

верхніх шарах кори ці коливання не співпадали.

Автор вважає, що зміни, виявлені в ході дослідження, служать основою для десинхронізації діяльності функціональних показників кори мозку.

Summary

HISTOCHEMICALLY REVEALED CHANGES OF ENZYMES CTA ACTIVITY IN NEURONES OF RAT BRAIN SENSOMOTORIC CORTEX IN THE DYNAMICS OF HYPOKINESIA

Nasibullin B.A.

On the basis of the data received at research of 90 white not purebred male rats, author has established, that long state of hypokinesia is accompanied by changes of enzymes CTA activity in neurons of the brain cortex, revealed by the histochemical method. There is established, that all

observed changes of enzymes activity occur in accordance with certain mathematical laws which were identical to different enzymes in the top and in the bottom layers of brain cortex. Fluctuations of the average activity are caused by changes of the neuron subpopulations quantity with a different level of enzyme activity. Author suppose, that these changes are caused with reactionary opportunity decrease of neuron population. Carrying out a probable estimation of an activity combination of researched enzymes, author has showed, that the presence of neurons with different forms of activity is varied in dynamics of hypokinesia. Thus in the bottom and top layers of brain cortex fluctuations did not coincided. The revealed during the made research changes in enzymes activity, can form a basis for an estimation of a functional condition of a brain at hypokinesia.

УДК: 615.33:611.013.11.12:612 -092.9

МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ АДРИБЛАСТИНУ З МЕТОЮ МОДЕЛЮВАННЯ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ЯЄЧОК

Холодкова О.Л., Пихтєєв Д.М., Щербатюк А.Л.

Одеський державний медичний університет

Впервые поступила в редакцию 10.11.2006 г. Рекомендована к печати на заседании ученого совета НИИ медицины транспорта (протокол № 7 от 18.11.2006 г.).

Введення

Причиною чоловічого безпліддя можуть бути захворювання запального характеру, наприклад, простатовезикуліт, епідидиміт та ін., що широко розповсюдженні серед чоловічого населення, які найчастіше піддаються несприятливим впливам навколишнього середовища, зокрема, токсичним діям, стійкість до яких у чоловіків набагато нижча ніж у жінок. Проте, гострі запальні захворювання не викликають порушення репродуктивної функції. Безпліддя у чоловіків виникає як наслідок антибіотикотерапії цих захворювань [1]. Відомо, що антибактеріальні препарати володіють токсичною дією на внутрішні органи (особливо на печінку), а також на репродуктивну систему (РС) [2, 3, 4]. Тому порушення сперматогенезу в наслідок токсичного ураження органів РС у чоловіків в цей час є дуже актуальною проблемою.

З одного боку, гострі запальні захворювання органів РС переходячи в хронічні форми призводять до безпліддя. З другого боку, антибактеріальна терапія також призводить до безпліддя. Т.ч. виникає необхідність пошуку засобів корекції наслідків такої терапії, наприклад, препаратами, що активують регенераторні механізми органів РС. З метою розробки засобів корекції або створення лікарських препаратів виникає необхідність в створенні експериментальної моделі токсичного ураження органів РС. Значною токсичною дією на РС володіють протипухлинні антибіотики, які приводять до атрофії яєчок. Найбільш широко розповсюдженим представником даної групи є адрибластин (доксо-

рубіцина гідрохлорид).

Метою нашої роботи з'явилось вивчення впливу різних доз адрибластину на морфо-функціональний стан сперматогенного епітелію мишей.

Матеріали і методи

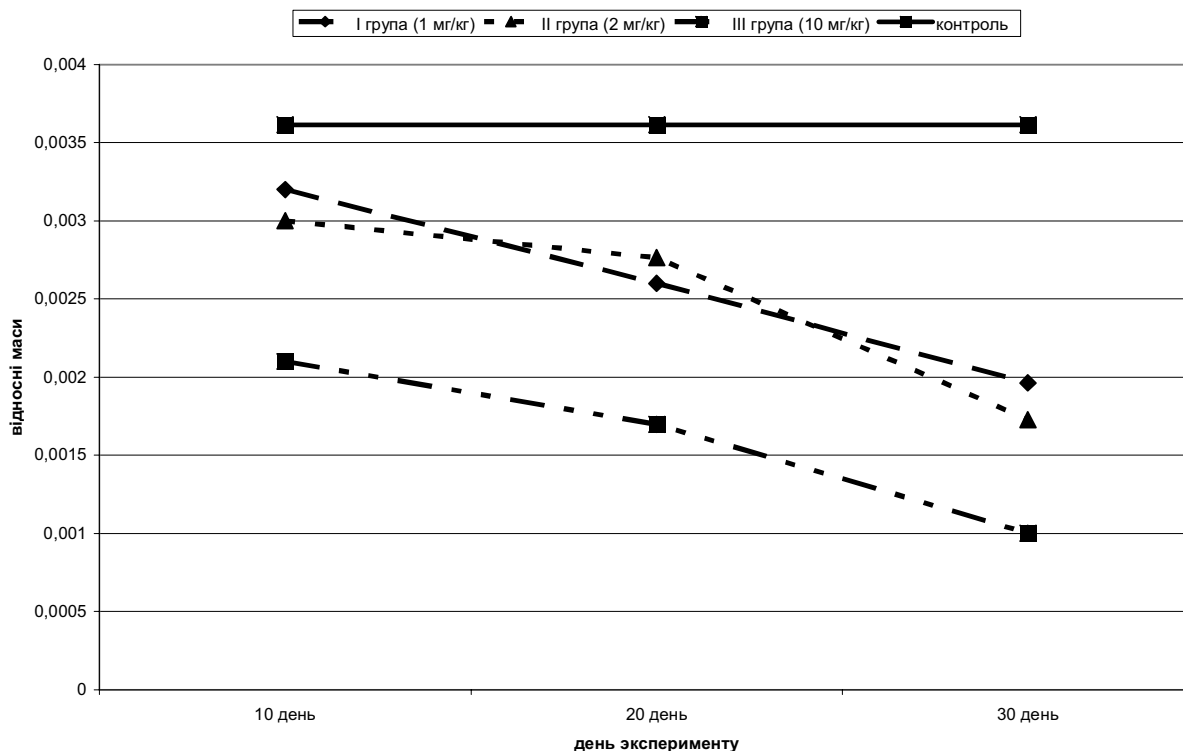
Експеримент був проведений на 52 самцях мишей лінії ICR вагою 25 - 30 г, віком – 5 - 6 міс. Тварини були розділені на 4 групи. Першій групі (15 тварин) внутрішньоочеревинно вводили адрибластин в дозі 1 мг/кг, другій (15 тварин) – 2 мг/кг, третій (15 тварин) – 10 мг/кг. Препарат вводили двократно по половині сумарної дози з інтервалом 7 днів. Контрольну групу склали 8 тварин, яким в тих самих об'ємах внутрішньоочеревинно був введений фізіологічний розчин. Виведення тварин з експерименту проводили шляхом дислокації шийних хребців на 10 - ий, 20 - ий і 30 - ий день від першого введення препарату. Виділені тестикули фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Парафінові зрізи завтовшки 3-5 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином і досліджували з використанням світлового мікроскопа «Leica-DMLS».

Результати

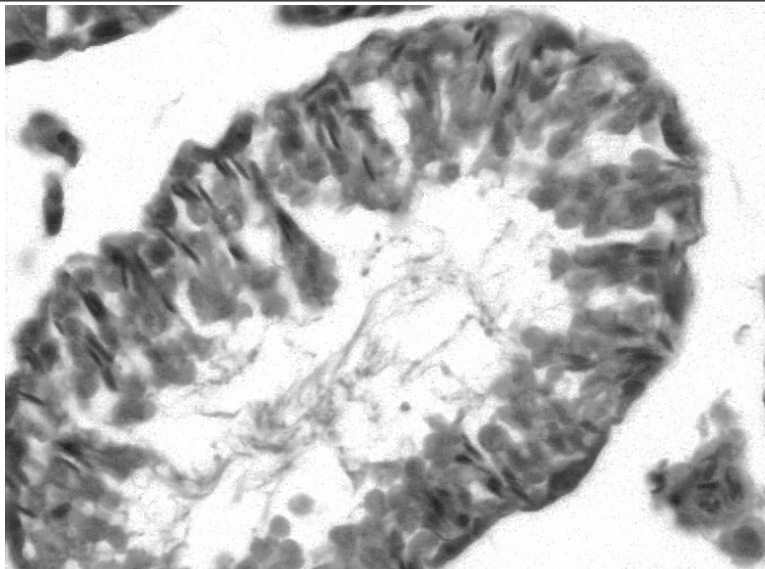
Проведені дослідження показали, що відносна маса яєчок мишей від моменту введення адрибластину прогресивно зменшувалася, і на 30-ий день експерименту в тварин I та II групи зменшилася в два, а у тварин III групи - в три рази (малюнок 1).

На мікроскопічному рівні у мишей I групи на 10-ий день експерименту в сім'яних каналцях удвічі зменшилася кількість сперматогоній. Слід зазначити, що на 10-ий день експерименту у всіх групах зміни сім'яних каналців носили гетерогенний характер – разом з пошкодженими каналцями зустрічалися практично інтактні.

На 20-й день виявлені грубіші порушення, такі як зменшення кількості сперматогоній в середньому в три рази, а в деяких каналцях - повна відсутність компартменту недиференційованих сперматогоній і таких, що диференціюються. При цьому кількість сперматогоній типу А – стовбурових (довгоживучих), за класифікацією, запропонованою З.С.Райциной, не змінюється [5, 6]. Серед інших клітин сперматогенного

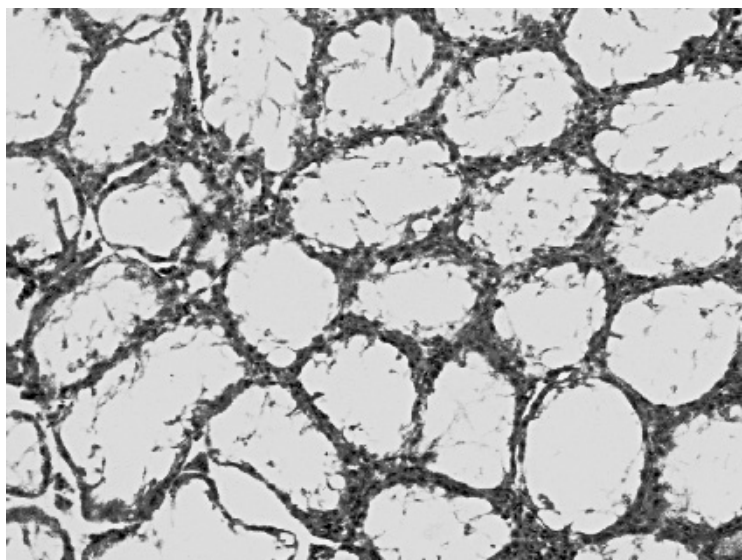


Мал. 1. Зміни відносних мас яєчок після введення адрибластину.



Мал. 2а. Сперматогенний епітелій сім'яних каналців мишей I групи на 20-й день експерименту. Відсутні шари, що містять сперматоцити першого та другого порядку, сперматиди. Значне зменшення кількості сперматогоній.

Забарвлення за гематоксилином та еозином. (Об.:20х; Ок.:10 х)



Малюнок 2б. Сперматогенний епітелій сім'яних каналців мишей III групи на 30-й день експерименту. Відсутність практично всіх шарів сперматогенного епітелію. Забарвлення за гематоксилином та еозином. (Об.:10х; Ок.:10 х)

епітелію (СЕ) спостерігається суттєве зменшення їх кількості. В окремих ділянках виявлена відсутність деяких шарів СЕ [7]. Наприклад, в багатьох каналцях присутні тільки сперматозоїди різного ступеня зрілості, що розташовані біля базальної мембрани (малюнок 2а).

На 30-й день експерименту ми спостерігали повну регенерацію сперматогенного епітелію, повернення кількості

сперматогоній до контрольних значень і відновлення функціональної шаруватості сперматогенного епітелію.

На 10-й день експерименту в сім'яних каналцях мишей II групи в більшості каналців спостерігалася повна відсутність сперматогоній, окрім стовбурових. Канальці виглядають такими, що запустили через зменшення кількості клітин, просвіти збільшені, в них можна побачити тільки скупчення білкового детриту.

На 20-й день виявилася повна відсутність сперматогоній, що диференціюються і диференційованих, навіть при збереженні інших шарів епітелію, а в деяких каналцях сперматогенний епітелій повністю відсутній. Проте на 30-й день в II групі так само як і в I відбулося повне відновлення СЕ.

Сім'яні каналці III групи на 10-й день експерименту містять повний клітинний склад і в достатній кількості серед 2-го, 3-го і 4-го шарів СЕ, проте, у всіх каналцях визначаються лише

поодинокі стовбурові сперматогонії.

На 20-й день в сім'яних каналцях виявляються самотні клітини СЕ або вони взагалі відсутні.

На 30-й день експерименту всі каналці майже не містять як клітин СЕ, включаючи стовбурові клітини, так і клітин Сертолі (малюнок 2б).

Обговорення:

Не дивлячись на те, що порушення в каналцях гетерогенні, в кожному з них простежується схожа динаміка розвитку патологічного процесу. Адрибластин надав прямої токсичної дії тільки на сперматогонії і сперматоцити у стадії прелептотени. Кількість і морфологічні властивості клітин СЕ, що знаходяться за гематотестікулярним бар'єром [5] були незмінними, що говорить про складність проходження препарату через дану фізіологічну перешкоду. В динаміці експерименту морфологічні зміни в сім'яних канальцях ставали більш дифузними і охоплювали все більшу кількість канальців. І до 20-го дня експерименту, коли СЕ в нормі повинний був пройти більше двох циклів [5], виявлялися канальці, весь клітинний склад яких був представлений тільки сперматозоїдами і поодинокими сперматидами, розташованими біля базальної мембрани, або епітелій взагалі не виявлявся. Проте у I групи мишей основну масу тканини яєчка все ж таки складають канальці з повною відсутністю сперматогоній, окрім стовбурових, але з повноцінним клітинним складом шарів, що знаходяться вище. Звідси витікає, що ступінь ураження сім'яних канальців залежить від стадії сперматогенезу, в якій вони знаходилися у момент поразки адрибластином, тоді як клітини, що знаходяться за гематотестікулярним бар'єром, здатні продовжувати поділ і диференціювання. Проте, протягом циклу СЕ популяція їх вичерпується, оскільки із сперматогоній не утворюються нові клітини. Як наголошувалося вище, кількість сперматогоній типу А – стовбурових (довгоживучих) в каналцях мишей I і II груп залишається незмінною. Морфологічні особливості цих клітин дозволяють зробити висновок про те, що токсичний агент не пройшов в клітини, що покояться, із сповільненими обмінними процесами. Це узгоджується з відомими даними про те, що адрибластин діє на клітини, в яких відбувається активний процес синтезу РНК [8]. В звичайних умовах стовбурові сперматогонії рідко діляться, для того щоб підтримувати їх

кількість на незмінному рівні [9]. В умовах дії субтоксичних доз адрибластину стовбурові сперматогонії при загрозі повного зникнення СЕ, починають активно ділитися і, таким чином, надалі відбувається регенерація сперматогенного епітелію. Тому на 30-ий день експерименту морфологічний стан сім'яних канальців мишей I і II груп практично не відрізняється від контрольних. Проте, доза препарату 10 мг/кг виявилася високотоксичною і для стовбурових сперматогоній, які вже на 20-ий день у тварин III групи практично не виявлялися, а на 30-ий день в каналцях по всій тканині яєчка СЕ відсутній. Таким чином, чітко простежується дозозалежний характер ураження тканини яєчок у мишей, і чим вища доза препарату, тим більше виражений процес деструкції сперматогенного епітелію, аж до розвитку незворотних процесів, що ми і спостерігали у мишей III групи.

Висновки:

1. Спостерігається дозозалежний характер змін морфологічного стану сім'яних канальців мишей після введення адрибластину.
2. Ураження канальців носить гетерогенний характер і залежить від стадії сперматогенезу, в якій знаходився каналець в момент дії адрибластину.
3. Адрибластин вражає сперматогонії і сперматоцити у стадії прелептотени, слабо проникаючи через гематотестікулярний бар'єр.
4. Клітини сперматогенного епітелію, що знаходяться за гематотестікулярним бар'єром, здатні продовжувати поділ і диференціювання.
5. Зміни сперматогенного епітелію мишей, що одержували препарат в дозі 1-2 мг/кг, оборотні, і на 30-ий день експерименту спостерігалось повне його відновлення. В каналцях мишей, що одержували препарат в дозі 10 мг/кг, регенерації епітелію не відбулося.

Перспективи подальших досліджень:

Адрибластин в дозі 1 – 2 мг/кг може бути використаний як препарат для мо-

делювання токсичної поразки репродуктивної системи мишей-самців при вивченні особливостей репаративних процесів в сперматогенному епітелії.

Подальші роботи дозволять визначити дію адрибластину в дозі 10 мг/кг на сперматогенез мишей при поєднанні його з протекторними препаратами.

Література:

1. Пшеничникова Т.Я. Бесплодие в браке. – М.: Медицина, 1991, 320 с.
2. Zaporozhan V.N., Kholodkova E.L., Pykhtyeyev D.M., Perepelyuk N.N. Influence of G-CSF on the state of visceral organs in acute toxic affection // The international Journal of Artificial Organs. - 2005. - Vol. 28, N. 9. - P.935.
3. Морфологические особенности почечной ткани мышей в условия действия адрибластину. Пыхтеев Д.М., Холодкова Е.Л., Щербатюк А.Л., Козаненко О.С. // Актуальные проблемы транспортной медицины, 2006. - № 2. – С. 60-64.
4. Kholodkova O., Pykhtyeyev D., Shcherbatyuk A., Perepelyuk N., Kozanenko O., Zaporozhan V. The regeneration of spermatogenic epithelium after cytokine therapy of toxic affection of testicules. // Cytotherapy, 2006. –Vol. 8, - Suppl. 2. – P. 10.
5. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. - 206 с.
6. Епифанова Е.И., Терских В.В., Полуновский В.А. Покоящиеся клетки. М.: Наука, 1983. 180с.
7. Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфологические методы в оценке функционального состояния семенников. // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии, 1983. - Т. 34. - № 3. – С. 66-73.
8. Kraus-Berthier, L, et al., Histology and sensitivity to anticancer drugs of two

human non-small cell lung carcinomas implanted in the pleural cavity of nude mice // Clin. Cancer Res.- 2005. –P. 297-304.

9. Grudzinskas J.G., Yovich J.L. Gametes – the spermatozoon. / Cambridge University Press, 1995. – 307 p.

Резюме

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СПЕРМАТОГЕННОГО ЕПІТЕЛІЮ МИШЕЙ В УМОВАХ ДІЇ АДРІБЛАСТИНА

Холодкова Е.Л., Пыхтеев Д.М., Щербатюк А.Л..

Описані морфологічні особливості тканини яєчок мишей у динаміці після введення антибіотику антрациклінового ряду – адрибластину в різних дозах. В сім'яних канальцях мишей виявлялося зменшення кількості сперматогоній та інших клітин сперматогенного епітелію навіть до повного їх зникнення. Зміни в канальцях мали дозозалежний характер, і при дозі препарату 10 мг/кг ці зміни виявилися незворотними. При застосуванні менших доз препарату спостерігалася наступна регенерація сперматогенного епітелію.

Summary

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF SPERMATOGENIC EPITHELIUM OF MICE AFTER ADIRBLASTIN INJECTION

Kholodkova E.L., Pykhtyeyev D.M., Shcherbatyuk A.L.

Morphologic state of mice's testis in dynamic after antibiotic of antracyclin row (adriblastin) injection in different doses is described. The decrease of the amount of spermatogonia and other cells of spermatogenic epithelium were observed. In some case spermatogenic cells disappeared at all. These changes were depended on the dose of adriblastin. In a dose of 10 mg/kg they were irreversible. In lower dose the regeneration of spermatogenic epithelium was present.