

**В.І.Шепітько**  
**Є.В.Стецук**

ВДНЗУ «Українська медична  
стоматологічна академія»

**Ключові слова:**  $\lambda$ -карагінен, асептичне запалення, яєчко, сперматогенний епітелій, кріоконсервована плацента, трансплантація плаценти.

*Надійшла: 21.10.2006*  
*Прийнята: 13.11.2006*

УДК [616.68-021.4-089.843-031:611.013.85-032]-092.9

## **ДИНАМІКА РАННІХ ТЕРМІНІВ ГОСТРОГО АСЕПТИЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ СІМ'ЯНИКІВ ПІД ВПЛИВОМ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ**

**Резюме.** У роботі проведено вивчення впливу підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти на перебіг експериментального гострого асептичного запалення в сім'яниках щурів. Дослідження було проведено на 65 щурах-самцях лінії Вістар. Експериментальне асептичне запалення викликали внутрішньочеревним введенням 5 мг  $\lambda$ -карагінену ("Sigma Co") в 1 мл 0,9% розчину хлориду натрію. Одноразово тваринам проводили трансплантацію кріоконсервованої плаценти шляхом підшкірного введення шматочків. Яєчки брали на дослідження через 6, 12, 24 години та на 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у добу після початку асептичного запалення та на фоні введення плаценти. Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім. Встановлено, що на 7-у добу після початку експерименту явища набряку сполучної тканини зменшувались. Кровопостачання на рівні мікроциркуляції відновлювалося на 7-10-у доби експерименту. К цьому строку також зменшувалась деструкція, десквамація та дискмплексація сперматогоній, сперматоцитів I і II, сперматид. На 10-у добу визначалось поступове відновлення кількості клітинних шарів і суцільності базальних відділів епітелію звивистих сім'яних каналців. Таким чином, після введення плаценти спостерігається відновлення клітинного складу сперматогенного епітелію у яєчках з асептичним запаленням.

**Shepitko V.I., Stetsuk E.V. The dynamic of the early acute aseptic inflammation of testes after transplantation of cryoconserved placenta.**

**Summary.** In this work the study of the influence of subcutaneous transplantation of cryoconserved placenta on the experimental acute aseptic inflammation of rat testes was carried. The research was carried on 65 Vistar male rats. The experimental aseptic inflammation was caused by intraperitoneal injection of 5 mg  $\lambda$ -caraginen ("Sigma Co") in 1 ml 0,9% solution of sodium chloride. The transplantation of cryoconserved placenta by a single subcutaneous injection was made. Testes were taken in 6, 12, 24 hours and on 2nd, 3rd, 5th, 7th, 10th day after beginning of aseptic inflammation and after placenta injection. Thin sections were stained by metilen blue. It was determined that on 7th day after the beginning of experiment the phenomenon of edema of connective tissue diminished. The blood supply at the microcirculatory level was renewed on 7-10th day of experiment. The destruction, desquamation, discomplexation of spermatogonia, spermatocytes I and II, spermatids have diminished also by this term. On a 10th day the gradual renewal of cellular layers and wholeness of basal parts of epithelium of seminiferous tubules was determined. Thus, after injection of placenta there is renewal of cellular composition of spermatogenic epithelium in testes with aseptic inflammation.

**Key words:**  $\lambda$ -caraginen, cryoconserved placenta, aseptic inflammation, testis, spermatogenic epithelium, transplantation of placenta.

### **Вступ**

Чоловіче безпліддя – це захворювання, зумовлене порушенням репродуктивної системи чоловіка, в тому числі генеративної та копулятивної функції. Однією з головних причин чоловічого безпліддя є надто висока чутливість чоловічої статеві системи до дії різних хімічних та фізичних агентів (Быков В.Л., 2000; Возіанов О.Ф. та співавт., 1998). При цьому найбільш ушкоджуваними є генеративні структури сім'яника, які в певних стадіях сперматогенезу реагують на майже незначні зміни навколишнього середовища (Люлько О.В., 2002).

В даний час важливе місце займає розробка нових методів протизапальної терапії шляхом створення і дослідження дії тканинних препаратів, особливо плаценти (Гольцев А.Н. и соавт., 1999; Горпинченко Н.И., 1986). Наявність у плаценті великої кількості біологічно активних речовин

забезпечує значний біостимулюючий ефект цих препаратів. За даними літератури визначений їхній активний вплив на серцево-судинну, ендокринну, нервову системи, на позитивні зміни енергетичного, білкового (активація біосинтезу білка) і інших видів обміну речовин. Вони мають проти-запальну, протипухлинну, імунорегуючу і радіопротективну дію (Грищенко В.И., Гольцев А.Н., 2002).

**Метою** даної роботи було вивчення морфологічних та кількісних змін клітин сперматогенного епітелію при гострому асептичному запаленні при підшкірній трансплантації кріоконсервованої плаценти в ранні терміни вивченого періоду.

### **Матеріал та методи**

Дослідження було проведено на сім'яниках 65 щурів-самців лінії „Вістар”, масою 280-340 грам, (по 5 тварин в групі). Експериментальне асептичне запалення викликали внутрішньочеревним

введенням 5 мг  $\lambda$ -карагінену ("Sigma", США) в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію на 1-у тварину. Карагінен являє собою сульфатизований глікозаміноглікан, який виділений з ірландського морського моху *Chondrus* і використовується, як флогоген. Одноразово тваринам проводили трансплантацію кріоконсервованої плаценти шляхом підшкірної трансплантації її шматочків.

Евтаназія тварин проводилась шляхом передозування кетамінового наркозу на 6, 12, 24 – години, 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у доби після змодельованого асептичного запалення (Александров П.Н., Сперанская Т.В., 1988).

Після евтаназії тварин, шматочки сім'яників, заключали в епон-812 за загальноприйнятою методикою (Грицуляк Б.В., Грицуляк В.Б., 1998). З отриманих блоків готували напівтонкі зрізи за допомогою ультрамікротома УМТП-7, які забарвлювали метиленовим синім. Морфологічну оцінку стану сперматогенного епітелію, кровоносного мікроциркуляторного русла і інтерстиціальної сполучної тканини проводили за допомогою світлового мікроскопу. Мікрофотографування здійснювали на цифровому мікроскопі фірми «BIOREX 3». Статистичну обробку морфометричних даних проводили за допомогою програми Exel.

#### Результати та їх обговорення

Повноцінний сперматогенез забезпечується збалансованою взаємодією між адекватним кровопостачанням, сполучнотканинною стромою і цілісністю базальної мембрани (Данилова Л.В., 1982). Токсичне експериментальне гостре запалення сім'яників, як будь-який патологічний процес має стадійний характер. Переважання альтеративних, ексудативних або проліферативних проявів дає можливість корегувати перебіг його з метою прискорення одужання.

На 1-у та 2-у доби експериментального асептичного запалення в сім'яниках щурів нами визначено: внаслідок порушення мікроциркуляції у венулах і капілярах, виникають повнокрів'я і стаз крові. Просвіт переповнювався форменими елементами крові. Застійні явища в судинах призвели до набряку їхньої стінки. Виражений набряк міжканальцевої сполучної тканини, в якій спостерігалась велика кількість макрофагів, лімфоцитів і плазматичних клітин (на відміну від щурів контрольної групи, в інтерстиції сім'яників яких визначались поодинокі макрофаги) (Рис.1).

Міжклітинні проміжки у базальних шарах сперматогенного епітелію були розширені. Оптичнощільна базальна мембрана добре візуалізувалась на всьому протязі каналців. На 3-тю добу експерименту поступово підсилювалась розрідженість у рядах сперматогоній. Клітини зберігали свою округлу форму, але багато які з них спочатку набухали, а потім набували сплюснену або овальну форму. Відбувалось розширення міжклітинних просторів, накопичення дрібних і великих вакуолей між базальною мембраною звивистого каналця та сперматогоніями (Рис.2).

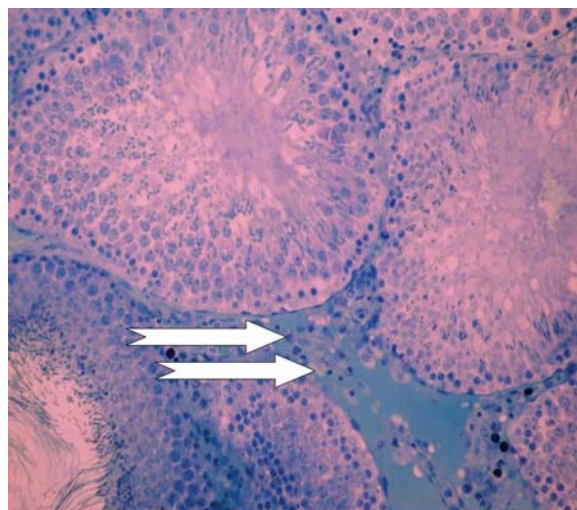


Рис.1. Ексудативна фаза запалення в інтерстиції сім'яників щурів на 1 добу після введення  $\lambda$ -карагінену та трансплантації плаценти. Плазмоцити і макрофаги в інтерстиції. Напівтонкий зріз. Заб. метиленовим синім.  $\times 100$ .

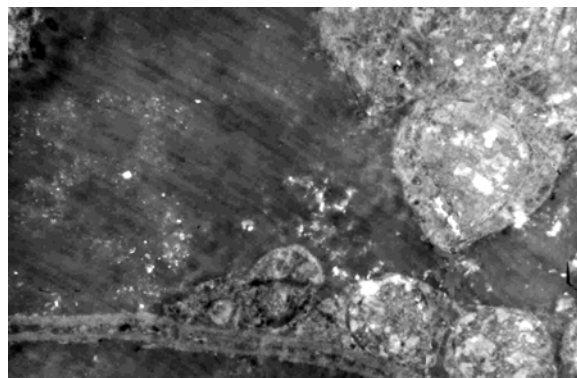


Рис.2 . 2 доба експерименту - потовщення базальної мембрани звивистого каналця та відторгнення клітин сперматогенного шару від базальної мембрани. Електроннограма.  $\times 4000$ .

Висота сперматогенного збільшувалась епітелію ( $65,6 \pm 5,2$  мкм) в зв'язку з діapedезом крові з гемомікроциркуляторного русла і появою вакуолей між базальною мембраною та базальним шаром клітин. (Рис.3). На 5-у добу експерименту визначалось деструкція, дезорієнтація і десквамація сперматид I та II порядку, подекуди до повного відриву сперматогоній від базальної мембрани звивистого каналця. Поява в просвіті каналців «тканинного детриту» з некротизованих клітин сперматогенезу. На 7 добу після початку експерименту явища набряку сполучної тканини зменшувались. Закінчувалась деструкція, десквамація та дисконфлексія сперматогоній, сперматоцитів I і II, сперматид. Подекуди в звивистих сім'яних каналцях виникає розвиток синдрому "одних клітин Сертолі" (Рис.4).

На 10-у добу визначалось поступове відновлення кількості клітинних шарів і суцільності базальних відділів епітелію звивистих сім'яних каналців. Нами визначені морфологічні прояви

прискорення процесів формування, про що свідчила наявність, поряд зі сперматозоїдами, вільних сперматид в просвіті звивистих каналців.

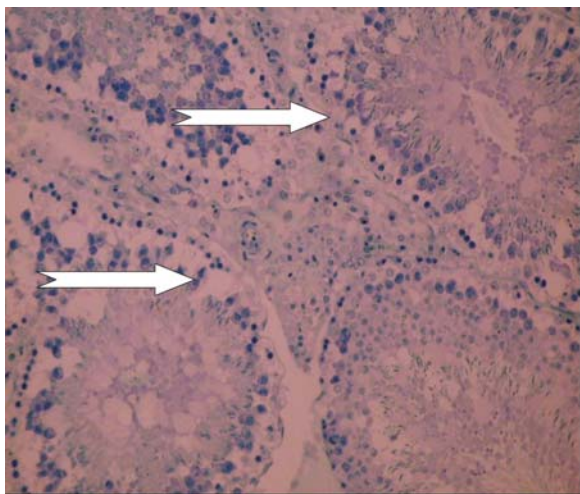


Рис.3. 3 доба експерименту. Відбувається розширення міжклітинних просторів, накопичення дрібних і великих вакуолю між базальною мембраною звивстого каналця та сперматогоніями. Напівтонкий зріз. Заб. метиленовим синім.  $\times 100$ .

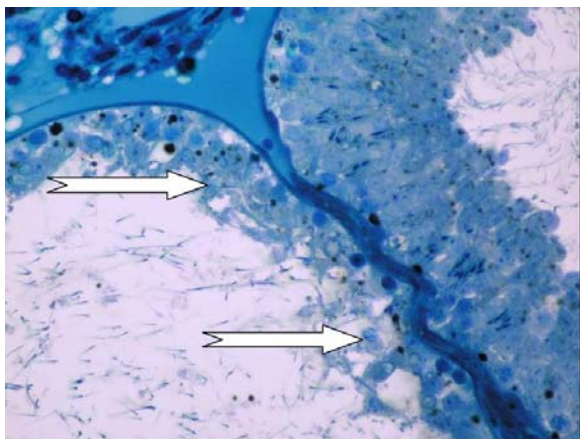


Рис.4. 5 доба експерименту деструкція, десквамація та дисконкомплексія сперматогоній, сперматоцитів I і II, сперматид. Напівтонкий зріз. Заб. метиленовим синім.  $\times 200$ .

### Висновки

Повноцінне кровопостачання відновлювалось на 7-10 добу експерименту, що сприяло нормалізації гомеостазу сполучної тканини і активації проліферації базальних шарів сперматогенного

епітелію.

Починаючи з 7-ї на 10-у доби визначалось поступове відновлення кількості клітинних шарів і суцільності базальних відділів епітелію звивистих сім'яних каналців.

### Перспективи подальших розробок

Подальші дослідження сприятимуть поглибленню уявлень про пошкодження сперматогенного епітелію сім'яників при гострому асептичному запаленні, та послідуною корекцією цього запалення продуктами ембріо-фетоплацентарного комплексу.

### Літературні джерела

Александров П.Н., Сперанская Т.В. Динамика карагиненового запалення в умовах введення оксиду литія // Бюлл. експер. біології і мед.- 1988.- Т.106, №8.- С.233-235.

Быков В.Л. Сперматогенез у чоловіків в кінці ХХ століття: огляд // Пробл. репродукції.- 2000.- №1.- С.6-13.

Возіанов О.Ф., Горпинченко І.І., Малишкін І.Н. Етіологія та патогенез чоловічої неплідності // Сексологія і андрологія.- К.- 1998.- С.3-5.

Горпинченко Н.И. Применение ткани плаценты в лечении половых расстройств у мужчин старшего возраста // Врач. дело.- 1986.- №4.- С.24-26.

Грицуляк Б.В., Грицуляк В.Б. Морфологія яєчка.- Івано-Франківськ: Видавн. Прикарпатського універс. ім. Василя Стефаника "Плай".- 1998.- 131 с.

Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // Пробл. криобиологии.- 2002.- №1.- С.54-85.

Данилова Л.В. Сперматогонии, сперматоциты, сперматиды // Совр. пробл. сперматогенеза.- М.: Наука, 1982.- С.25-72.

Льонько О.В. Механізми чоловічої безплідності після перенесеного гострого неспецифічного епідидимоорхіту // Урологія.- 2002.- Т.6, №4.- С.54-66.

Экспериментальное обоснование возможности применения продуктов фетоплацентарного комплекса (ПФПК) для лечения аутоиммунных заболеваний / Гольцев А.Н., Луценко Е.Д., Дуброва Т.Г. и др. // Иммунология та алергологія.- 1999.- №3.- С.47.

**Шепитько В.И., Стецук Е.В. Динамика ранних сроков острого асептического воспаления семенников под влиянием трансплантации криоконсервированной плаценты.**

**Резюме.** В работе проведено изучение влияния подкожной трансплантации криоконсервированной плаценты на ход экспериментального острого асептического воспаления в семенниках крыс. Исследование было проведено на 65 крысах-самцах линии Вистар. Экспериментальное асептическое воспаление вызывали внутрибрюшинным введением 5 мг (-карагинена ("Sigma Co") в 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Одноразово животным проводили трансплантацию криоконсервированной плаценты путем подкожного введения кусочков. Семенники брали на исследование через 6, 12, 24 часа и на 2-е, 3-и, 5-е, 7-е,

10-е сутки после начала асептического воспаления и на фоне введения плаценты. Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим. Установлено, что на 7-е сутки после начала эксперимента уменьшались явления отека соединительной ткани. Кровоснабжение на уровне микроциркуляции восстанавливалось на 7-10-е сутки эксперимента. К этому сроку также уменьшалась деструкция, десквамация и дисконфлексация сперматогоний, сперматоцитов I и II, сперматид. На 10-е сутки определялось постепенное восстановление количества клеточных слоев и целостности базальных отделов эпителия извитых семенных канальцев. Таким образом, после введения плаценты наблюдается восстановление клеточного состава сперматогенного эпителия в яичках с асептическим воспалением.

**Ключевые слова:**  $\lambda$ -карагинен, асептическое воспаление, яичко, сперматогенный эпителий, криоконсервированная плацента, трансплантация плаценты.