХС.

Для моделювання цитостатичного ураження яєчок, животним внутрібрюшинно вводили доксорубіцин в дозу 2 мг/кг маси тіла один раз в тиждень (3 введення). ХС починали вводити за три дні до введення цитостатиків, потім три тижні на його фоні і в течение 9 днів після (всього 33 дні). Введення проводили внутрішлудочно один раз в добу в дозі 60 мг/кг маси тіла.

Введення цитостатика доксорубіцин гідрохлориду здійснювалось з розширенням строку експозиції [6]. Животних виводили з експерименту шляхом декапітації в відповідності з національним «Загальним етичним принципом експериментів на животних» (Україна, 2001), згідно з положеннями «Європейської конвенції о захисті хребтових тварин, використовуваних для експерименталь-

Целью даного дослідження явилось вивчення характерних змін субмікроскопічної архітектури клеток Сертолі і Лейдига, підданих деструктивному впливу доксорубіцин гідрохлориду і можливості корекції цього стану ХС, як традиційних підходів до аналізу електронно-мікроскопічних зображень, так і представлень о пьезобіосинтезі.

них і інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки тканин семенника піддали попередній фіксації в 2,5 % буферному розчині глютарового альдегіду в течение 5–6 годин при температурі 4°C. Після цього промивали в буферному розчині, остаточну фіксацію проводили в 1 % буферному розчині тетраоксиду осмію. Обезживлення тканин проводили в спиртах зростаючої концентрації і ацетоні. Далі тканину пропитували в суміші епоксидних смол (епон-аралдит) за стандартними методами. Полімеризацію блоків проводили в термостаті при температурі 60°C в течение 48 годин. З отриманих блоків, на ультрамикротомі УМТП-3М, готували ультратонкі срізи, монтували їх на електrolитическі сітки і, після контрастування цитратом свинцю, вивчали під електронним мікроскопом ЕМВ-100БР при прискорюючому напругу 75 кВ. Контролем якості гистологічної обробки тканин слугували семенники інтактних тварин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

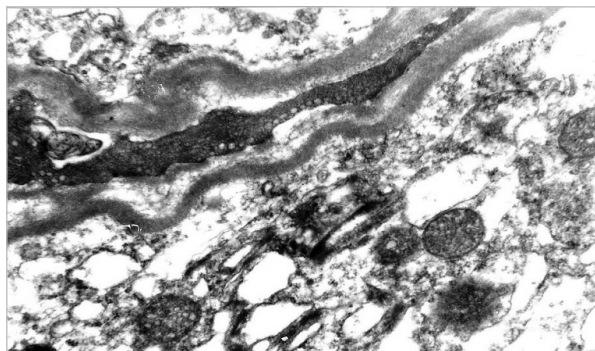
Електронно-мікроскопічне дослідження ультраструктури інтерстиціальних ендотеліоцитів тварин, підданих впливу доксорубіцин гідрохлориду, показало, що токсичне вплив цитостатиків супроводжується розвитком дистрофічних і деструктивних змін органелл і зниженням активності синтетических, репаративних процесів, а також пьезобіосинтезу. Детальне описання

субмікроскопічної організації цих клеток описано нами в раніше опублікованих роботах [7].

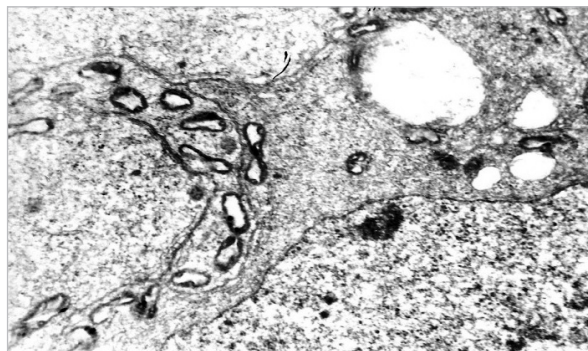
В субмікроскопічній організації інтерстиціальних ендокриноцитів семенників крыс, підданих впливу цитостатиків і отриманих ХС, частково збереглися риси, як дистрофічних порушень органелл, так і очагова деструкція внутріклеточних мембран. Ядра

клеток Лейдига приобретали типичное строение, ядерная мембрана была гладкой, очаги деструкции отсутствовали, однако сохранились очаги разрыхления. Ядерный хроматин находился в деконденсированной форме, его гранулы диффузно рассеяны по нуклеоплазме. В некоторых клетках округлялись осмиофильные ядрышки. Перинуклеарные пространства не расширены. Все это свидетельствует о восстановительных процессах в клетках, вызванных введением ХС после деструктивного воздействия доксорубина гидрохлорида. В цитоплазме интерстициальных эндокриноцитов локализовалось достаточно большое количество митохондрий овальной и сферической формы. Наружная мембрана митохондрий имела разрыхленный вид. Матрикс митохондрий имел среднюю электронную плотность и гомогенную структуру. Тубулярные кристы довольно многочисленны без очагов разрушения. Гладкий

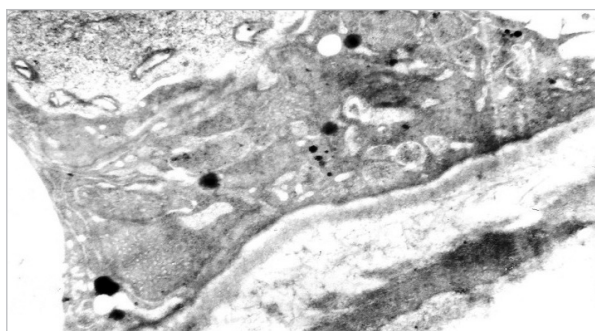
эндоплазматический ретикулум развит хорошо, его цистерны представляли собой систему электронно-прозрачных вакуолей различной формы и размеров. В цитоплазме выявлялись белковые кристаллоиды, имеющие вид палочек и обладающие высокой электронной плотностью. Зачастую в клетках обнаруживались вторичные лизосомы. Цитоплазма содержала большое количество рибосом и полисом. Таким образом, осуществлялось восстановление биоэнергетического обеспечения метаболических, репаративных процессов, а также процессов пьезобиосинтеза в клетках Лейдига. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи умеренно гипертрофирован. Базальная мембрана интерстициальных эндокриноцитов равномерной толщины и средней электронной плотности, сильно извитая. Слой волокнистой соединительной ткани состоит из электронно-прозрачной субстанции и содержит фиб-



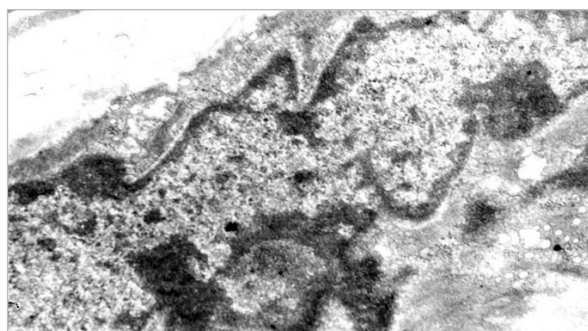
1. Ультраструктура базальных мембран, просветление цитоплазмы и частичная очаговая деструкция цитоплазматической мембраны эндотелиоцитов. X39000.



2. Делящиеся формы митохондрий, редкие очаги дегенерации цитоплазмы клеток Сертоли. X34000.



3. Разрыхление базальной мембраны клеток Сертоли. X39000.



4. Глубокие и мелкие инвагинации ядерной мембраны и конденсация хроматина ядра эндотелиоцитов кровеносных капилляров. X41000.

Рис. Ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига семенников крыс, получавших хондроитина сульфат на фоне доксорубина гидрохлорида.

рилярные структуры. Существенно расширены базальные мембраны эндотелиоцитов кровеносных капилляров. Базальная мембрана варьирует по толщине и электронной плотности. Цитоплазма эндотелиоцитов просветлена, содержит небольшое количество дистрофических измененных митохондрий, фрагментов мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и микропиноцитозные пузырьки. Цитоплазматическая мембрана обращена в просвет капилляра, имеет частичные очаги лизиса (рис. 1).

Все вышеперечисленное, свидетельствует о повышении уровня процессов пьезобиосинтеза. Ядра эндотелиоцитов содержат деконденсированный хроматин и извитую ядерную мембрану.

Ультраструктура клеток Сертоли остается дистрофически измененной. Ядра содержат деконденсированный хроматин и электронно-прозрачную нуклеоплазму. Ядерная мембрана гладкая с небольшим количеством мелких инвагинаций. Ядрышки небольших размеров имеют среднюю электронную плотность. Митохондрии клеток Сертоли имели просветленный матрикс и очень малое количество крист. Наружные мембраны разрыхлены. Вместе с тем, в цитоплазме обнаруживались делящиеся формы митохондрий. Гладкий эндоплазматический ретикулум представлен в виде множества очень мелких везикул, заполняющих цитоплазму. В отдельных клетках обнаруживались крупные очаги дегенерации. В цитоплазме практически отсутствовали кристаллоидные включения, липиды и липофусцин (рис. 2). Умеренной гипертрофии

подвержен пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи. Его параллельно ориентированные гладкие мембраны несколько разрыхлены и окружены многочисленными мелкими везикулами различной электронной плотности. В цитоплазме возрастает количество свободно лежащих рибосом и полисом, что свидетельствует об активации синтетических и репаративных процессов под влиянием введения ХС после деструктивного воздействия доксорубицина гидрохлорида. Цитоплазматическая мембрана, контактирующая с гематотестикулярным барьером, теряет четко контурированную структуру, выглядит утолщенной и электронно плотной. Базальная мембрана эндотелиоцитов кровеносных капилляров утолщена, имеет рыхлую структуру (рис. 3). В рыхлой соединительной ткани располагаются миоидные клетки, цитоплазма которых имеет повышенную электронную плотность. Ультраструктура миоидных клеток после введения ХС не изменена, что свидетельствует о повышении активности ритмических сокращений стенки канальцев, что влечет за собой препятствия для развития застойных процессов, которые были вызваны цитотоксическим действием доксорубицина гидрохлорида. Эти клетки окружены тонковолокнистой субстанцией и коллагеновыми волокнами. Ядра эндотелиоцитов (рис. 4) имеют вытянутую неправильную форму. Ядерная мембрана с многочисленными глубокими и мелкими инвагинациями. Ядерный хроматин конденсирован и его глыбки располагаются на ядерной мембране. Органеллы эндотелиоцитов без существенных нарушений.

ВЫВОДЫ

1. Хондроитина сульфат способствует восстановлению типичной архитектоники митохондрий клеток Сертоли и Лейдига животных, подвергшихся деструктивному влиянию цитостатика доксорубицина гидрохлорида.
2. Хондроитина сульфат способствует нормализации субмикроскопической организации митохондрий, комплекса Гольджи, что структурно проявляется практически отсутствием очагов лизиса наружных

мембран и крист, а также появлением делящихся форм. Восстанавливается адекватная потребностям клеток биоэнергетика и увеличение процессов пьезобиосинтеза.

3. Коррекция биоэнергетики клеток Сертоли и Лейдига под воздействием хондроитина сульфата влечет за собой восстановление и активацию синтетических процессов и репарацию внутриклеточных структур.

Перспективы дальнейших разработок. Полученные научные результаты необходимы для дальнейшего исследования

влияния хондроитина сульфата на мужскую репродуктивную систему после воздействия цитостатиков.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Gavriljuk AM, Chopjak VV, Nakonechnyj AI, Kurpish M. *Med aspekty zdorov'ja muzhchiny* 2012;3(1): 42-48.
2. Gorpichenko II, Gurzhenko AJu. *Zdorov'e muzhchiny* 2010; 1: 28-32.
3. Ju Y, Yu A, Sun X, et al. *Mol Med Rep* 2013; 8 (3): 794-798. doi: 10.3892/mmr.2013.1584.
4. Brechka NM, Bondarenko VO, Korenjeva JeM, et al. *Eksperym i klinich medycyna* 2012; 3 (56): 52-58.
5. Patent 86662 UA. Sposib korekcii' indukovanyh cytostrytkom porushen' spermatogenezu u shhuriv.
6. Holodkova OL. Osoblyvosti patogenezu porushen' morfofunkcional'nogo stanu reproduktyvnoi' systemy samciv ta samok eksperymental'nyh tvaryn ta i'h korekcija za dopomogoju regeneratyvnyh tehnologij, *Odesa*, 2010: 36 p.
7. Brechka NM, Nevzorov VP, Nevzorova OF, et al. *Probl endokryn patologii'* 2014; 4: 67-77.

УЛЬТРАСТРУКТУРА СЕМЕННИКОВ КРЫС ПОСЛЕ ДЕСТРУКТИВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДОКСОРУБИЦИНА ГИДРОХЛОРИДА И ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТОМ

Бречка Н. М.¹, Невзоров В. П.², Селюкова Н. Ю.¹, Коренева Е. М.¹,
Малова Н. Г.¹, Бондаренко В. А.¹

¹ ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков, Украина;

² ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины»,
г. Харьков, Украина
natalia-iper@i.ua

В статье приведены данные о характерных изменениях субмикроскопической архитектоники клеток Сертоли и Лейдига, подвергшихся деструктивному воздействию цитостатика доксорубицина гидрохлорида и дальнейшая коррекция этого состояния хондроитина сульфатом. Показано, что хондроитина сульфат способствует нормализации субмикроскопической организации митохондрий клеток Сертоли и Лейдига, комплекса Гольджи. Происходит восстановление биоэнергетики клеток и увеличение процессов пьезобиосинтеза, что в свою очередь приводит к активации синтетических процессов и репарации внутриклеточных структур семенников животных.

Ключевые слова: ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига, хондроитина сульфат, цитостатики.

УЛЬТРАСТРУКТУРА СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ ДЕСТРУКТИВНОГО ВПЛИВУ ДОКСОРУБІЦИНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ХОНДРОІТИНА СУЛЬФАТОМ

Бречка Н. М.¹, Невзоров В. П.², Селюкова Н. Ю.¹, Коренева Є. М.¹,
Малова Н. Г.¹, Бондаренко В. О.¹

¹ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
м. Харків, Україна;

² ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В. Т. Зайцева НАМН України»,
м. Харків, Україна
natalia-iper@i.ua

У статті наведені дані про характерні зміни субмікроскопічної архітекtonіки клітин Сертолі та Лейдіга, які зазнали деструктивного впливу цитостатика доксорубіцину гідрохлориду та подальшої корекції цього стану хондроїтину сульфатом. Показано, що хондроїтину сульфат сприяє нормалізації субмікроскопічної організації митохондрий клітин Сертолі та Лейдіга, комплексу Гольджі. Відбувається відновлення біоенергетики клітин і збільшення процесів пьезобіосинтезу, що в свою чергу призводить до активації синтетичних процесів і репарації внутрішньоклітинних структур сім'яників тварин.

Ключові слова: ультраструктура клітин Сертолі та Лейдіга, хондроїтину сульфат, цитостатики, доксорубіцину гідрохлорид.

**ULTRASTRUCTURE OF RAT TESTICLES
AFTER DESTRUCTIVE EXPOSURE OF THE DOXORUBICIN HYDROCHLORIDE
AND THE POSSIBILITY OF CORRECTION BY CHONDROITIN SULFATE**

N. M. Brechka¹, V. P. Nevzorov², N. Yu. Seliukova¹, E. M. Koreneva¹,
N. G. Malova¹, V. A. Bondarenko¹

¹ *SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine», Kharkiv, Ukraine*

² *SI «Institute of General and Urgent Surgery. named after V. T. Zaitsev of the NAMS of Ukraine», Kharkov, Ukraine
natalia-ipep@i.ua*

The article have been presents data of the characteristic changes in the submicroscopic architectonics of Sertoli and Leydig cells after destructive effect of the doxorubicin hydrochloride and possibility correction of this state by chondroitin sulfate. It was shown that chondroitin sulfate promotes normalization condition of submicroscopic organization of mitochondria, Sertoli and Leydig cells, the Golgi apparatus. There are a reconstruction of cells bioenergetics processes and increase processes of piezobiosynthesis, which it leads to activation of synthetic processes and repair of intracellular structures of animal's testicles.

Key words: rat, ultrastructure of Sertoli and Leydig cells, chondroitin sulfate, cytostatics, doxorubicin hydrochloride.