

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

Холодкова Олена Леонідівна

УДК 612.6:614.87:612-092.9

ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕЗУ ПОРУШЕНЬ
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ
САМЦІВ ТА САМОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ТА ЇХ
КОРЕКЦІЯ ЗА ДОПОМОГОЮ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація

на здобуття наукового ступеня

доктора медичних наук

Науковий консультант:

Запорожан Валерій Миколайович,

доктор медичних наук,

професор, академік АМН України

Одеса – 2010

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.	5
ВСТУП.	6
РОЗДІЛ 1 СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ЛЮДЕЙ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ВПЛИВУ ПАТОГЕННИХ ЧИННИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).	13
1.1 Особливості нейроендокринної регуляції репродуктивної системи за умов впливу гонадотоксичних чинників.	15
1.2 Морфофункціональні зміни в гонадах жінок та самок тварин за фізіологічних умов та під впливом різних екзогенних чинників.	31
1.3 Морфофункціональні зміни в гонадах та гаметах чоловіків та самців тварин за фізіологічних умов та під впливом різних екзогенних чинників.	36
1.4 Застосування технологій регенеративної медицини у відтворенні органів та тканин.	45
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.	53
2.1 Лабораторні тварини та моделювання експерименту.	53
2.2 Патоморфологічні методи дослідження.	64
2.3 Культуральні методи дослідження.	68
2.4 Хімічні речовини та лікарські засоби, що використовувалися. .	70
2.5 Методи статистичної обробки інформації.	71

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ
 МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН В РЕПРОДУКТИВНІЙ СИСТЕМІ
 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ВПЛИВУ
 ДОКСОРУБОМІЦИНУ ГІДРОХЛОРИДА ТА ЕКЗОГЕННИХ
 ДОНАТОРІВ ОКСИДУ АЗОТУ 75

3.1 Морфофункціональний стан репродуктивної системи та її
 нейроендокринної регуляції тварин контрольних груп76

3.2 Морфофункціональна характеристика органів репродуктивної
 системи та її нейроендокринної регуляції самок під впливом
 доксорубоміцину гідрохлорида та нітриту натрія 79

3.3 Морфофункціональна характеристика органів репродуктивної
 системи та її нейроендокринної регуляції самців під впливом
 доксорубоміцину гідрохлорида та нітриту натрія 91

РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА СПОСОБІВ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ СТАНУ
 РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ 121

4.1 З'ясування ефектів клітин фетальної печінки при системному
 введенні122

4.2 Дослідження ефектів мезенхімальних прогеніторних клітин. . 132

4.3 Вивчення впливу гранулоцитарного колонієстимулювального
 фактору 138

РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВІНАЙДЕНИХ
 МЕТОДІВ КОРЕКЦІЇ УРАЖЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ . . 148

5.1 Дослідження ефективності гранулоцитарного
 колонієстимулювального фактору та мезенхімальних прогеніторних клітин
 за умов ураження доксорубоміцину гідрохлоридом та нітритом натрія. .148

5.2 Дослідження ефективності ЕКСО, гранулоцитарного колонієстимулювального фактору та мезенхімальних прогеніторних клітин за умов оваріоектомії	180
---	-----

РОЗДІЛ 6 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ . . .	189
--	-----

ВИСНОВКИ ..	212
-------------	-----

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	217
-----------------------------------	-----

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- КФП – клітини фетальної печінки;
МПК – мезенхімальні прогеніторні клітини;
Гр-КСФ – гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор;
ДГ – доксорубоміцину гідрохлорид;
ЕЦ – естральний цикл;
СЕ – сперматогенний епітелій;
ПМФСРС – інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи;
НО – нітрит натрію;
МІ – мітотичний індекс;
СОЯ – супраоптичне ядро;
АЯ – аркуатне ядро;
 $I_{ан}$ – індекс активності нейронів;
АСКП – аутологічні стовбурові клітини-попередники;
ФСГ – фолікулостимулювальний гормон;
ЛГ – лютеїнізуючий гормон;
ГТ-РГ – гонадотропін-релізінг гормон;
АКТГ – адренкортикотропний гормон;
ДДТ – дихлордифенілтрихлоретан;
ГЦ – гуанілатциклаза;
ДЕС – діетилстильбестрол;
СК – стовбурові клітини.

ВСТУП

Актуальність теми. Численні процеси, що забезпечують процес відтворення у ссавців, вивчаються на всіх рівнях організації: з'ясовані молекулярні механізми розвитку статевої системи [1, 2]; встановлені біологічні закономірності статевої диференціації мозку [3]; виявлені основні міжклітинні зв'язки в тих структурах нейроендокринної системи, що залучені до процесів регуляції репродукції [4 – 6]; охарактеризовано значущість галанінової та опіоїдної сигнальних систем в забезпеченні гонадотропної функції гіпофізу [2, 7]; виявлені нейропептиди та нейростероїди, які беруть участь в процесах модулювання гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної вісі [3].

Складність забезпечення взаємодії центральних структур регуляції репродукції з гонадами вимагає проведення детальних досліджень механізмів розвитку змін у всіх ланках репродуктивної системи за умов дії патогенних чинників. Незважаючи на те, що частота безплідних шлюбів досить висока (15-20 %), спостерігається стійка тенденція до її невпинного зростання як в Україні, так і в світі [8, 9]. За статистичними даними розлади репродуктивної функції виявляються у жінок і чоловіків з майже однаковою частотою [10 – 13]. Тільки у 20 % пацієнтів неплідність обумовлена ураженням власне статевих органів [14], в багатьох випадках припускають безпліддя центрального генезу [15 – 17]. Винайдені моногенні дефекти, які призводять до гіпогонадотропного гіпогонадизму [8]; встановлено, що в 5-20 % причиною неплідності у чоловіків є мікрodelеції Y-хромосоми [13]; виявлено, що захворювання на ендометріоз та міому матки призводять до неплідності та невиношування вагітності [18 – 20].

Велике коло сполук, що застосовуються у промисловості (бензол, феноли, нітросполуки фурану, оксиди азоту) збільшує кількість мутацій у

статевих та соматичних клітинах та сприяє виникненню розладів репродукції [11, 12, 21].

За умов демографічної ситуації, що склалася, особливого значення набуває пошук методів відновлення репродуктивної функції. Інтенсивний розвиток нового напрямку медичної науки – регенеративної медицини, що базується на використанні сучасних біотехнологій, створив всі передумови для застосування таких методів, як генна, клітинна та цитокінова терапія в клінічній практиці [22 – 25]. З'ясовано, що генетично обумовлений дефіцит трансформуючого фактору росту β порушує функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної вісі, пригнічує синтез лютеїнізуючого гормону та призводить до зниження продукції тестостерону у самців мишей та порушення естрального циклу у самок [24]. Регенераторний потенціал цитокінів у відновленні різних органів намагаються реалізувати за рахунок використання гранулоцитарного колонієстимулювального фактору, еритропоетину, інтерлейкіну-2 та ін. [26, 27].

Стовбурові клітини мають великий потенціал до зростання і проліферації, виразну здатність до диференціювання; введення клітин можна регулювати за дозами і багаторазово повторювати; ізольовані клітини і тканини краще переносять теплову ішемію і холодову консервацію; вартість клітинної трансплантації значно нижча, ніж трансплантація цілого органу [23]. Широкому впровадженню регенеративних технологій з використанням цитокінів та стовбурових клітин повинно передувати ретельне вивчення біологічних властивостей незрілих клітин, що вводяться в дорослий організм; з'ясування механізмів їх впливу на гомеостаз; відпрацювання винайдених методик в експерименті.

Питання про наявність статевих відмінностей розвитку порушень репродуктивної функції за умов хімічного впливу остаточно ще не з'ясовано. Залишається актуальною проблема пошуку альтернативних терапевтичних стратегій при відновленні морфофункціонального стану

органів статевої системи. Регенераторні властивості цитокінів та прогеніторних клітин потребують всебічного вивчення, а можливість їх застосування при розладах репродукції майже не досліджувалась. Невирішеність цих питань зумовлює необхідність подальших досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана згідно з планом науково-дослідницьких робіт Одеського державного медичного університету (ОДМУ) і є фрагментом комплексних досліджень з тем МОЗ України: «Структурно-функціональні особливості статевої системи експериментальних тварин при дії деяких зовнішніх факторів» (держреєстрація № 0105U008885), «Розробка методів культивування мезенхімальних стовбурових клітин з використанням ряду ростових факторів в експерименті для корекції патологічних станів» (держреєстрація № 0107U008260). Дисертант є відповідальним виконавцем цих тем.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи становить розкриття особливостей патогенезу змін морфофункціонального стану органів репродуктивної системи та гаметогенезу під впливом патогенних чинників у тварин залежно від статі; обґрунтування можливостей корекції виявлених змін.

Відповідно до загальної мети були сформульовані такі *завдання* дослідження:

1. Вивчити вплив доксорубоміцину гідрохлориду на морфофункціональний стан репродуктивної системи самок та самців мишей.
2. Дослідити вплив нітриту натрію на морфофункціональний стан репродуктивної системи експериментальних тварин (самок та самців мишей).
3. Виявити особливості взаємовідносин нейроендокринної та репродуктивної систем за умов дії вищезазначених чинників.

4. Обґрунтувати методи корекції розладів репродуктивної системи експериментальних тварин за умов патогенного впливу.
5. З'ясувати можливості застосування прогеніторних клітин для стимуляції регенераторного процесу за умов токсичного впливу у самців та самок мишей.
6. Дослідити вплив екстракту сої (ЕКСО) на морфофункціональні особливості матки щурів за умов оваріоектомії.
7. Вивчити ефективність експериментальної терапії порушень стану репродуктивної системи тварин за допомогою аутологічних прогеніторних клітин та гранулоцитарного колонієстимулювального фактору.

Об'єкт дослідження: патогенез порушень морфофункціонального стану репродуктивної системи.

Предмет дослідження: особливості морфофункціонального стану репродуктивної системи за умов експериментально індукованої патології та після корекції за допомогою регенеративних технологій.

Методи дослідження: патофізіологічні, гістологічні, гістохімічні, морфометричні, культуральні, цитофлуорометричний, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено особливості морфофункціонального стану репродуктивної системи мишей за умов введення доксорубоміцину гідрохлориду та нітриту натрію залежно від статі. Вперше показано, що доксорубоміцину гідрохлорид (ДГ) викликає пригнічення сперматогенезу та зрушення у перебігу естрального циклу, пригнічення синтетичної активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса, причому у самців цей процес є більш виразним. На підставі отриманих даних був розроблений новий спосіб експериментального моделювання гіпогонадізму (Патент України № 17287 від 15.09.2006 р.). Доведено, що нітрит натрію може справляти двобічну дію на репродуктивну систему як самців, так і самок мишей залежно від введеної дози: стимулювальну – при застосуванні розчину у концентрації

0,03 % та пригнічуючу – при застосуванні розчину в 10 разів вищої концентрації. Вперше досліджено особливості основних патогенетичних ланок виникнення змін репродуктивної системи та її функціонування у самців та самок експериментальних тварин за умов токсичного впливу. Вперше виявлено, що найбільш уразливими мішенями в патогенезі порушень репродуктивної функції зазначеними чинниками у самців є гонади, а у самок – гіпоталамус.

Вперше розроблені методи корекції порушень морфофункціонального стану репродуктивної системи з застосуванням регенеративних технологій – введення аутологічних мезенхімальних прогеніторних клітин, гранулоцитарного колонієстимулювального фактору та екстракту сої (ЕКСО). Вперше показано можливість відновлення структурної цілісності органів репродуктивної системи та нормалізації показників фертильності за допомогою цитокінової та клітинної корекції. Отримані результати дали змогу запропонувати новий метод корекції гіпогонадного стану самців (Патент України № 19093 від 15.12.2006 р.). Вперше вивчені особливості адаптаційної відповіді нейронів ядер гіпоталамуса за умов токсичного впливу та за умов корекції змін, що виникають, введенням мезенхімальних прогеніторних клітин та гранулоцитарного колонієстимулювального фактору

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновані та патогенетично обґрунтовані нові методи експериментального моделювання ураження репродуктивної системи дозволять оптимізувати фундаментальні дослідження патогенезу розладів нейроендокринної регуляції репродуктивної системи. Розроблені і відпрацьовані патогенетично обґрунтовані способи корекції змін у морфофункціональному стані репродуктивної системи та гаметогенезі та показана їх ефективність, що створює підґрунтя для їх застосування в клінічній практиці. Виявлені плейотропні властивості

гранулоцитарного колонієстимулювального фактору можуть бути використані в практиці відділень репродуктивної медицини.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, анатомії людини Кримського державного медичного університету ім.С.І.Георгієвського, загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського державного медичного університету, анатомії людини Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, гістології, цитології та ембріології, анатомії людини ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», гістології, цитології та ембріології Тернопільського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведений патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, визначено мету і завдання дослідження, методичні підходи, відпрацьовані моделі, відповідно до яких особисто виконано переважну частину експериментальних досліджень. Проведено статистичну обробку одержаних результатів, їх оформлення у вигляді таблиць і рисунків, здійснений аналіз, систематизація та узагальнення результатів, сформульовано висновки, опубліковано й апробовано основні положення, написано та оформлено дисертаційну роботу.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дослідження, що включені до дисертації, оприлюднені на міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених «Вчені майбутнього» (Одеса, 2002), сумісному засіданні Tissue engineering society international and the European tissue engineering society (Lausanne, 2004), Установчому з'їзді Українського товариства клітинної біології (з міжнародною участю) (Львів, 2004), міжнародній конференції «Strategies in tissue engineering» (Wurzburg, 2004), II Всесвітньому конгресі з регенеративної медицини (Leipzig, 2005), II міжнародній конференції «Strategies in tissue engineering» (Wurzburg, 2006), V Європейському конгресі з біогеронтології (Istanbul,

2006), науковій конференції «V читання В. В. Підвисоцького» (Одеса, 2006), XXXIV конгресі Європейської асоціації штучних органів (Krems, 2007), III всесвітньому конгресі з регенеративної медицини (Leipzig, 2007), II з'їзді Українського товариства клітинної біології (Київ, 2007), XV Конгресі Європейської асоціації генної та клітинної терапії (De Doelen, Rotterdam, 2007).

Публікації. Результати виконаної дисертації опубліковані в 39 наукових роботах, із них 23 наукові статті у фахових наукових журналах (5 – одноосібно), 1 науково-практичне видання (у співавторстві), 3 патенти України, 12 тез у збірниках наукових праць.

Структура та обсяг дисертації. Матеріал дисертації викладено на 263 сторінках комп'ютерного тексту. Складається із вступу, огляду літератури, розділу «Матеріал та методи дослідження», 3 розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел. Дисертація ілюстрована 41 рисунком та 70 таблицями. Перелік використаних джерел містить 416 найменувань, із них – 285 зарубіжних.

РОЗДІЛ 1

СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ЛЮДЕЙ ТА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ
ТВАРИН ЗА УМОВ ВПЛИВУ ПАТОГЕННИХ ЧИННИКІВ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Репродукція – процес, що забезпечує створення нових індивідів живими істотами, зберігаючи основні ознаки виду, до якого належать [28]. Це передбачає рівновагу між двома протилежними тенденціями: стійкості ознак, що зберігають єдність виду протягом поколінь, та еволюції під впливом умов середовища, що забезпечує пристосування в цілях виживання. У філогенезі рівновага «стійкість – пристосування» досягається різними засобами; при цьому спостерігається виникнення механізмів, які з одного боку збільшують стійкість і усувають ефекти факторів, що її порушують, а з іншого боку роблять можливим подальше зберігання набутих ознак, що мають пристосувальну перевагу по відношенню до середовища. Наявність у клітині двох алелів з кожного гену хромосом пари є найвищим ступенем еволюції репродукції, оскільки з двох генів-алелів лише той, що домінує, буде відображений в фенотипі. Однак, у більшості випадків, мутантні гени рецесивні, і існують в фенотипі лише в гомозиготному стані. Виходячи з цього, для виду диплоїдизм – механізм стабілізації по відношенню до ефекту мутації, але в цей самий час він гальмує еволюцію, оскільки на шляху сприятливих мутацій з'являються такі ж самі труднощі для відображення у фенотипі. Ось чому в багатоклітинних організмах диплоїдність супроводжується виникненням мейозу, внаслідок чого геном розподіляється по спеціалізованих клітинах – гаметах. Процес утворення гамет у диференційованих органах – гонадах – становить основу виникнення статевої диференціації; їх злиття відновлює диплоїдний хромосомний набір у заплідненій яйцеклітині [29].

Існують види, в яких у нормальних умовах виживання забезпечене партеногенезом, тобто відновленням без участі самців [30]. В окремих хребцевих відмічають наявність обох типів гонад у вигляді синхронного або протогинного асинхронного гермафродитизму. Однак у більшості хребцевих, кожний індивід має лише одну категорію гонад – чоловічого або жіночого типу. Довгий час вони зберігають функціональну здатність, що забезпечує утворення кількості гамет достатньої для продовження виду. У цих видів кількість індивідів жіночої та чоловічої статі приблизно однакова, оскільки в генетичній детермінованості статі беруть участь лише один ген або група генів; отже, їх однаковий розподіл у нащадків розглядається як найбільш точний та надійний спосіб [28, 31].

У зменшенні кількості яйцеклітин та об'єму живильного матеріалу, що вони містять, спостерігається прогресивна еволюція тварин. Внаслідок цієї тенденції прогресивно виникають наступні пристосування:

- чіткий контроль овуляції за часом з метою забезпечення максимальної можливості запліднення;
- внутрішнє запліднення, що передбачає відрегульовані зміни соціального життя і статеву сприйнятливність (естральний цикл);
- живонароджуваність, що означає тимчасову затримку зародка і плода в організмі матері;
- розвиток спеціалізованих органів обміну, яких вимагає живонароджуваність, – позазародкові оболонки та плацента;
- виникнення ендокринних функцій плаценти у зв'язку з більш тривалою вагітністю для забезпечення її гормонального контролю, становлення лактації та материнської поведінки – механізмів фізичної надійності та повноцінності харчування новонародженого [29].

У разі наступання вагітності статеві функції забезпечує формування комплексу зрушень, що характеризують функцію репродукції. Такі відмінності є дійсними тільки для самок, у яких прояви, що вони пов'язані зі статевою функцією, відрізняються циклічністю, біологічне значення якої

– економічність, оскільки підготування до стану вагітності вимагає значної витрати енергії.

У самців статеві і репродуктивні функції збігаються, тому як протягом філогенезу сформувалося менше пристосувальних механізмів, у той самий час витрати на репродукцію залишаються великими. Цей факт проявляється неритмічністю статевої діяльності в період зрілості і великою кількістю сперматозоїдів, що виділяються у порівнянні з тим невеликим числом, що потрібне для виконання ефективної ролі в процесі продовження виду шляхом запліднення яйцеклітини [28].

Процес репродукції у людини регулюється складними нейроендокринними механізмами [1, 2, 32, 33]. Нещодавно нервову та ендокринну системи сприймали і вивчали як абсолютно ізольовані одна від одної. Кожну з них вважали унікальною, необхідною для нормального існування живого організму, кожній відводили особливе місце в підтримці гомеостазу, а також в адаптації до умов довкілля [3, 33 – 35].

Вперше ідея про можливий зв'язок нервової та ендокринної систем виникла, коли було виявлено секреторну активність нейронів гіпоталамусу, і вказане припущення про те, що речовини, які вони синтезують, активно впливають на функцію гіпофіза. Пізніше було встановлено, що нейросекрети гіпоталамуса надходять до передньої долі гіпофізу васкулярним шляхом – через портальну систему, а в задню долю – прямим шляхом через нервові волокна [36].

1.1 Особливості нейроендокринної регуляції репродуктивної системи за умов впливу гонадотоксичних чинників

Нейроендокринна система відіграє ключову роль у регуляції фундаментальних процесів життєдіяльності організму, до яких належать індивідуальний розвиток, репродуктивна функція та адаптаційні реакції на зрушення гомеостазису і подразники оточуючого середовища. Розлади

систем «гіпоталамус-гіпофіз-гонади» та «гіпоталамус-гіпофіз-надниркові залози» призводять до таких тяжких наслідків, як неплідність, патологічна вагітність, збочення статевої поведінки, хвороба Іценка-Кушинга, дістресс-синдром, зменшення адаптаційних можливостей організму тощо [3].

Гіпоталамічні механізми гомеостатичних реакцій забезпечують регуляцію таких життєво важливих констант, як осмотичний тиск, іонний баланс, гуморально-гормональна активність крові, вміст цукру і концентрація газів у крові, та ін. [36 – 38]. При дослідженні нейрохімічної організації різних регіонів гіпоталамусу методами біохімічного, гістохімічного, авторадіографічного, електронно-мікроскопічного й нейрофізіологічного аналізу встановлена локалізація цілої низки нейропереносників та ферментів їх синтезу і розпаду. Відомо, що великі нейросекреторні клітини супраоптичного та паравентрикулярного ядер переднього гіпоталамусу головного мозку продукують нонапептидні нейрогормони – вазопресин і окситоцин, які током аксоплазми транспортуються до терміналів аксонів гіпоталамо-гіпофізарного тракту, і при генерації потенціалів дії виділяються нейрогіпофізом [32, 36]. Дослідженням регіонального розподілу вазопресину і окситоцину встановлена наявність цих гормонів і в області серединного підвищення, супрахіазматичного, аркуатного, преоптичного ядер гіпоталамусу [36, 37]. Вірогідно, в цих структурах вони виконують роль рилізінг-гормонів. Встановлено також, що аркуатне ядро та ділянка серединного підвищення продукують та секретують гонадотропін-рилізінг-гормон (ГтРГ). ГтРГ зв'язується зі специфічними рецепторами на гонадотропних клітинах аденогіпофіза та стимулює синтез і секрецію лютеїнізуючого (ЛГ) та фолікулоstimулювального (ФСГ) гормонів [33].

Виходячи з наведеного, представляється доцільним вивчити процеси синтезу і виведення нейросекрету в гіпоталамусі, обравши у якості об'єктів дослідження супраоптичне і аркуатне ядра. Ці регіони гіпоталамусу вельми

легко верифікуються на мікропрепаратах, містять нейросекреторні нейрони, і відіграють важливу роль в організації гомеостазу організму.

Статева функція складається з сукупності морфологічних, фізіологічних та поведінкових пристосувань, що надає можливість репродукції [3]. В її основі полягає статеву диференціація, що є генетично детермінованою.

Репродукція – результат активності гонад, причому в період статевої зрілості вона передбачає з одного боку виділення різних гамет в чоловічому і жіночому організмі, та з іншого – синтез і секрецію гормонів, під впливом яких створюються оптимальні умови для запліднення. Вже на початкових стадіях індивідуального розвитку проявляють свою активність гонадні гормони. Під впливом цих гормонів здійснюється диференціація внутрішніх та зовнішніх статевих органів [3, 36]. У період зрілості за фізіологічних умов стає можливою репродукція. Фізіологія репродуктивної функції передбачає наявність трьох компонентів циклічних змін: 1). У системі гіпоталамус – гіпофіз – гонади; 2). У гормонально залежних статевих органах; 3). У функціональному стані нейроендокринної, серцево-судинної та інших регуляторних систем організму.

Основні центральні зони регуляції репродуктивної системи представлені медіально-преоптичною ділянкою та вентромедіальними ядрами медіобазального комплексу гіпоталамуса [3, 32]. Вони мають чутливість до екстеро- та інтероцептивних стимулів, у той час як гіпоталамус разом з гіпофізом утворює анатомічну і функціональну одиницю, що реагує на внутрішні стимули. Гормональний вплив здійснюється рівнем статевих стероїдів гонад, що замикають регуляторний ланцюг механізму зворотного зв'язку і впливають на гіпоталамо-гіпофізарні структури. Однак, гормони інших залоз внутрішньої секреції, зокрема такі, що синтезує кора надниркових залоз, впливають на секрецію та дію стероїдів в органах-мишенях [39].

За результатами експериментів із застосуванням електричного збудження, вживанням гормонів або введенням фармакологічних препаратів можна стверджувати, що у лабораторних ссавців гіпоталамус представляє собою центральну ланку нейрофізіологічних механізмів, що вони залучені в статеву поведінку [40, 41]. При порушенні функції або ураженні переднього гіпоталамуса, функція гіпофіза залишається недоторканою, але в подальшому не здійснюється інтеграція внутрішніх та зовнішніх, емоційних, гіпоталамічних, лімбічних сенсорно-мотиваційних стимулів. Оскільки регуляцію гонадотропної функції і опосередковано трофіку гонад контролює медіобазальний відділ гіпоталамуса, його ураження викликає атрофію статевих залоз і статевого шляху, у зв'язку з чим з часом статева поведінка згасає [42].

Суттєву роль у нейроендокринній регуляції репродуктивної функції відіграє епіфіз, який синтезує поліпептиди, що мають антигонадотропну активність [43]. Добові коливання рівня основного гормону епіфізу – мелатоніну в сироватці крові демонструють залежність його синтезу від світла [44]. Подовження світлового періоду стимулює розвиток статевих органів, в той час як постійна або тривала темрява оказує протилежний вплив, затримуючи статеве дозрівання препубертатних тварин і пригнічуючи репродуктивну функцію дорослих тварин. Експериментальне хірургічне руйнування шишкоподібної залози призводить до розвитку гіпертрофії яєчок, збільшення маси передміхурової залози і сім'яних пухирців [43, 45].

Загально визнаною є наявність кореляції між функціонуванням надниркових залоз і гонадами, що обумовлене певною мірою одним зародковим походженням та однаковими метаболічними шляхами продукції активних андрогенів. Саме стероїдні статеві гормони надниркових залоз викликають виникнення вторинних статевих ознак і настання статевої зрілості [33].

Експериментальні дані свідчать про те, що один з гормонів нейрогіпофіза — окситоцин – стимулює рух сперматозоїдів протоками статеві системи [46]. Крім того, на ізольованих над'ячках продемонстровано здатність окситоцину та вазопресину регулювати скорочувальну активність придатку яєчок. Застосування великих доз окситоцину надає довготривалий стимулювальний вплив на сперматогенез [47], збільшуючи продукцію сперматозоїдів шляхом підвищення мітотичної активності. Стимулювальний вплив окситоцину на яєчка і статеву функцію можна віднести за рахунок активації NO-синтази в допамінергічних нейронах, що, в свою чергу, активізує гуанілатциклазу, підвищуючи, таким чином, вміст цГМФ [48, 49].

Беручи до уваги той факт, що багаточисленні дослідження механізмів менструального циклу проводилися на ссавцях, що знаходяться рангом нижче за приматів, вважаємо за необхідне порівняти схеми менструального (МЦ) і естрального циклів (ЕЦ). Протягом МЦ в ендометрії відбуваються процеси десквамації та проліферації, які за суттю збігаються з фазами дієструсу та проєструсу ЕЦ експериментальних тварин, при цьому секреторній фазі МЦ відповідають стадії еструсу та метеструсу ЕЦ, що свідчить про збіг тічки з овуляторною фазою.

Індивідуальний розвиток організму, починаючи з заплідненої яйцеклітини і закінчуючи зрілістю, відбувається внаслідок послідовної експресії генів [3, 28, 50]. Їхня активація чи репресія складає сутність імпринтингу, тобто незворотної модифікації властивостей, відповідно до якої відбувається програмування морфогенезу, структурна та функціональна диференціація клітин. Хоча онтогенетичні процеси первинно детерміновані генетичною програмою, вони значною мірою здійснюються під впливом чинників мікрооточення клітин, до яких належать гормони, цитокіни, нейротрансміттери, нейропептиди, продукти клітинного метаболізму, численні пара- та автокринні регулятори. Саме ці фізіологічно активні речовини здійснюють у ранньому онтогенезі

модифікацію специфічних властивостей клітин, програмують їхню диференціацію та певний рівень реактивності, тобто чутливість до фізіологічних подразників.

Наслідки імпринтингових процесів мають переважно функціональні прояви. Як приклад, можна послатися на статеву диференціацію мозку та її порушення у плоду або новонародженого під впливом гормонального дисбалансу [3, 50, 51] (рис. 1.1.1). Ці порушення виявляються у вигляді аномальної статевої поведінки та ановуляторної неплідності лише після досягнення статевої зрілості.

Перинатальні чинники

- Стрес: кортикостероїди, нейротрансміттери, нейрогормони.
- Природні та синтетичні глюкокортикоїди.
- Статеві гормони: андрогени, естрогени.

Нейрохімічні системи мозку

- Рецептори стероїдних гормонів (зміни синтезу).
- Нейротрансміттери та нейрогормони: норадреналін, дофамін, серотонін, ацетилхолін, опіоїди (зміни синтезу, метаболізм, рецепція).
- Специфічні білки (зміни синтезу, фосфорилування).

Рисунок 1.1.1. Віддалені наслідки впливу перинатальних чинників на мозок.

У самок ріст та дозрівання первинних фолікулів регулюється фолікулостимулювальним гормоном (ФСГ), рівень якого зростає в перші дні оваріально-менструального циклу, та естрогенами, концентрація яких збільшується по мірі розмноження фолікулярних клітин, і контролюється лютеїнізуючим гормоном (ЛГ) [33, 35]. ФСГ зв'язується з рецепторами клітин гранульози та забезпечує зростання фолікула шляхом стимуляції

проліферації, секреції естрадіолу та гальмування апоптозу, стимулюючи експресію внутрішньоклітинних антиапоптотичних протеїнів XIAP та FLIP [52]. Крім того, важливу роль у контролі росту та атрезії фолікулів відіграють внутрішньооваріальні регулятори – TGF- α та TNF- α .

Секреція ФСГ і ЛГ гіпофіза регулюється гонадотропін-релізінг гормоном (ГТ-РГ) гіпоталамусу [35]. Після овуляції в яєчнику розвивається додаткова ендокринна залоза – жовте тіло, що виділяє простагландини і стає основним джерелом прогестерону.

Вже кілька десятиліть відомо, що для виконання нормальної репродуктивної функції необхідний інтегративний нервовий та гуморальний контроль [33]. Підтвердженням ролі ЦНС в інтеграції внутрішніх та зовнішніх стимулів є генерація (по відношенню до репродуктивної системи) в певний час сигналів гіпофіза до свого ефекторного органу з тим, щоб викликати циклічну секрецію гонадотропінів [53]. У провідній ролі ЦНС можна переконатися на прикладі руйнівної дії зовнішнього стресу на нормальний ритм репродуктивних процесів [54 – 56]. У складній ієрархії нейроендокринної регуляції репродуктивної системи існує п'ять центральних і периферичних рівнів регуляції, які взаємодіють за принципом прямих і зворотних зв'язків [32, 57, 58].

До I рівня регуляції належать тканини-мішені (статеві органи, молочні залози, волосяні фолікули, шкіра, кістки, жирова тканина). Клітини цих органів і тканин-мішеней мають рецептори статевих стероїдних гормонів (естрадіолу, прогестерону, тестостерону).

На I рівні найвиразніші циклічні зміни відбуваються в ендометрії: підготовка до менструації або імплантації.

II рівень регуляції репродуктивної системи – яєчники. У першій фазі відбувається розвиток фолікулів, у другій – формується жовте тіло.

III рівень регуляції – аденогіпофіз, у якому здійснюється секреція гонадотропінів (лютропіну, фолітропіну, пролактину) та інших тропних

гормонів. Фолітропін і лютропін стимулюють ріст фолікула, синтез стероїдів і дозрівання яйцеклітини. Підвищення рівня естрадіолу в преовуляторному фолікулі спричиняє викид лю- і фолітропіну та овуляцію. Під впливом лютропіну утворюється прогестерон. Пролактин стимулює ріст молочних залоз, процеси лактації.

IV рівень регуляції – гіпоталамус. У нейронах гіпоталамуса відбувається пульсуюча секреція ГТ-РГ. ГТ-РГ надходить до портальної системи і з кров'ю переноситься до аденогіпофіза. Зміни рівнів фолі- і лютропіну відбуваються під впливом позитивного зворотного зв'язку між концентрацією циркулюючих естрогенів і прогестерону та гіпофізом, що, у свою чергу, викликає відповідь гіпоталамуса.

Секреція гонадоліберинів перебуває під впливом нейромедіаторів: допаміну, норепінефрину, β -ендорфінів, вміст яких також залежить від рівня естрогенів і прогестерону). Тому лікарські засоби, які впливають на метаболізм нейротрансмітерів, можуть впливати на секрецію гонадоліберинів (метилдопа, резерпін, антидепресанти).

V рівень регуляції – надгіпоталамічні структури головного мозку, що є кінцевою частиною інтегративного контролю циклічної функції яєчників.

У процеси регуляції репродуктивної функції та системи її контролю залучені інші залози внутрішньої секреції – щитовидна, надниркові залози та ін. [33]. Позагональні гормони впливають модульовально на центральний апарат, що регулює активність статевих залоз. У свою чергу статеві стероїди також впливають на секрецію та активність залоз внутрішньої секреції. При цьому можна виділити два основні типи гормональних взаємовідносин: безпосередня взаємодія адренокортикальних і тиреоїдних гормонів та нейрогормонів задньої долі гіпофіза зі стероїдами яєчників; до другого типу відносять гормони, що не мають безпосереднього зв'язку з гормонами гонад, але їх виділення та активність модулюється внаслідок метаболічних змін, спричинених дією статевих гормонів. Окремі автори [59] розглядають статеву зону кори надниркових залоз як «третю гонаду»,

що виконує важливу компенсаторну роль в гомеостазі статевих стероїдів, про що свідчить її виражений розвиток у внутрішньоутробному періоді, при настанні статевої зрілості, в період вагітності, а також при менопаузі та клімаксі, тобто коли існує необхідність підвищеної потреби в статевих гормонах, а статеві залози знаходяться в стані зниженої функціональної активності.

Як показали дослідження [32], після видалення надниркових залоз тварини виживають, на відміну від експериментів, де, крім надниркових залоз, також видаляли яєчники, і тварини швидко вмирали, що свідчить про замісний ефект статевих гормонів; відсоток виживання серед самок був вищий ніж серед самців, що виявляє більш важливу роль яєчників у даному процесі. Потенційну роль у заміщенні кортикостероїдів відіграють прогестерон та тестостерон у зв'язку з їх анаболічними ефектами. Естрогени підсилюють синтез кортикостероїдів у тканині надниркових залоз, та опосередковано, через контроль гіпоталамо-гіпофізарної системи, обумовлюють зростання вмісту АКТГ в гіпофізі [33, 40]. Спостерігається підсилення активності кори надниркових залоз у жінок у другій фазі менструального циклу, що обумовлене, з одного боку підвищенням кількості прогестерону в крові, а з другого – підвищенням затримання кортикальних гормонів тканинами-мішенями, причому обидва механізми знаходяться під впливом естрогенів.

Гормони кори надниркових залоз впливають на функцію гонад за допомогою регуляції гіпоталамо-гіпофізарної вісі, змінюючи аденогіпофізарний дебіт гонадотропінів [33].

Щитовидна залоза характеризується багаточисленними взаємозв'язками з окремими процесами, що забезпечують репродуктивну функцію, і в свою чергу, знаходиться під впливом статевих гормонів, зокрема у жінок [33]. Статеві гормони змінюють функцію щитовидної залози на різних рівнях. Естрогени мають сильний стимулюючий ефект, сприяючи росту епітелію тиреоїдних фолікулів. Гормони щитоподібної

залози впливають як на соматичний і статевий розвиток, так і на функцію репродукції обох статей. Дія тиреоїдних гормонів на репродуктивні органи здійснюється двома шляхами: постійним контролем через аденогіпофіз і безпосереднім впливом на гонади [57]. Доведено, що тироксин і трийодтиронін стимулюють відновлення андростендіону в 5 α -андростендіон і тестостерону в його відновлений метаболіт – дигідротестостерон, що активно впливає на андрогензалежні органи [55]. Первинний гіпотиреоз може спричинити дострокове статеве дозрівання у підлітків[33], або викликати аменорею, галакторею у дорослих жінок [57].

Регуляція репродуктивної системи у чоловіків здійснюється тими ж структурами і за допомогою тих самих гормонів, що й у жінок: ГТ-РГ стимулює синтез аденогіпофізом гонадотропінів ЛГ та ФСГ, а ті, в свою чергу, регулюють утворення статевих клітин – гамет, синтез андрогенів і естрогенів, діючи на клітини-мишені в гонадах [60, 61]. Тестостерон та інші статеві стероїдні гормони регулюють секрецію гонадотропінів і репродуктивну поведінку. Багаточисленні дослідження встановили важливу роль медіобазального гіпоталамуса в контролі тоничної секреції гонадотропінів. Руїнування аркуатного ядра призводить до зниження секреції ЛГ і тестостерону та атрофії яєчок [33]. Ця частка гіпоталамуса містить групи пептидергічних нейронів, що здатні виділяти ГТ-РГ. Така пептидергічна система пов'язана з багатьма відділами ЦНС, які регулюють синтез і визволення ГТ-РГ.

Дія ЛГ на синтез і секрецію тестостерону починається із зв'язування рецепторами, що є специфічними для ЛГ, на мембрані клітин Лейдига [62]. Внаслідок взаємодії гормон-рецептор стимулюється мембранна аденілатциклаза, яка каталізує синтез цАМФ, рівень цАМФ в клітині підвищується, і коли він сягає 10 % спостерігається максимальна продукція тестостерону. На гіпофізектомованих тваринах виявлена можливість прямого впливу ГТ-РГ на яєчки (а не тільки опосередковано через ЛГ) [61].

Швидкість синтезу та секреції тестостерону клітинами Лейдига головним чином залежить від рівня ЛГ в крові [33, 59]. Підсилення секреції ЛГ викликає гіпертрофію клітин Лейдига і підсилення секреції тестостерону, а зниження рівня ЛГ призводить до зворотного ефекту. У свою чергу секреція ЛГ відповідно контролюється статевими стероїдними гормонами, що діють на ЦНС і аденогіпофіз за механізмом «зворотного зв'язку». Падіння рівня тестостерону призводить до викиду ЛГ до крові, це стимулює клітини Лейдига; підсилена секреція тестостерону в свою чергу пригнічує секрецію ЛГ. Таким шляхом функціональна система гіпоталамус-гіпофіз-клітини Лейдига підтримує відносно постійний рівень тестостерону в крові [33, 61, 63].

У людини та інших ссавців зміни сперматогенного епітелію протягом утворення сперматозоїдів обумовлюють сперматогенез та цикл сім'яного епітелію [59]. У процесі сперматогенезу відбувається розвиток і диференціація клітин, починаючи від сперматогоній до сперматозоїдів. На першому етапі – сперматоцитогенез – відбувається проліферація сперматогоній, а на другому – сперміогенез – сперматоцити двічі діляться з редукцією кількості хромосом і утворенням зрілих гамет – сперміїв. Цикл сперматогенного епітелію включає в себе гістологічні зміни, що відбуваються на всьому протязі сім'яного каналу, і відображує повні набори послідовних клітинних асоціацій, які виникають у тій чи іншій зоні каналців. Незважаючи на уявну неорганізованість, різні клітинні покоління проявляють тенденцію групуватися в шість (для людини) чи більше (для щурів та мишей - 14) характерних клітинних об'єднань за морфологією ядер сперматоцитів та сперматид і локалізацією диференційованих клітин в каналці. Тривалість і особливості сперматогенезу дають змогу судити про ефективність терапії неплідності у чоловіків [59].

Як зовнішня, так і внутрішня секреція чоловічих гонад знаходяться під безпосереднім контролем гіпоталамо-гіпофізарної системи, що діє за

механізмом зворотного зв'язку [33]. Для сперматогенезу необхідними є ФСГ та ЛГ. Відомо, що дія ЛГ опосередковується через тестостерон. Таким чином, на сім'яні каналці безпосередньо впливає ФСГ і тестостерон. Слід зазначити, що ініціація та підтримка сперматогенезу знаходяться під контролем різних незалежних механізмів. Для ініціації сперматогенезу необхідні як тестостерон (або ЛГ), так і ФСГ. Коли гермінативний епітелій вже підготовлений, продукція сперми може підтримуватися тільки тестостероном, наприклад, у гіпофізектомованих тварин за умов введення тестостерону відразу після гіпофізектомії [61, 64]. Якщо час був втрачений і сперматогенний епітелій підлягав регресу, для початку сперматогенезу необхідне сумісне введення тестостерону і ФСГ [60, 61].

Для забезпечення рухливості сперматозоїдів необхідна низка факторів: білковий фактор рухливості [65], цАМФ [66], Ca^{2+} [67], катехоламіни [60], протеїнкарбоксиметилаза [68].

В останні роки у довіллі суттєво зріс вміст хімічних речовин, які негативно впливають на репродуктивну систему і ембріогенез [69, 70]. В Україні щорічно народжується 45 тисяч дітей з вродженими аномаліями розвитку, що має негативний вплив на темпи зростання населення країни [70, 71]. Серед багаточисленних факторів довілля, які діють на плід, що розвивається, важлива роль належить хімічним сполукам [11, 12, 72]. Деякі хімічні сполуки, не впливаючи в певних дозах на загальний стан організму, можуть викликати патологічні порушення в гонадах протягом ембріогенезу. У таких випадках вважають, що вони мають специфічну дію на генеративну функцію, тому важливо одночасне вивчення загально токсичних властивостей сполук та їх особливих ефектів [73].

Розлади репродуктивної функції можуть бути наслідком впливу хімічних речовин, що мають гормоноподібні властивості [74 – 77]. Головна роль в індукції гормоноподібних ефектів належить ксеноестрогенам навколишнього середовища. Здебільшого це індустриальні або

агропродукти: пестициди, пластифікатори, фармацевтичні речовини і харчові добавки. До них відносять і фітоестрогени, виявлені в деяких рослинах [78 – 80]. Звичайно, дія естрогеноподібних речовин на дорослий жіночий організм не завжди проявляється ушкодженням гормонозалежних тканин, у той час як хронічний довгостроковий вплив низьких доз цих речовин може сприяти виникненню серйозних порушень у функціонуванні репродуктивної системи. В основному це стосується випадків, коли дія хімічних агентів припадає на внутрішньоутробний період, період дитинства і статевого дозрівання [10, 81 – 83].

До сполук, що беруть участь у стійкому забрудненні оточуючого середовища, належать пестициди. Діюча речовина пестициду та продуктів його трансформації можуть надходити в організм щодня, протягом всього життя людини, викликаючи несприятливий вплив у даній та наступній генераціях [84 – 86]. Одним із небажаних бічних ефектів пестицидів при дії на нецільові об'єкти є їх репродуктивна токсичність для ссавців, в тому числі й для людини. Порушення репродуктивної функції у людей внаслідок шкідливого впливу пестицидів різноманітне, і включає такі розлади, як зниження фертильності, імпотенція, менструальні дисфункції, мимовільні викидні, погіршення сперматологічних показників і генетичні порушення, що впливають на нащадків [87, 88]. Ці органічні сполуки подібні за хімічною будовою до гормонів, що обумовлює здатність їх молекул зв'язуватися з транспортером, рецептором чи ферментом метаболізму ядерних гормонів [89 – 92]. Отримано дані щодо затримки статевого дозрівання, альгодисменореї у дівчаток, що проживають на забрудненій пестицидами (дихлордифенілтрихлоретан - ДДТ, фозалон, метоксихлор) території [70, 90, 93].

Результати співставлення мутагенного потенціалу пестицидів та їх метаболітів показали, що в процесі метаболічних перетворень можуть утворюватися сполуки, які відрізняються від первинних сполук за генетичною активністю [94]. При обстеженні професійних контингентів,

що контактують з пестицидами, крім аберацій хромосом, виявили підвищення частоти аномалій сперматозоїдів та анеуплоїдій У-хромосоми в сперматозоїдах [95].

Експериментальні дослідження показали високу чутливість плодів чоловічої статі до хемостериланту диматифу. У таких плодів значно зменшується маса тіла, а половина з них має одну чи кілька аномалій розвитку [96].

Глобальні зміни хімічного складу оточуючого середовища за рахунок надходження в біосферу значної кількості ксенобіотиків стають фактором відбору, який характеризується швидким зростанням інтенсивності тиску і різноспрямованістю дії. Останнє обумовлене різноманітністю хімічних сполук, забруднювачів та їх реакцій з біологічними системами. Генотипова адаптація до хімічних факторів супроводжується дестабілізацією генофондів популяцій [31]. Якісні зміни генофонду людини в результаті втрати алелів, що відповідають за чутливість до тих чи інших ксенобіотиків, можуть мати непередбачені наслідки, і відобразитися на тривалості життя, загальної реактивності, життєздатності – параметрах, що знаходяться під генетичним контролем. Висока швидкість адаптації до нових хімічних факторів може бути забезпечена дією відбору в період гаметогенезу.

Актуальність вивчення впливу нітратів і нітритів на організм пояснюється їх високою питомою вагою в забрудненні навколишнього середовища [98, 99].

Тривалий час оксид азоту був відомий тільки як токсичний газ, що міститься в атмосфері, має канцерогенну дію і руйнує озоновий шар [100]. Дослідження останнього десятиріччя у галузі судинної фізіології, біохімії, фармакології показали, що ця високотоксична (у великих дозах) речовина має широкий спектр біорегуляторної дії, якщо її використовувати в помірних кількостях. Виявлено, що оксид азоту відіграє роль між- та внутрішньоклітинного вторинного месенджера, який регулює різноманітні

функції організму, у тому числі системний артеріальний тиск і мозковий кровообіг [101]. У літературі останніх років NO розглядається як можливий фактор регулювання діяльності ЦНС. Це обумовлено високою дифузійною здатністю NO, що надає йому можливості виступати у якості трансмітеру, який бере участь у швидкому здійсненні взаємозв'язку між постсинаптичними і пресинаптичними ділянками нейронів [102 – 104]. Крім того, оксид азоту як месенджер може модулювати активність нейромедіаторів, а той факт, що найбільш високою активністю NO характеризується ділянка гіпоталамусу, дозволяє припустити його активний вплив на гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему, з можливістю участі в гомеостатичних реакціях організму. Відомо також, що NO як ендотелійрелаксуючий фактор бере участь в кисневому та субстратному забезпеченні діяльності мозку [102, 103]. На цей час показана активна роль NO в реалізації механізмів постнатального розвитку репродуктивної системи [105] і в організації функціонування ЦНС.

Діючи в стандартних умовах NO активує клітинний фермент гуанілатциклазу (ГЦ), що призводить до утворення циклічного гуанозинмонофосфата (ц-ГМФ), який викликає всі ефекти NO: вазодилатацію, нейротрансмісію, зниження агрегації тромбоцитів, участь в реакціях імунної системи, регуляцію тонуусу гладеньких м'язів та ін. [106, 107]. В організмі NO синтезується клітинами з амінокислоти L-аргініну (ендогенного донатору оксиду азоту). Цей процес каталізується ферментом NO-синтазою (NOS). Рівень вмісту NO в організмі, і ступінь його впливу на протікання процесів життєдіяльності пов'язані не тільки з інтенсивністю його регіонального синтезу, але й з активністю відновлення з нітрит-аніону (NO_2^-), оскільки доведена участь NO в циклічних взаємоперетвореннях з іншими нітросполуками у випадках функціональних обтяжень і патологічних станів [108 – 110].

До екзогенних донаторів оксиду азоту належать будь-які нітрити та нітрати, що знаходяться у зовнішньому середовищі й потрапляють в

організм людини з водою, їжею та повітрям. Деякі з них застосовують у клініці як терапевтичні засоби [111, 112]. Одним з екзогенних донаторів оксиду азоту є нітрит натрію (NaNO_2).

У порушенні функцій репродуктивної системи велику роль відіграє фармакотерапія, а саме її небажані ефекти. За даними деяких авторів [113, 114] частота бічних ефектів при застосуванні різних груп лікарських препаратів становить від 3 % до 17 %, причому тенденції до зменшення не спостерігається. Так, протипухлинні препарати пошкоджують сперматогенний епітелій, що призводить до ізольованої азооспермії й неплідності. Однак, часто після протипухлинної терапії з'являються також симптоми, що їх обумовлює порушення функції або ушкодження клітин Лейдига [115, 116].

Розповсюдженим протипухлинним антибіотиком є доксорубоміцину гідрохлорид. Особливістю його фармакологічних властивостей являється швидка проникність у клітини і взаємодія з ДНК [117]. При цьому порушується синтез нуклеїнових кислот, мітотична активність гальмується, підвищується вірогідність виникнення хромосомних аберацій та імуносупресивних реакцій.

Відомо [118, 119], що введення діетилстильбестролу (ДЕС – синтетичний естроген) вагітним хребцевим та людині викликає розвиток вроджених аномалій репродуктивного тракту у нащадків. У самців хребцевих неонатальне надходження ДЕС індукує зниження кількості клітин Сертолі [120]. Існують також дані щодо збільшення частоти випадків крипторхізму внаслідок дії ДЕС [121].

Таким чином, можна говорити про велику актуальність вивчення впливу на центральну та периферійну ланки регуляції репродуктивної системи хімічних речовин, а саме: доксорубоміцину гідрохлорида, нітриту натрію та біофлавоноїдів сої (ЕКСО).

1.2 Морфофункціональні зміни в гонадах жінок та самок тварин за фізіологічних умов та під впливом різних екзогенних чинників

Морфофункціональний цикл яєчників у статевозрілих самок ссавців в нормі є необхідним для репродукції як для виробництва яйцеклітин, здатних до запліднення, так і для утворення оптимальних гормональних умов для запліднення, імплантації та розвитку ембріону [33]. Центральним явищем у цьому процесі є овуляція. Овуляторний цикл яєчників передбачає, в першу чергу, наявність яєчників з фолікулами, що реагують на стимули гонадотропінів морфологічними змінами і коливанням продукції естрадіолу.

Після кількох мітотичних поділів в ооцитах відбуваються мейотичні перетворення хромосом, і починається ріст жіночої статевої клітини [28]. Мейоз являється дуже чутливим до ендо- та екзогенних впливів. Внутрішньофолікулярні та позафолікулярні зміни (рН, оксидативний стрес, токсини) можуть пошкодити звичайну послідовність процесів розподілу хромосом [12, 122, 123]. Відомо, що існує зв'язок між вживанням нікотину та нез'єднанням хромосом протягом дозрівання ооцитів [124], затримкою розвитку ембріонів [125], індукцією анеуплоїдій та поліплоїдій в клітинах кісткового мозку мишей [126]. Дослідження на хребцевих [124, 127] та людині [128, 129] показали, що паління знижує кількість життєздатних ооцитів. Крім того, диплоїдні ооцити [127] та дисомічні сперматозоїди [59] частіше зустрічаються серед тих, хто палить. Ці дані мають важливе значення у зв'язку з можливістю появу поліплоїдій та анеуплоїдій у нащадків.

Введення великих доз кортизону збільшує виділення гонадотропінів із сечею як в нормі, так і при полікістозному захворюванні яєчників [130]. Окремі форми захворювання Іценка-Кушинга і наявність гіпергонадотропінурії під впливом зростання кортизолемії, викликають гіперфункцію яєчників й надмірну лютеїнізацію, в подальшому – атрофію

яєчників і фолікулярну атрезію у зв'язку із зростанням активності гонадотропінів [131, 132].

Надлишок андрогенів адренкортикального походження проявляється по-різному залежно від віку. У дорослих жінок підвищені кількості андрогенів можуть викликати дефемінізацію – аменорею, неплідність, атрофію молочних залоз і вірилізацію [33].

Адренкортикальні естрогени сприяють зростанню деяких естроген-залежних пухлин молочної залози – причина, за яку показано видалення яєчників і кори надниркових залоз [32].

Видалення щитоподібної залози та антитиреоїдні препарати (тіоурацил та ін.) у тварин викликають зменшення кількості фолікулів яєчників, що дозрівають, зростання потреби у гонадотропінах з метою стимулювання дозрівання фолікулів та овуляції, зниження синтезу стероїдних гормонів яєчниками і, в кінець кінців, – атрофію гонад [133]. Гіпотиреоз обумовлює зміни статевих і відновлювальних функцій у залежності від віку: у дітей розвивається статева незрілість, в той час як в пубертатному віці відбувається затримка статевої зрілості [32]. У дорослих жінок гіпотиреоз викликає зниження лібідо та ановуляторні цикли, а у тяжких випадках – атрофію яєчників й аменорею [134].

В основі низки захворювань репродуктивної системи у жінок, які призводять до неплідності, досить часто лежать порушення гонадотропної функції гіпофіза. За даними літератури, більш ніж у 15 % випадків неплідність обумовлена порушеннями овуляторної функції [135], які у 30 % хворих пов'язані з дисфункцією гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи [136].

Несприятлива дія токсичних сполук та їх метаболітів на чоловічі та жіночі органи репродуктивної системи може бути обумовлена порушенням механізмів фізіологічної регуляції їх функцій або прямими токсичними ефектами. Так, порушення гормональної регуляції функції яєчників може бути наслідком конкуренції ксенобіотиків із статевими гормонами

(андрогени, контрацептивні засоби), впливу на рецептори естрогенів (хлорорганічні та фосфорорганічні сполуки), зміни швидкості продукції статевих гормонів, їх метаболізму та виведення (ДДТ, ТХДД, ПХБ, хлордан) [137]. Наприклад, полігалогеновані біфеніли порушують метаболізм статевих гормонів [123]. У майбутньому це призводить до порушення здатності до запліднення експериментальних тварин.

Цитотоксичність, як правило, є базою для поразки батьківських статевих клітин та клітин ембріону [134, 138, 139].

На окрему увагу заслуговує розгляд питання стосовно проживання на територіях, забруднених радіонуклідами внаслідок аварії на ЧАЕС. У жінок, які проживають у забруднених населених пунктах, і накопичили певну дозу загального опромінення, визначено підвищений ризик виникнення самовільних викиднів першого триместру порівняно з тими, хто проживав на чистих територіях. У жінок пул яйцеклітин формується ще до народження, з віком кількість примордиальних фолікулів тільки зменшується. При впливові великих доз опромінення настає стерилізація, при середніх дозах – передчасна менопауза через кілька років [140]. Приблизна доза, при якій у жінок гине половина фолікулів в яєчниках, становить 4 Гр [141].

У Білорусії вже в 1991 р. спостерігалось зростання неплідності на «забруднених» територіях в 5,5 рази у порівнянні з 1986 р. [142]. Серед причин неплідності: патологія сперми зросла в 6,6 рази, склерокістози – в 2 рази. Гіпофункція яєчників, що є основною причиною спонтанних викиднів, збільшилася в 2,9 рази. При довготривалій променевої дії на яєчники спостерігається стійке та тривале збільшення секреції гонадотропінів, зниження секреції естрогенів, гіперплазія гранульозно-клітинної тканини, зменшення кількості ооцитів, числа фолікулів, поява кіст, дегенерація інтерстиціальної тканини, тобто формуються ознаки виснаження яєчників [143 – 146]. Виявлено [147], що у жінок, які проживають в зоні радіоактивного впливу, розвивається дисфункція, і,

можливо, дезадаптація центральної та периферичної систем ендокринної регуляції. Ці результати підтверджуються даними інших авторів [148], що пов'язують ці порушення з деструктивними змінами та дезадаптацією організму, що, в свою чергу, обумовлює зниження або посилення активності тієї чи іншої гормональної системи. Не можна також не брати до уваги якість прямих та зворотних зв'язків у середині кожної регуляторної системи, від яких залежать їх функціональні можливості. Особливістю «радіаційного» варіанту ендокринної дезадаптації може бути первинна функціональна неповноцінність гіпоталамічної ланки гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи. Треба також враховувати і хронічний психоемоційний стрес, який певною мірою може підтримувати зміни ендокринної активності [149]. Стійкі порушення гормонального гомеостазу разом з нейровегетативними розладами створюють основу для формування регуляторної патології, індивідуальні клінічні прояви якої значною мірою визначаються гено- та фенотиповими характеристиками організму.

Є дані щодо переходу геномної нестабільності в статевих клітинах батьків, що її обумовлює радіаційний вплив, в соматичні клітини нащадків тварин та людей [150, 149]. У цей самий час доведено, що індукована у батьків адаптивна відповідь на радіаційний вплив передається нащадкам, підвищуючи їхню радіорезистентність [152]. З іншого боку, при клонуванні опромінених клітин ссавців продемонстровано, що після певної кількості клітинних поділів можливий появ хромосомних порушень *de novo* [153].

У жінок-робітниць, професія яких пов'язана з контактом з іонізуючим випромінюванням, має місце порушення репродуктивної функції (патологічне протікання менструального циклу, неплідність, ранній клімакс, маткові кровотечі в пологах) [154].

Таким чином, вплив низьких доз радіації супроводжується розвитком ендокринної дезинтеграції, в якій провідне місце має

порушення діяльності гіпоталамо-гіпофізарного комплексу нейроендокринної системи. При цьому характерні для здорового організму функціональні ритми та секреторна циклічність у функціонуванні ендокринних органів згладжується. Наслідками дії іонізуючого опромінення являються порушення репродуктивної функції, що проявляється зниженням маси сім'яників та епідидимісів, дисбалансі у співвідношенні різних типів сперматогенних клітин та зміні вмісту ДНК і частково рівня РНК у тканині гонад, попередньому збільшенні з наступним зниженням кількості зрілих статевих клітин у додатках сім'яників, та дискоординації біоенергетичного метаболізму в досліджуваних тканинах [155, 156].

Ртутна інтоксикація негативно впливає на генеративну функцію материнського організму і нащадків, й характеризується збільшенням внутрішньоутробної загибелі плодів, зниженням плодючості, пригніченням розвитку ембріонів [157]. Встановлено також, що комбінована дія фізичних ті хімічних факторів має супераддитивний ефект на гонади, обумовлений хімічним фактором незалежно від дози іонізуючого випромінювання чи концентрації свинцю [158, 159]. У літературі існують дані про токсичний вплив поліхлорованих біфенілів на плід при інтоксикації материнського організму [160]. Такий вплив відображується в затримці розвитку ембріону в цілому і в порушенні формування різних його органів.

Ще в 70-ті роки ХХ століття розпочато інтенсивні дослідження впливу виробничих факторів на генетичний апарат. Саме тоді було показано, що у жінок-робітниць віскозного виробництва спостерігався підвищений рівень хромосомних аберацій у соматичних клітинах, причому в даному випадку цей ефект був зумовлений дією малих концентрацій сірковуглецю і сірководню. Аналогічні дані були отримані і при оцінці генетичного апарату у робітниць меблевих та деревообробних виробництв, сірчаного комбінату, азотного виробництва [161, 162].

У реальних умовах людська популяція піддається комплексному впливу великої кількості забруднювачів повітря, у тому числі і з вираженою мутагенною активністю. Внаслідок цього сумарна мутагенна активність повітря важко прогнозується на підставі мутагенності його компонентів, оскільки окремі речовини при взаємодії одна з одною, спроможні активуватися (або інактивуватися) різноманітними зовнішніми чинниками [162]. Дослідження мутагенної активності забруднень повітря «металургійних» міст (Маріуполь, Запоріжжя, Донецьк, Макіївка) виявило наявність ефектів середньої сили [163, 164]. Ступінь виразності ефектів був різноманітним і не залежав від стану метаболічної активації. Даний феномен був підтверджений аналізом вмісту в повітрі цих міст одного з головних забруднювачів повітря – бенз(а)пірену: 10-13 кратне перевищення ГДК для атмосферного повітря. Була показана спроможність індукувати генні мутації у тест-мікроорганізмів аерозолів, що утворюються при експлуатації побутових газових плит, деяких компонентів дорожно-транспортного покриття [165].

На жаль, механізм дії багатьох токсикантів залишається невідомим (сірковуглець, вуглеводи) [9, 11, 165].

1.3 Морфофункціональні зміни в гонадах та гаметах чоловіків та самців тварин за фізіологічних умов та під впливом різних екзогенних чинників

Завдання і функції репродуктивної системи чоловіків полягає в продукуванні та доставці зрілих, здатних до запліднення сперматозоїдів до жіночих статевих шляхів. Виконання цих функцій обумовлюють організми. Їх ураження призводить до розвитку периферичних форм неплідності.

Оскільки розвиток чоловічої статевої системи є динамічним процесом, що вимагає взаємодії багатьох гормональних та негормональних

факторів, вплив сполук з антиандрогенною активністю, антагоністів рецепторів андрогенів в період формування репродуктивного тракту призводить до виникнення вроджених аномалій зовнішніх (гіпоспадії, крипторхізм) та внутрішніх статевих органів (агенезія епідидимісу, vas deferens, простати) [166]. Антиандрогенні властивості мають багато хімічних речовин, що знаходяться в зовнішньому середовищі (вінклозолін, лінурон, похідні ДДТ та ін.) [167].

Експерименти, що їх було проведено *in vivo* та *in vitro* демонструють властивості активних метаболітів фунгіциду вінклозоліну як антагоністів рецепторів андрогену, внаслідок чого вживання їх протягом вагітності призводить до виникнення аномалій статевої диференціації, як то: зменшення аноректальної відстані, гіпоспадії, неопущення яєчок та маленькі або відсутні додаткові залози, причому найбільш тяжкі вади спостерігалися при введенні їх у термін з 16-го по 17-ий дні гестації [167, 169].

Лінурон – гербіцид на основі сечовини – діє як слабкий антагоніст рецепторів андрогену, і порушує андроген-залежний розвиток чоловічого репродуктивного шляху при постнатальному вживанні [168]. Надходження лінурону в організм вагітних щурів у дозі 100 мг/кг на добу викликає скорочення аноректальної відстані у щурят-самців [170, 171].

Перетворювання ДДТ в навколишньому середовищі призводить до появи його метаболіту ДДЕ, що працює як антагоніст рецепторів андрогену [172]. Введення ДДЕ вагітним щурам, уражує процеси розвитку статевої системи [173]. Друге похідне ДДТ – метоксихлор та його метаболіти можуть взаємодіяти як з рецепторами до естрогенів, так і з рецепторами до андрогенів [166].

Відомо, що фталати, які широко використовуються в косметичному виробництві, мають гонадо- та ембріотоксичні властивості [21, 174 – 177]. Перші повідомлення про пошкоджуючу дію фталатів на чоловічу статеву систему показали виникнення «великих» аномалій у вигляді гіпоспадії,

скорочення аноректальної відстані, патологій епідидимісу [178 – 182]. Тільки окремі спостереження давали більш детальний опис гістологічних змін в яєчках, та продемонстрували, що відбувається прямий токсичний вплив на тканину яєчка на протязі плодного та неонатального періодів диференціації [182 – 184]. Частина таких пошкоджень є стійкою, й зберігається і у дорослому житті у вигляді симптомів, характерних для синдрому дисгенезії яєчок [185 – 187].

Внутрішньоутробне надходження дибутилфталату або диетилгексилфталату негативно впливає на сім'яники плодів, пошкоджуючи нормальні стосунки клітин Сертолі та моноцитів, зменшуючи загальну кількість клітин Лейдига та порушуючи їх розподіл [182 – 184]. Морфологічне дослідження виявляло ізоляцію гермінативних клітин від клітин Сертолі, фокальну гіперплазію інтерстицію, а саме – клітин Лейдига, та ділянки дисгенезії. Постнатально гіперплазія клітин Лейдига зберігається, а ділянки дисгенезії перетворюються на аденоми, виникають каналці, що не містять сперматогенних клітин [185 – 187]. Вважають, що причиною утворення мікроруликів із гіперплазованих клітин Лейдига у пацієнтів з неповноцінним сперматогенезом та раком яєчок є синдром тестикулярної дисгенезії. За таких умов продукція тестостерону в яєчках плода знижена [184, 188].

Інфертильність у чоловіків може бути обумовлена багатьма факторами, пов'язаними з якістю сім'яної рідини. Провідним критерієм при оцінюванні чоловічої фертильності є показники спермограми, що включають такі параметри: об'єм, кількість сперматозоїдів, їх рухливість, морфологія, відсутність аглютинації та клітин крові (припускається наявність до 10 лейкоцитів у полі зору) [59].

Різноманітність етіологічних факторів пояснює високий відсоток чоловічого чинника – від 40 % до 60 % [33, 189] – серед неплодних пар. Запліднююча здатність чоловіка підтримується кількома рівнями регуляції: центральними (стан гонадотропної функції гіпофізу, гіпоталамус,

щитовидна залоза та ін.) і периферичними (морфофункціональний стан гонад). Альтерація на будь-якому рівні обумовлює гіпогонадизм різного ступеня. Однак, чоловіча стерильність може розвинути не за рахунок гормональних порушень, а стати наслідком впливу на сім'яні канальці хімічних, фізичних, інфекційних факторів [119, 152, 156, 166].

Плодючість чоловіків забезпечується кількістю і якістю (моторика і морфологія) сперматозоїдів. Чоловіча неплодність може бути наслідком оліго- або азооспермії різного генезу та відсутності еякуляції. Стерильність класифікують за рівнем ураження репродуктивної системи, і виділяють периферійну або яєчкову форму – периферичний гіпогонадизм та центральну – центральний гіпогонадизм [2]. Залежно від часу виникнення первинного дефіциту сперматогенезу розрізняють вроджений та набутий первинний гіпогонадизм. До першої категорії відносяться агенезії, крипторхізм, дисгенезії при синдромах Клайнфельтера, Тернера та ін.

Ураження передньої долі гіпоталамуса у щурів-самців призводить до розладів статевої поведінки [36] з наступною атрофією статевих органів і розвитком синдрому кастрації. У морської свинки-самця окремі ураження медіобазальних структур гіпоталамуса супроводжуються значним ослабленням статевої поведінки й припиненням еякуляцій. У чоловіків двобічне хірургічне руйнування мамілярних тілець індукує повне щезнення лібідо і атрофію гонад [2, 33].

Недостатність щитовидної залози викликає порушення функції гонад в цілому. Спостерігається дефіцит метаболізації статевих стероїдів у напрямку зниження ендогенної продукції андрогенів [33, 133].

Гіперфункція надниркових залоз призводить до блокування синтезу та секреції гіпофізарних гонадотропінів з наступним зниженням активності сперматогенезу [190].

Ізольована гіпофізарна недостатність, захворювання гіпоталамуса спричиняють синдром центрального гіпогонадизму, який характеризується атрофією яєчок, стерильністю секреторного типу і

низькими показниками ФСГ та ЛГ в сироватці [33]. Спостерігається фіброз чи гіаліноз сім'яних канальців та інволюція клітин Лейдига.

Гіпофізарна аденома спричинює дефіцит гонадотропних гормонів [186]. У зв'язку з відсутністю гормональних стимулів починається регресія вторинних статевих ознак, атрофія яєчок та виникає стерильність.

У чоловіків, які страждають на краніофарингеому та деякі інші пухлини виявляється гіперпролактинемія [59]. Підвищена секреція пролактину також може бути наслідком руйнування зв'язку поміж гіпоталамічними центрами і гіпофізом, з виключенням механізму, що пригнічує синтез пролактину [33]. Високий вміст пролактину призводить до розвитку ознак центрального гіпогонадізму та стерильності.

Вплив психічного стресу та емоційних факторів на репродуктивну функцію у чоловіків досліджений менше, ніж у жінок. Існують відомості про те, що у чоловіків з неплідністю вірогідно підвищена секреція серотоніну та 5-гідрокоіндолуксусної кислоти з сечею при азооспермії та олігоспермії [191].

Завдання і функції репродуктивної системи чоловіків полягає в продукуванні та доставці зрілих, здатних до запліднення сперматозоїдів до жіночих статевих шляхів. Виконання цих функцій обумовлюють органи-мишені. Їх ураження призводить до розвитку периферичних форм неплідності. Різні стадії дозрівання сперматозоїдів мають неоднакову чутливість до патологічного чинника. Наприклад, бісульфан та прокарбазин впливають на сперматогонії, 2-метоксиетанол – на сперматоцити, метилу хлорид – на сперматиди, 1,3-динитробензол та 2,5-гексанедион – на клітини Сертолі; клітини Лейдига руйнуються при впливові етану диметансульфонату [33]. Підвищення дози призводить до ураження сперматозоїдів на всіх стадіях дозрівання і порушенню регуляторних механізмів з розвитком неплідності.

За певних умов пригнічення сперматогенної активності супроводжується відсутністю або слабкою дією на інтерстиціальну

тканину, наприклад, при опроміненні [144], вірусних інфекціях, введенні хімічних речовин, що руйнують зачатковий епітелій [192, 193]. У таких випадках спостерігається підвищення рівня ФСГ у сироватці і майже незмінний показник ЛГ, що свідчить про порушення механізму негативного зворотного зв'язку гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної вісі внаслідок відсутності інгібіну, що його виділяє гермінативний епітелій [194]. Запалення яєчок при вірусних захворюваннях викликає дегенеративні зміни, склероз та гіаліноз каналців, щезнення зачаткових клітин. При цьому клітини Лейдига, як правило, залишаються інтактними [195].

Після впливу рентгенівського або радіаційного опромінення сперматогенез порушується внаслідок руйнування сперматогенних клітин і припинення мітозів. Рівень ФСГ в сироватці підвищується, а показник ЛГ зберігається в нормі [146, 149, 155]. У мишей доза гамма опромінення в 20 Р викликає замісну деструкцію прогеніторних клітин [196].

Доведено [154], що у нащадків опромінених самців шурів спостерігається підвищена мутабільність клітин печінки. У літературі існують дані про більш високий рівень спонтанних пошкоджень геному в ембріональних клітинах нащадків опромінених мишей [195].

У порівнянні зі сперматидами, сперматогонії типу В більш чутливі до дії опромінення [1192]. Опромінення у дозі 1,0 Гр викликає загибель всіх сперматогоніїв класу В, в результаті чого з еякуляту зникають сперматоцити на 17 днів, а сперматиди – на 30 днів, потім з класу А утворюється нова група класу В, внаслідок чого сперматогенез відновлюється [197]. Іонізуюче випромінювання мало впливає на сперматогонії класу А (стовбурові клітини) [198].

Індустріальний вплив, що стає більш потужним, призводить до підвищення питомої ваги професійних вад в етіології неплідності [199]. Характерним для всіх шкідливих факторів є те, що вони викликають дегенеративних змін в сперматогенній тканині, інколи незворотні. До

екзогенні, головним чином промислових отрут, відносять свинець, ртуть, аміак, окис вуглецю, іприт, кадмій та ін. Постійна праця з цими агентами поступово призводить до явищ переродження в каналцях яєчка [33, 200]. Кінцевим результатом цього являється оліго- і навіть азооспермія. Вірогідно, ці сполуки уражують чутливі гермінативні елементи яєчок раніше, ніж їх шкідливого впливу зазнають інші органи.

Однією з найбільш поширених причин виникнення неплідності у чоловіків є токсичні ураження органів репродуктивної системи. Протягом життя чоловіки зіткаються з великою кількістю різноманітних чинників, що навірямки чи опосередковано негативно впливають на сперматогенез та здатність до запліднення. Дослідження європейських вчених показали зниження так званого «часу до вагітності» серед чоловіків-європейців [199]. Їх висновки базувалися на результатах аналізу сім'яної рідини отриманої в Бельгії, Франції, США, Греції, Шотландії та ін. Припускають, що причиною зниження якості та кількості сперматозоїдів стають хімічні речовини, наприклад, гормоноподібні сполуки, які надходять з їжею та водою. У той самий час цитотоксичні агенти, що їх застосовують в лікуванні раку – радіація та хіміотерапія призводять до довготривалого пригнічення кількості сперміїв у людей та хребцевих [201].

Дослідження на тваринах показали вплив на репродуктивну функцію низьких концентрацій важких металів, що не викликають загальнотоксичної дії [157, 202]. Кількість самок без імплантацій достовірно вища в групі, що спарювалася з самцями, які підлягли впливові свинцю [203, 204]. При цьому глибина змін залежить від дози, концентрації та хімічної структури сполук свинцю та ртуті. Надходження до організму ацетату свинцю викликає вірогідне зниження загальної кількості сперматозоїдів і збільшення кількості патологічно змінених сперматозоїдів [205, 206]. Морфологічні дослідження свідчать про зниження індексу сперматогенезу, збільшення кількості дегенеративних форм сперматогоній та каналців із злущеним епітелієм [157]. Встановлена

підвищена чутливість гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, а також репродуктивної функції як до свинцю і ртуті, так і до іонізуючого опромінення [207]. Спільна дія іонізуючого опромінення та свинцю призводить до зниження функцій статевих залоз та підвищення активності надниркових залоз і аденогіпофізу. При цьому серотонін у підвищеній концентрації впливає модульовальним чином на рівні гіпоталамуса, зумовлюючи функціональну напругу гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі [208 – 211]. Безпліддя може виникати також і при низці позагонадних захворювань [3, 32, 212]. Хронічна ниркова недостатність спричинює зниження рівня тестостерону в плазмі та високі показники естрадиолу за рахунок зростання позапечінкової конверсії тестостерону [32]. Гістологічне дослідження яєчка виявляє зниження і навіть припинення сперматогенезу.

Серед хвороб обміну речовин особливо сильно сперматогенез страждає при цукровому діабеті [212 – 214]. Оскільки діабет часто спричинює нейропатію автономної нервової системи, пошкодження симпатичної іннервації шийки сечового міхура призводить до утворення ретроградної еякуляції, коли сперма направляєтся в міхур замість уретри [213]. У 30,6 % хворих спостерігається оліго-гіпоспермія: кількість сперматозоїдів була зниженою, а відсоток нерухливих і патологічних форм – підвищений. Відомі також випадки порушення потенції у діабетиків [32].

Цироз печінки часто поєднується з гіпогонадизмом і гінекомастією в зв'язку з підвищенням рівня естрогенів, що циркулюють, внаслідок недостатності функції печінки. У таких випадках продукція тестостерону знижена, а рівень естрадиолу підвищений [215].

На кількість, рухливість та морфологію сперматозоїдів впливає паління [216]. Вивчення поширеності цієї шкідливої звички серед населення з репродуктивними невдачами засвідчило, у групі з непліддям відзначено найвищий відсоток чоловіків і жінок репродуктивного віку, які палять [217].

Алкоголь знижує рівень тестостерону в крові, викликає імпотенцію. У невеликої кількості алкоголіків імпотенція зберігається навіть після відмови від алкоголю [218].

Яєчка хронічних алкоголіків містять більше сполучної тканини, кількість каналців значно знижується [218, 219]. Алкоголь знижує рівень тестостерону в крові, викликає імпотенцію, патологічно впливає на рухливість сперматозоїдів таким чином, що він виділяється через перед статеву залозу і сім'яні пухирці [219]. Чим вище концентрація алкоголю в крові, тим більше уражується рухливість сперматозоїдів [220]. Спостерігали, що еякулят пацієнтів, які систематично вживали алкоголь, містив багато слизу [219, 220]. Цей слиз не запального генезу, а утворювався, напевно, в додаткових залозах під впливом подразнюючої дії алкоголю. Так само як і запальний, слиз заважає рухливості сперматозоїдів, внаслідок підвищеної тягучості.

Відсутність сперматозоїдів в еякуляті – азооспермія – частіш за все спостерігається при аномаліях розвитку: відсутність сім'явиносних проток, природжені форми гіпогонадизму [221]. Крім того виявляють ятрогенні розлади, аденоми гіпофізу, системні захворювання у поєднанні з обтурацією сім'явиносних проток, ідіопатичну тестикулярну недостатність та недостатність суспендоцитів (відсутність гермінативного епітелію) [222].

Зменшення об'єму еякуляту пов'язане з частковою обструкцією сім'явиносних проток і часто поєднується з варикоцеле, запальними захворюваннями і системними ураженнями [223].

Зниження кількості сперматозоїдів у еякуляті – олігоспермія – часто є наслідком природжених аномалій розвитку статевих органів, обструкцією сім'явиносних проток, генетичними аномаліями, гіперпролактинемій при наявності аденоми та дії хімічних речовин [224, 225].

Зменшення кількості рухливих сперматозоїдів – астенозооспермія – спостерігається при генетичній патології, частковій обструкції, первинній тестикулярній недостатності, гіперпролактинемії, варикоцеле, хронічних інфекціях [59, 226].

Дуже часто в еякуляті виявляють перевищення кількості патологічних форм сперматозоїдів в еякуляті – тератозооспермію [59], але прямої залежності таких розладів від ендокринних або екзокринних факторів не знайдено [227, 228].

Таким чином, розлади будь-якої ланки в складному ланцюзі регуляції репродуктивної функції може призвести до виникнення небажаних розладів у її здійсненні, найбільш складним з яких є безпліддя.

1.4 Застосування технологій регенеративної медицини у відтворенні органів та тканин

Регенеративна медицина була виділена в окрему галузь медичної науки з метою вивчення процесів відновлення морфологічної та функціональної здатності органів та тканин і розробки альтернативних методів їх активізації. Розв'язання основних завдань регенеративної медицини може стати реальністю вже в найближчій перспективі на ґрунті об'єднання нових наукових досліджень та даних першого клінічного досвіду в розвитку альтернативних терапевтичних стратегій [229]. Найбільш перспективними вважають технології, що вже стали майже традиційними для лікарень багатьох країн світу, – клітинну трансплантацію, тканинну інженерію, терапію цитокинами та застосування методів генної терапії [22, 23, 24, 230 – 232].

Одним з головних завдань регенеративної медицини є відновлення морфологічної та функціональної здатності органів та тканин. Відпрацьовуються нові біотехнологічні підходи зі створенням генно-інженерних конструкцій, ведеться пошук джерел стовбурових клітин –

автологічних, гетерогенних або й ксеногенних [233 – 234]. Початок ХХІ ст. характеризується накопиченням принципово нових знань і розробкою високих технологій тканинної інженерії, яка передбачає спрямовану регенерацію тканин та органів, внутрішньотканинну реконструкцію органів шляхом заміщення елементів тканини [235, 236]. Якщо вирощувати орган з власних клітин пацієнта, то такий орган не буде відторгатися організмом хазяїна. Таким чином, теоретично можна скасувати гострий дефіцит донорського матеріалу, знизити матеріальні збитки, зменшити термін перебування пацієнта в клініці, а головне - зробити безпечною та ефективною трансплантацію.

Поняття клітинної трансплантації досить широке і включає в себе використання різних типів клітин: автологічних та алогенних стовбурових клітин кордової крові [237]; автологічних мезенхімальних стовбурових та частково детермінованих клітин постнатального організму [238]; алогенних ембріональних та фетальних СК [25, 239]; алогенних, сингенних та автологічних гемопоетичних стовбурових та частково детермінованих клітин кісткового мозку та периферійної крові [240, 241]; частково диференційованих *in vitro* похідних СК різного походження, та ін. [23, 242, 243].

Гемопоетичні СК використовуються як головна складова терапії апластичних анемії та лейкозів у вигляді алогенної чи сингенної пересадки кісткового мозку [241], дозволяючи індукувати тривалу ремісію, а в деяких випадках – досягти радикального виліковування, підтвердженого молекулярно-генетичним контролем.

Впроваджені або розробляються протоколи лікування важких форм лімфогрануломатозу, системного червоного вовчака, розсіяного склероза шляхом трансплантації розморожених автологічних CD34+ клітин периферичної крові після високодозової поліхіміотерапії, свого роду “перезавантаження якісно працюючої версії” своєї імунно-гемопоетичної системи [244 – 248]. Незважаючи на те, що вищезгадані протоколи

охопили відносно невелику кількість хворих, можна впевнено констатувати – молоді пацієнти, стан яких неухильно погіршувався, призводячи до смерті через 2-5 років, можуть бути вилікувані.

Автологічні мезенхімальні СК, а, особливо, частково диференційовані клітинні популяції, наприклад гепатобласти, нейробласти, остеобласти, введені локально, виконують замісну і репаративну функцію у випадку дифузного ушкодження органа (напр. цироз печінки) чи локального дефекту – у місці видаленої пухлини, перериву спинного мозку чи перелому кістки [241, 247 – 251].

Застосування ембріональних і фетальних клітинних суспензій чи фрагментів тканин набуло широкого розповсюдження на пострадянському просторі. Реювенілізація, тобто омолодження, – ось головний рушій у розвитку цього напрямку, хоча ефекти ембріональних та фетальних клітин дуже багатогранні. Найбільшого розповсюдження серед досліджуваних експериментально і використовуваних клінічно набуло застосування клітин фетальної печінки та ендокринних залоз [234, 237, 251]. Введення фетальних гепатоцитів у сальник щурів з гострою печінковою недостатністю підвищує виживаємість тварин [25]. Трансплантація гемопоетичних клітин ембріональної печінки у хворих з уперше виявленим цукровим діабетом у комплексному лікуванні призводить до стійкої компенсації захворювання з поступовим зниженням на протязі 2-3 місяців добової дози інсуліну [239].

На моделях цирозу, гіперхолестеринемії та гострої печінкової недостатності (70 %-а гепатектомія) виявлено загальні закономірності дії клітин фетальної печінки при трансплантації – відновлення структурно-функціонального стану печінки. Показано, що клітини фетальної печінки як в алогенній, так і в ксеногенній системах можуть використовуватися для корекції патологій печінки різної етіології [25].

Стовбурові клітини мають великий потенціал до зростання і проліферації, виразну здатність до диференціювання і функціонально

більш активні; підсаджування клітин можна регулювати за дозами і багаторазово повторювати; ізолювані клітини і тканин краще переносять теплову ішемію і холододову консервацію; вартість клітинної трансплантації значно нижча, ніж пересаджування цілого органу [252, 253]. У дорослому організмі, де процеси відновлювальної регенерації органів вже не можуть бути активізовані природнім шляхом за рахунок міграції регіонарних стовбурових клітин, виникає необхідність у здійсненні штучного доставляння таких клітин.

Мезенхімальні клітини кісткового мозку створюють умови для симетричних мітозів гемопоетичних СК, а також є для них своєрідним «каркасом». Крім того, вони являються попередниками хондроцитів, остеоцитів і адипоцитів [254]. На протязі останнього десятиріччя безумовно доведено, що при певних умовах і під впливом специфічних індукторів вони можуть диференціюватися в клітини з кардіоміоцитарним, гепатоцитарним, нейробластним фенотипами [249 – 251, 254 – 255].

Це надає можливості отримання практично необмеженої кількості клітин з певним фенотипом, які можуть використовуватися для замісної терапії, являючи собою альтернативу трансплантації органів, наприклад печінки чи серця [22, 23, 244, 245, 247]. Привабливість такого підходу пояснюється набагато нижчою вартістю, мінімальною травматичністю операції клітинної трансплантації, а також відсутністю морально-етичних проблем, пов'язаних з використанням донорського органу [256, 257].

Сучасні методики культивування дозволяють виділяти мезенхімальні стовбурові клітини з кісткового мозку, культивувати їх та спрямовано диференціювати [254, 255, 258 – 260], що в аутологічному варіанті вирішує додатково проблему несумісності клітин та тканин.

У порівнянні з пересаджуванням цілого органу клітинна трансплантація має низку важливих переваг [258, 261 – 264]: замісна клітинна терапія дозволяє культуральними методами позбавитися від домішу антигенних донорських клітин, які в першу чергу залучені в

процес імунного відторгнення. Більшість фетальних клітин мають повільно експресовані комплекси головних антигенів гістосумісності, що на порядок зменшує рівень посттрансплатаційних ускладнень [266, 267]. Фетальний клітинний матеріал і стовбурові клітини мають великий потенціал до зростання і проліферації, виразну здатність до диференціювання і функціонально більш активні (фетальні клітини продукують фактори росту і регенерації); підсаджування клітин можна регулювати за дозами і багаторазово повторювати; ізолювані клітини і тканини краще переносять теплову ішемію і холододову консервацію; вартість клітинної трансплантації значно нижча, ніж пересаджування цілого органу [268 – 271].

Регенераторний потенціал цитокінів у відновленні різних органів, насамперед серця та головного мозку, намагаються реалізувати за рахунок використання гранулоцитарного колонієстимулювального фактору (Гр-КСФ), еритропоетину, інтерлейкіну-2 [27, 271 – 273].

Як відомо, цитокіни можуть бути вироблені різними типами клітин, і представляють собою білки з низькою молекулярною масою (5-140 kD). Родина цитокінів включає кілька підрозділів, а саме: фактори росту, інтерлейкіни, інтерферони, хемокіни, підродину факторів некрозу пухлин (TNF), підродину трансформуючих факторів росту (TGF), колонієстимулювальних факторів і багато малих сімейств регуляторних білків [274]. Функцією цитокінів, як і функцією гормонів, є мобілізація та активація широкого кола клітин-мишеней: регуляція їх росту та функціональної активності [274, 275]. Проте, на відміну від гормонів цитокіни продукуються різноманітними неспеціалізованими типами клітин і являються, як правило, місцевими медіаторами, що впливають на зростання і метаболізм. Цей факт відрізняє їх від гормонів, які виконують роль сигнальних молекул для тканин, що розташовані на відстані [276]. Цитокіни можуть бути синтезовані будь-якими клітинами організму, які

мають ядро: лімфоцитами, моноцитами, ендотеліальними клітинами, нейронами, ооцитами та ін. [277, 278].

За нормальних фізіологічних умов в більшості тканин продукція цитокінів не виявляється, проте їх кількість значно підвищується за умов патологічних станів [279]. Виявлена присутність в фолікулярній рідині ряду цитокінів, причому концентрація деяких з них суттєво перевищує таку в периферійній крові, що вказує на важливість імунної регуляції функції яєчників [273]. Низька кількість та якість яйцеклітин, що дозрівають у процесі гіперстимуляції яєчників у програмі екстракорпорального запліднення (ЕКЗ), асоційована з дефіцитом ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-7, Гр-КСФ, МІР-1 β [280 – 282]. Виявлено, що концентрація в сім'яній рідині ІЛ-6 та TNF- α підвищується у чоловіків з олігозооспермією, а концентрації ІЛ-6 та ІЛ-8 підвищуються за умов зниженої прогресивної рухливості [283]. Тобто дослідження вмісту цитокінів у субфертильних чоловіків та безплідних пар може бути одним з критеріїв при постановці діагнозу.

Колонієстимулювальні, або гемопоетичні фактори – є цитокінами, що стимулюють диференціювання та дозрівання клітин (колоній) різних рядів кровотворення. Результати доклінічних та клінічних випробувань показали, що препарати, які містять колонієстимулювальний фактор гранулоцитів та макрофагів, мають перспективу як засоби для відновлення мієлопоезу після супресії при трансплантації стовбурових клітин крові та кісткового мозку [284, 285].

Застосування сучасних біотехнологій у загальній медичній практиці вимагає ретельного вивчення можливостей стимуляції виходу стовбурових клітин з депо, їх мультиплікації, диференціації в бажані типи тканин, трансплантації та безпечної інтеграції в тканини реципієнта стовбурових клітин та їх похідних.

Результати розділу опубліковані в монографії та наступних статтях, надрукованих в фахових виданнях.

Запорожан В.Н. Эмбриология, тератология и основы репродукции человека / В. Н. Запорожан, В. К. Напханюк, Е. Л. Холодкова. – Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2000. – 378 с.

1. Холодкова О. Л. Фолікулогенез та його особливості за умов індукції овуляції / В. М. Запорожан, Р. В. Соболев, О. Л. Холодкова // Вісник Асоціації акушер-гінекологів України. – 1999. – № 1. – С. 5 – 8.

2. Холодкова О. Л. Допоміжні репродуктивні технології в лікуванні чоловічого безпліддя / В. М. Запорожан, О. Л. Холодкова, Р. В. Соболев // Лікування та діагностика. – №4/1999 – № 1/2000. – С. 58 – 60.

3. Холодкова О. Л. Ранний эмбриогенез человека и возможные механизмы формирования врожденных аномалий развития / В. Н. Запорожан, В. К. Напханюк, Е. Л. Холодкова // Вісник проблем біології та медицини. – 2000. – № 1. – С. 15 – 23.

4. Холодкова О. Л. Морфологія розвитку жіночої статеві системи та формування її природжених вад / О. Л. Холодкова // Педіатрія, акушерство, гінекологія. – 2000. – № 5. – С. 118 – 121.

5. Холодкова О. Л. Деякі показники морфофункціонального стану репродуктивної системи нащадків, отриманих від шурів, опромінених у малих дозах / В. М. Запорожан, В. К. Напханюк, О. Л. Холодкова // Український медичний альманах. – 2000. – № 5. – С. 76 – 77.

6. Холодкова О. Л. Преімплантаційна діагностика: бути чи ні? / О. Л. Холодкова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2001. - № 1. - С. 131-133.

Отримано патенти України на корисну модель.

1. Пат. 38583 А Україна, МПК (2001) А 61К 31/38 (2001.01) А 61К 31/355 (2001.01) А 61К 31/465. Спосіб корекції порушень метаболічних процесів у нащадків опромінених в малих дозах тварин / Напханюк В. К., Заярна С. П., Ульяновцева О. А., Холодкова О. Л. ; заявник та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № 2000074548; заявл. 28.07.00 ; опубл. 15.05.01, Бюл. № 4. – 2 с.

Результати, які містяться в розділі, доповідались на наукових форумах.

1. Холодкова О. Л. Особливості стану репродуктивної функції самців щурів після радіаційного опромінення / О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв, С. П. Заярна, О. А. Ульянцева. // Вчені майбутнього : міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених, 17-19 жовтня 2002 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОДМУ, 2002. – С.73 – 74.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Лабораторні тварини та моделювання експерименту

Експериментальні дослідження проводили на 840 мишах лінії ICR та 75 білих самках щурів Вістар, отриманих з медико-біологічної клініки Одеського державного медичного університету. Всі експерименти проводили в осінньо-зимовий період року. При роботі керувалися «Європейською конвенцією щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 18.03.86 р.) [286, 287].

Тварини всіх досліджуваних груп знаходилися в стандартних умовах біологічної клініки (віварія). Виведення з експерименту проводилося під легким ефірним наркозом шляхом зсунення шийних хребців; вагітних самок – на 17-18-ий день вагітності (першим днем вагітності вважали день виявлення сперматозоїдів в мазках з піхви).

У якості експериментальних тварин були обрані миші лінії ICR та щури Вістар. Цей вибір пов'язаний, по-перше, з особливостями роботи з культурами тканин і, по-друге, з методикою проведення оваріоектомії. Культивування з метою мультиплікації клітинного матеріалу для подальшого введення в організм передбачає усунення можливості імунологічного конфлікту між донором і реципієнтом. Робота з лінійними тваринами виключає таке ускладнення. Оперативне втручання з метою оваріоектомії більш зручно проводити на ссавцях більшого розміру, наприклад, на щурах. Тому, серію експерименту, що передбачала оваріоектомію, проводили на білих щурах Вістар.

Було проведено 2 серії дослідів. Перша серія дослідів присвячена дослідженню факторів, що можуть оказувати пошкоджуючий вплив на

репродуктивну систему самок та самців ссавців: доксорубоміцину гідрохлорида (Адрибластин) та нітриту натрія. Крім того, групі самок щурів було проведено операцію оваріоектомії.

В другій серії експериментів була використана структурна подібність ізофлавонів з естрогенами тварин і людини, що дозволяє їм зв'язуватися з естрогеновими рецепторами [288].

В роботі було досліджено можливість використання таких факторів, як лікувально-профілактичний засіб ЕКСО, що містить суміш ізофлавонів сої, (на самках), клітини фетальної печінки – КФП (на самках та самцях), мезенхімальні прогеніторні клітини – МПК (на самках та самцях) та гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор – Гр-КСФ (фармакологічний препарат Граноцит) (на самках та самцях) для корекції уражень репродуктивної системи.

Експеримент з застосуванням фетальних клітин печінки показав, що вони відносяться до групи пошкоджуючих факторів.

Окремі групи самок та самців, яким вводили фізіологічний розчин за схемою і у дозах препаратів, що одержували піддослідні тварини, були контролем.

Для виявлення стану репродуктивної функції у самок мишей з'ясовували циклічні зміни ендометрію протягом 56 днів; частину тварин кожної експериментальної групи спарювали з інтактними тваринами, і з'ясовували такі показники: індекс плодючості (I_n), який обчислювали відношенням кількості отриманих породілей до кількості тварин, що спарювали; середня кількість плодів в породіллі. У самців зясовували індекс сперматогенезу, який обчислювали відношенням кількості перших 3 шарів сперматогенного епітелія до кількості підрахованих каналців.

Одним з показників функціонального стану жіночої репродуктивної системи є оваріально-менструальний цикл, якому у тварин відповідає естральний цикл (ЕЦ), що відображує гормональні зміни в організмі протягом дозрівання фолікула [33]. З метою виявлення змін в його

протіканні у самок мишей брали вагінальні мазки щоденно на протязі 45 днів для виявлення тривалості стадій циклу. Відомо, що тривалість ЕЦ у мишей становить 4-5 днів, і протікає в 5 стадій: проєструс, еструс, метеструс I, метеструс II, дієструс [287, 289]. Кожній стадії відповідає з'ясований клітинний склад вагінального мазка. У період проєструсу мазок майже виключно містить епітеліальні клітини, що розташовані поодинокі або невеликими групами. Всі клітини містять ядра. В еструсі епітеліальні клітини щезають, а у полі зору знаходяться тільки без'ядерні зроговілі лусочки, які лежать групами. Лусочки мають вугловату форму. Для зручності роботи стадії метеструс I та II поєднують в одну, коли серед маси зроговілих лусочок виявляються лейкоцити та поодинокі епітеліальні клітини. Наприкінці стадії переважають лейкоцити, з'являється слиз, лусочки щезають. У дієструсі виявляється велика кількість лейкоцитів, поодинокі епітеліоцити, значна кількість слизу.

Оскільки дослідження гаметогенезу у самців мишей на гістологічному рівні пов'язано з низкою технічних труднощів – наявністю багаточисленних стадій дозрівання сперматогенного епітелію, окремо була розроблена методика спрощеної морфометричної оцінки стану сперматогенезу [290]. Повна серія морфологічних змін, що спостерігається між появленням двох однакових сполучень клітин сперматогенного епітелію (СЕ) на одній ділянці сім'яного каналця, становить цикл СЕ, а частина циклу, яка характеризується певним сполученням клітин, є стадією циклу [291, 292]. На гістологічних зрізах при забарвленні гематоксилін-еозином нами виділялися 7 стадій сперматогенезу. Якщо весь пласт СЕ умовно поділити на 4 шари, де перший шар представлений сперматогоніями (зона поділу), другий шар – сперматоцитами 1-го порядку (зона росту), третій шар – сперматоцитами 2-го порядку і сперматидами (зона дозрівання) і четвертий шар – сперматозоїдами (зона формування), то не завжди є можливість виявити наявність всіх цих шарів на одному зрізі каналця. Сперматозоїди в окремих сім'яних каналцях також

морфологічно відрізняються один від одного, і в залежності від етапу їх формування можуть бути трьох типів.

Перший шар СЕ представлений одним рядом клітин, що розташовані компактно на базальній мембрані. Ці клітини – найменші у порівнянні з іншими популяціями. Більшість з цих клітин знаходиться у стадії мітотичного поділу. Ряд переривається суспендоцитами – клітинами Сертолі. Не спостерігається залежності кількості клітин Сертолі від стадії сперматогенезу і, чим більше кількість і розміри цих клітин, тем менше сперматогоній зустрічається у даному каналці.

Клітини другого шару – сперматоцити I порядку – відрізняються своїми великими розмірами, найбільш оксифільною цитоплазмою, і розташовуються в 1-3 шари.

Третій шар представлений невеликими клітинами – сперматоцити II порядку і сперматиди, - що розташовуються радіально у вигляді низок, які містять 3-8 клітин.

Четвертий шар клітин типу а, представлений клітинами круглої або овальної форми, найбільший діаметр яких знаходиться в радіальному напрямку – сперматозоїди. Ядра круглі, розташовані ексцентрично спрямовано у бік сперматид. Четвертий шар клітин типу b представлений кількома рядами клітин з витягнутою вдовж радіусу каналця цитоплазмою, яка майже не утворює кільця навкруги базальної частини ядра. Ядра овальної форми, розміри менше ніж у ядер клітин типу а, більший діаметр спрямований у бік сперматид. Четвертий шар клітин типу с, представлений різною кількістю клітин з ядрами, що витягнуті у радіальному напрямку, і з боку просвіту каналця обрамовані невеликою кількістю цитоплазми (табл. 2.1) Для обчислення таких показників морфофункціонального стану сперматогенного епітелію, як індекс сперматогенезу, морфометричні параметри окремих клітин сперматогенного епітелію зручніше за все використовувати V та VII стадії

сперматогенезу, оскільки вони мають найвиразніші гістологічні відмінності.

Таблиця 2.1

Формули стадій сперматогенезу у мишей

Стадії сперматогенезу	Формула стадії
I	1 2 3
II	1 2 4a
III	1 2 4b
IV	1 2 4c
V	1 2 3 4c
VI	1 3 4c
VII	1 3

Примітка: 1, 2, 3, 4 – перший, другий, третій, четвертий шари відповідно; a, b, c – типи сперматозоїдів.

Динаміка змін параметрів площі і товщини кожного шару протягом циклу сперматогенезу відображена на рисунках 2.1, 2.2 і 2.3. Змінам функціонального стану СЕ відповідають зміни площ клітин, їх ядер і товщини кожного шару, що характеризує безперервне розмноження кожної генерації клітин. Так, сперматогонії безпосередньо перед телофазою мають відносно великий розмір (IV стадія), потім, після поділу зменшуються у розмірі, частина з них знаходиться у стані постійного ділення, підтримуючи популяцію, а інші зростають, перетворюючись у сперматоцити 1-го порядку. Такі клітини рухаються більш люмінально, за рахунок чого сперматогонії завжди утворюють один шар, тому на графіку крива товщини шару зростає і знижується паралельно кривих площі. Сперматоцити 1-го порядку на різних стадіях можуть розташовуватися у кілька шарів внаслідок своїх великих розмірів. В V стадії товщина шару корелює з показниками площі клітин, що вірогідно пов'язано з тим, що

клітини цієї популяції найбільш зрілої генерації під цей час завершують цитокінез і утворюють популяцію сперматоцитів 2-го порядку. В VI та VII

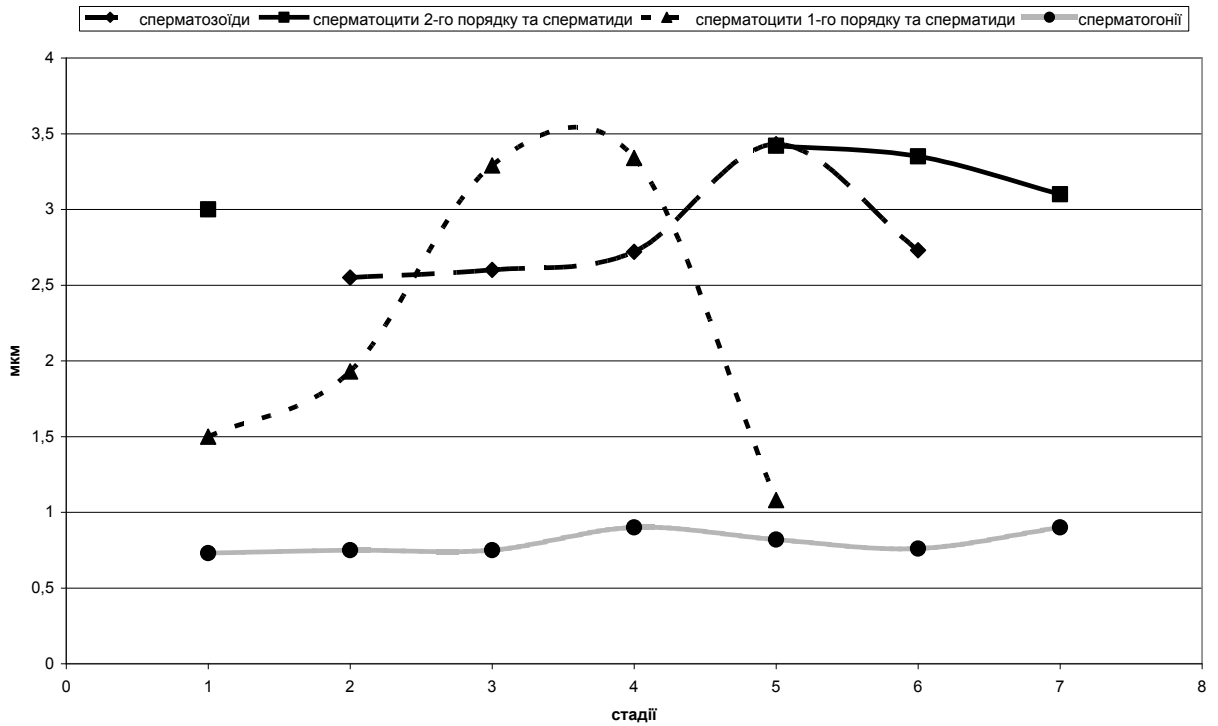


Рис. 2.1 Динаміка змін товщини шарів сперматогенного епітелія.

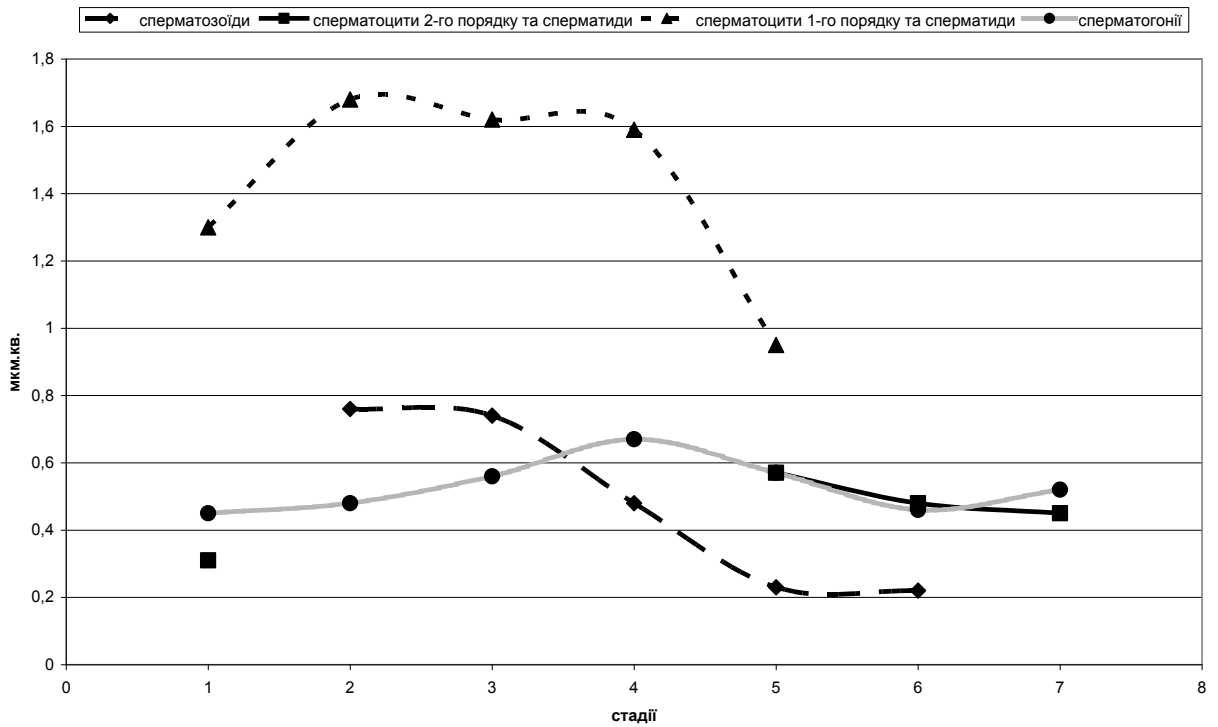


Рис. 2.2 Динаміка змін площ клітин сперматогенного епітелія.

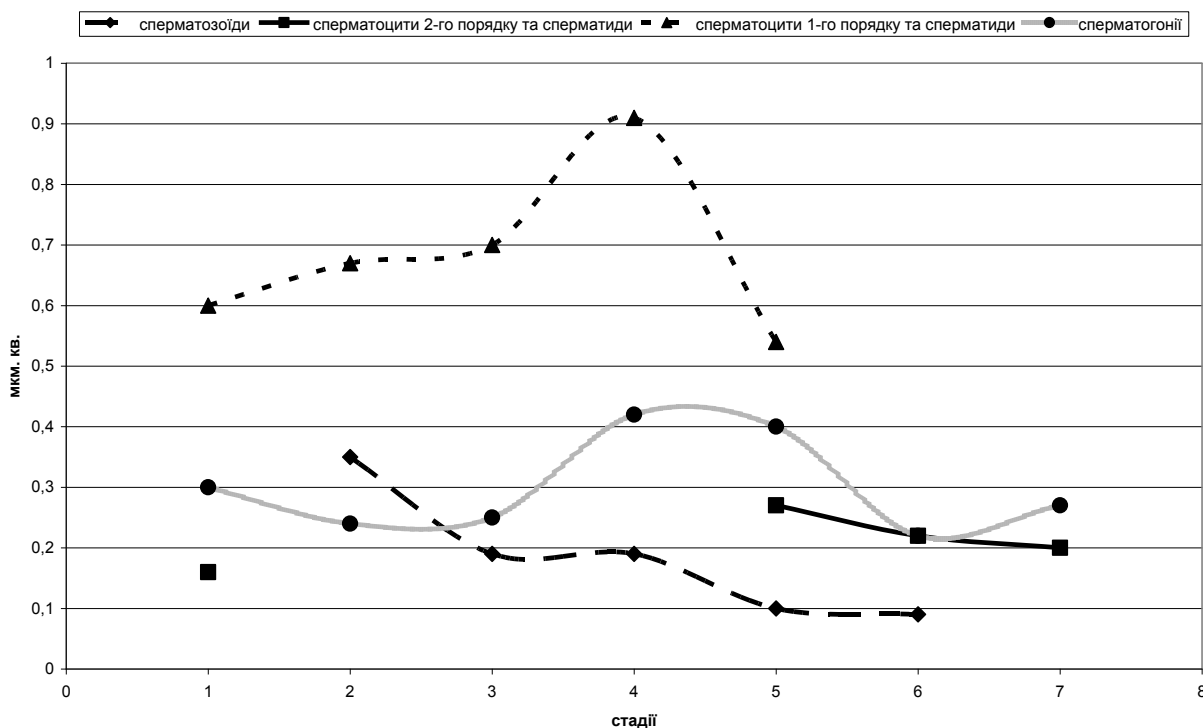


Рис. 2.3 Динаміка змін площ ядер клітин сперматогенного епітелія.

стадіях сперматоцитів 1-го порядку не виявляється, але з'являється популяція сперматоцитів 2-го порядку і сперматид. Товщина їх шару практично незмінна у V та VI стадіях, у VII стадії знижується, а у II, III та IV стадіях цього шару клітин в каналцях немає. Сперматоцити 2-го порядку перетворюються на сперматиди без синтетичної стадії мейозу, тому розміри сперматид приблизно в 4 рази менше розмірів сперматоцитів 1-го порядку.

Під кінець I стадії сперматиди підлягають процесу складної диференціації [292], їх підтримують цитоплазматичні відростки суспендоцитів, де відбувається зростання та формування сперматозоїдів. Сперматиди подовжуються, її ядро зсувається ексцентрично, з частини цитоплазми формується шийка і виростає джгутик сперматозоїду, таким чином, гамети набувають характерну для них форму. Вони виявляються у III стадії, а в VI стадії, після розпаду відростків суспендоцитів,

вивільняються, виходячи у просвіт каналця, тому в VII та I стадіях сперматозоїдів у каналці не спостерігається.

У кожній групі тварин було проведено патоморфологічне дослідження матки, маткових труб, яєчників, яєчок та над'яєчків. Додатково проводили морфометричне дослідження ядер гіпоталамуса та яєчок. Крім того, в групах, яким вводили клітини фетальної печінки або мезенхімальні прогеніторні клітини, також проводили патоморфологічне дослідження нирок та печінки, проточну цитометрію крові.

Обрання дози доксорубоміцину гідрохлорида з метою моделювання ураження репродуктивної системи було обґрунтовано даними літератури та власними розробками [293, 294]. Введення доксорубоміцину гідрохлорида у дозі 2 мг/кг проводили внутрішньоочеревинно, двічі (сумарна доза 4 мг/кг), з інтервалом 7 днів. Корекція ураження доксорубоміцину гідрохлоридом за допомогою Гр-КСФ проводилася одноразовою внутрішньоочеревинною ін'єкцією в дозі 100 мкг/кг в перший день після останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлорида. Тварин цієї серії виводили з експерименту на 21-у добу після останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлорида.

З метою з'ясування ступеня негативного впливу доксорубоміцину гідрохлорида та нітрити натрія різної концентрації на репродуктивну систему мишей був введений інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи (ІПМФСРС), який обчислювали в балах. За 100 % брали дані контрольних груп.

Корекція ураження доксорубоміцину гідрохлоридом із застосуванням МПК проводилася шляхом ведення у хвостову вену в кількості $6,6 \times 10^5$, з повторною ін'єкцією через 14 днів. Виведення тварин цієї серії з експерименту здійснювали на 21-добу від останнього введення МПК.

Розподіл тварин за групами відображений в таблицях 2.1.2 та 2.1.3.

Розподіл мишей за групами

№ групи	Опис групи
I	Контрольні самки
II	Контрольні самці
III	Самки, що їм вводили доксорубоміцину гідрохлорид
IV	Самці, що їм вводили доксорубоміцину гідрохлорид
V	Самки, що отримували розчин нітриту натрія в концентрації 0,3 %
VI	Самці, що отримували розчин нітриту натрія в концентрації 0,3 %
VII	Самки, що їм вводили КФП
VIII	Самці, що їм вводили КФП
IX	Самки, що отримували розчин нітриту натрія в концентрації 0,03 %
X	Самці, що отримували розчин нітриту натрія в концентрації 0,03 %
XI	Самки, що їм вводили МПК
XII	Самці, що їм вводили МПК
XIII	Самки, що їм вводили Гр-КСФ
XIV	Самці, що їм вводили Гр-КСФ
XV	Самки III групи, що їм вводили Гр-КСФ
XVI	Самці IV групи, що їм вводили Гр-КСФ
XVII	Самки III групи, що їм вводили МПК
XVIII	Самці IV групи, що їм вводили МПК
XIX	Самки V групи, що їм вводили МПК
XX	Самці VI групи, що їм вводили МПК
XXI	Самки V групи, що їм вводили Гр-КСФ
XXII	Самці VI групи, що їм вводили Гр-КСФ

Розподіл щурів за групами

№ групи	Опис групи
XXIII	Контрольні самки
XXIV	Самки, яким проводили оваріоектомію
XXV	Самки XXIV групи, які отримували ЕКСО
XXVI	Самки XXIV групи, що їм вводили Гр-КСФ
XXVII	Самки XXIV групи, що їм вводили МПК

В групі тварин, яким корекцію ураження доксорубоміцину гідрохлоридом здійснювали за допомогою ЕКСО. Препарат ЕКСО у дозі 300 мг/кг додавали в їжу на протязі 30 днів після останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлорида [295]. Виведення тварин з експерименту здійснювали у наступний день після припинення корекції ЕКСО.

З метою виявлення впливу екзогенного надходження нітриту натрія як донатора NO на репродуктивну систему було проведено окрему серію досліджень із застосуванням розчину нітриту натрія різної концентрації – 0,3 % протягом 10 днів (сумарна поглинена доза 0,52 г нітриту) та 0,03 % протягом 20 днів (сумарна поглинена доза 0,17 г нітриту) в режимі примусового спаювання. За результатами цього дослідження розчин нітриту натрія у концентрації 0,3 % був віднесений до групи факторів, що ушкоджують репродуктивну систему, а розчин у концентрації 0,03 % – до тих, що коригують її ураження. Моделювання ураження репродуктивної системи із застосуванням розчину нітриту натрія у концентрації 0,3 % проводили шляхом примусового спаювання тварин.

Корекцію розладів, що їх викликав розчин нітриту натрія у концентрації 0,3 %, проводили шляхом веденням МПК у хвостову вену в

кількості $6,6 \times 10^6$, з повторною ін'єкцією через 14 днів. Виведення тварин цієї серії з експерименту здійснювали на 21-добу від останнього введення МПК. З цією ж самою метою використовували препарат Граноцит шляхом введення в хвостову вену в дозі 100 мкг/кг одноразово на наступний день після припинення спаявання нітриту. Виведення тварин цієї серії з експерименту здійснювали на 21-добу від останнього дня вживання нітриту.

Введення клітин фетальної печінки здійснювали у хвостову вену в кількості $6,6 \times 10^6$ двічі з інтервалом 14 діб. КФП отримували з печінок 17-добових плодів мишей лінії ICR [297]. Суспензію клітин печінки вводили в розчині живильного середовища M16, яке не містило сироватки.

У самок щурів проводили двобічну оваріоектомію за стандартною методикою [298]. Під фенobarбіталовою анестезією (40 мг/кг, внутрішньоочеревинно) робили розтин по білій лінії живота в пупковій ділянці. Виділяли яєчник і підвищували його над черевною порожниною і краями розтину на міцно перев'язаних лігатурах. Відійшовши від краю лігатур на 0,5-0,6 мм, робили розтин між ними, відсікаючи яєчник. Техніка оперативного втручання з другого боку була такою самою. Черевну порожнину разом із м'язами зашивали окремими швами, з інтервалом до 5 мм. Операційний шов змащували 5 % розчином йоду. Шви знімали через 5-6 днів, поранення заживали первинним натягом.

Корекцію гіпогонадізму, що виникав після оваріоектомії, проводили за допомогою додавання ЕКСО в їжу, починаючи з другого дня після операції, впродовж 30 днів щодня у дозі 300 мг/кг. Окремі групи тварин підлягали корекції із застосуванням Гр-КСФ шляхом введення в хвостову вену в дозі 100 мкг/кг одноразово на наступний день після операції та МПК шляхом введення в хвостову вену в кількості $6,6 \times 10^5$, з повторною ін'єкцією через 14 днів. Виведення тварин з експерименту здійснювали наступного дня після припинення корекції ЕКСО.

2.2 Патоморфологічні методи дослідження

Після евтаназії органи важили, потім фіксували в розчині нейтрального формаліну в концентрації 10 % (крім головного мозку). Наступної доби вирізали шматки органів, проводили скрізь спирти зростаючої концентрації, й занурювали у парафіно-воскову суміш. Мікротомні зрізи завтовшки 3-5 мкм, забарвлювали гематоксилін-еозином, за Ван-Гізоном, проводили PAS-реакцію, виявляли ретикулінові волокна метенаміном срібла (сріблення за Джонсом-Моурі) [299, 300], та досліджували за допомогою звичайної та поляризаційної мікроскопії з використанням світлового мікроскопу «Leica-DMLS». У тварин екстерпували матку, наступної доби вирізали шматки органу, проводили скрізь спирти зростаючої концентрації, й занурювали у парафіно-воскову суміш, готували зрізи та фарбували їх гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за Ван-Гізоном [299]. Нуклеїнові кислоти виявляли гістохімічно за Ейнарсоном [299]. У зрізах визначали середню товщину стінки матки з використанням шкали окулярного мікрометра при збільшенні 7 x 8. Покривний епітелій та епітелій залоз ендометрію вивчали стереометрично за допомогою окулярної тест-системи при збільшенні 20 x 90 [301]. Загальний об'єм клітин визначали по середній кількості крапок, сумісних із зображенням останніх. Після підрахування загальної кількості клітин на площі, лімітованої тест-системою, обчислювали середній об'єм епітеліоциту, його цитоплазми та ядра. За допомогою малювального апарату замальовували профілі поперечного перетину міоцитів при збільшенні 15 x 40, потім на малюнок накладали тест-систему з прозорого матеріалу і виявляли площу профілю перетину міоциту та його ядра. Результати вимірювань висловлювали в умовних одиницях. Підрахування кількості мітозів проводили в клітинах покривного епітелія. Мітотичний індекс (МІ) обчислювали, виходячи з загальної кількості підрахованих клітин, а його величину виражали в проміле.

Відносну масу органів обчислювали відношенням маси органу до маси тіла.

В печінці оцінювали стан гепатоцитів, жовчних проток, портальних трактів; в нирках – стан клубочків, проксимальних та дистальних відділів нефрону [302].

Після декапітації швидко витягували головний мозок, поміщали у фіксатор, який являв собою 2,5 % розчин глутаральдегіду, що був виготовлений на водному розчині параформа при $t^0 = 37^0$. Після добової фіксації проводили вирізку окремих відділів мозку. Готувалися фронтальні зрізи на рівні хіазми латеральніше зорових трактів, проводили через спирти зростаючої концентрації і занурювали в низькотемпературну високопластичну безосадкову восково-парафінову суміш, яка була виготовлена шляхом поєднання 1 частини Histomix plus, 2 частин парафіну, 0,02 частини бджолиного воску та 0,08 частин базисного воску. З отриманих блоків виготовлювали зрізи завтовшки 3-5 мкм, забарвлювали гематоксиліном-еозином та тіоніном за Нисслем [299].

Згідно даних літератури [303 – 305] функціональний стан центральної нервової системи пов'язаний з вмістом у ній нейронів основних структурно-функціональних типів (I тип – нормохромні, II тип – гіпохромні, III тип - гіперхромні). Для більш тонкої оцінки змін структурно-функціональної організації ядер гіпоталамуса головного мозку ми ввели в систему типування нейронів IV тип – проміжний (табл. 2.2.1). Використовуючи стандартну морфометричну сітку ми підраховували кількість нейронів кожного типу в 10-15 полях одного препарату. Потім обчислювали відносний вміст нейронів кожного типу. Для виявлення нейросекреторних гранул у нервових клітинах супраоптичного та аркуатного ядер переднього гіпоталамуса використовували альдегід-фуксиновий метод Гоморі з попереднім окисленням кислим розчином перманганату калія [299].

Характеристика нейронів основних структурно-функціональних типів

Тип нейронів	Морфологічна характеристика
I Нормохромні клітини	Темне ядро з дифузним хроматином, чітко відрізняється ядереце; цитоплазма світліша, тигроїдна субстанція лежить окремими гранулами; можливе перинуклеарне просвітлення; чіткі клітинні межі.
II Гіпохромні клітини	Світле велике ядро; хроматин глибчастий, дифузний, розташований місцями біля каріолеми; цитоплазма більш світла, поодинокий світлий тигроїд, іноді відсутній; подекуди зустрічаються вакуолі; межі нечіткі; розміри нейроциту збільшені.
III Гіперхромні клітини	Розміри клітини звичайні, або зменшені; ядро може бути пікнотичним чи майже такого розміру, що і клітина; ядереце погано розрізняється у зв'язку з високою щільністю хроматину; цитоплазми мало; вона дуже забарвлена, гомогенна, в окремих випадках гранульована.
IV Проміжні	Велике світле ядро з низьким вмістом хроматину; ядереце середніх розмірів; цитоплазма звичайна, або темна.

Морфофункціональні типи нейронів супраоптичного ядра гіпоталамуса добре описані в літературі [303 – 305]. Їх функціональність типована як електрофізіологічними, так і імуногістохімічними методами [299, 303 – 306]. Розглядаючи співвідношення між морфологічними характеристиками різних типів виявлених нейронів слід зазначити, що ми

спостерігаємо морфологічні характеристики циклу нейросекреції. Так, нейросекретуючі гліальні клітини I типу слід віднести до клітин фази спокою після виведення нейросекрету. Клітини II типу, скоріш за все, відповідають нейронам стадії синтезу нейросекреторної речовини; III типу – нейрони, що знаходяться у фазі накопичення, в той час як IV тип нейронів відповідає фазі виведення нейросекрету, а нейрони V типу – фазі дегенерації (табл. 2.2.2).

Таблиця 2.2.2

Структурні особливості основних функціональних типів клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамусау

Тип клітин і стадія нейросекреції	Морфологічна характеристика
I Нейросекретуючі клітини	Мають найбільші розміри тіла, ядра та ядерця, містять поодинокі зерна нейросекрету в цитоплазмі або не мають взагалі. Тіло клітин округле, цитоплазма світла. Часто зустрічаються клітини з кількома ядерцями.
II Нейрони в стадії синтезу нейросекреторної речовини	Клітини, що помірно виводять нейросекрет. Містять невелику кількість зерен. Трохи менші за розмірами ніж клітини I типу, часто витягнутої форми з нормохромною цитоплазмою, крупним нормохромним ядром, яке містить одне чи кілька ядерць.
III Нейрони в стадії накопичення нейросекрету	Клітини з зниженою активністю виведення нейросекрету, наповнені зернами нейросекрету. Ядра цих клітин дещо менших розмірів, нормохромні, зсунені до периферії. Ядерця крупні, гіперхромні.
IV Нейрони в фазі виведення нейросекрету	Являють собою витягнуті фібробластоподібні клітини з центрально розташованим нормохромним ядром, витягнутої овальної форми.
V Нейрони, що дегенерують	Поліморфні з ознаками каріорексису, каріолізісу.

Застосовуючи стандартну морфометричну сітку ми підраховували кількість нейронів кожного типу в 10-15 полях одного препарату, потім

обчислювали відносний вміст нейронів кожного типу. Після співставлення даних показників у тварин у різних стадіях експерименту виявляли динаміку стану організації супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса.

З метою виявлення функціональної активності нейронів у супраоптичному (СОЯ) та аркуатному (АЯ) ядрах гіпоталамуса був введений інтегральний індекс активності $I_{ан}$, який обчислювали за формулою:

$I_{ан} =$ Кількість клітин, що секретують (II тип+III тип +IV тип):Клітини у спокої або ті, що дегенерують (I тип+V тип).

2.3 Культуральні методи дослідження.

Виділення та культивування мезенхімальних клітин проводили за затвердженою методикою [307]. У 3 мишей лінії ICR виділяли обидві стегнові кістки, очищували від м'яких тканин, поміщали у сольовий розчин Хенкса, що не містить іонів Ca^{2+} та Mg^{2+} , з кінцевим вмістом антибіотиків (пеніцилін – стрептоміцин сульфат) 20 Од та 5×10^{-5} г відповідно. Потім вимивали кістковий мозок тим же розчином, збирали в центрифужну пробірку, суспендировали за допомогою шприця з голкою 23 G, центрифугували при 2500 об/хв. протягом 5 хвилин. Осадок піпетували, промивали середовищем 199 без сироватки, знов центрифугували за тих самих умов. Осадок центрифугували в градієнті «Перколла» (з щільністю 1,065-1,073), при 4200 об/хв. протягом 30 хвилин. Знімали середній шар, що його розбавляли середовищем DMEM, яке містить 10 % FBS (Fetal bovine serum – фетальна теляча сироватка). Центрифугували при 2500 об/хв. протягом 3 хвилин. Отриманий осадок ресуспендували в 1 мл середовища DMEM/F12, у співвідношенні 1: 1, що містить 10 % FBS і антибіотики: пеніцилін (0,2 Од/мл), стрептоміцин сульфат 5×10^{-6} г/мл.

Підраховували кількість клітин із застосуванням барвника трипановий синій, в камері Ньюбауера. Всього отримано клітин 5×10^6 /мл, з них кількість клітин, що сприйняли барвник – 2,6 %. Клітини розсаджували на 10 матраців NUNC площею 85 см^2 , які містять 15 мл культурального середовища DMEM/F12 у співвідношенні 1: 1, 10 % FBS та антибіотики: пеніцилін (0,2 Од/мл), стрептоміцин сульфат 5×10^6 г/мл. Таким чином, щільність посіву становила $6,58 \times 10^4 \text{ см}^2$. Інкубували при 37^0 C в газовій фазі, що містила 5 % CO_2 , та при 95 % вологості.

Першу заміну середовища на аналогічне за вмістом проводили через 24 години культивування. При цьому збирали середовище разом з клітинами, що не прикріпилися. У матраці заливали 15 мл свіжого середовища з додаванням фактору росту фібробластів у кінцевій концентрації 25 нг/мл. Середовище міняли кожні 3 доби. Через 2-3 тижні культивування клітини трансплантували тваринам.

Після закінчення культивування знімали моношар клітин розчином трипсин-ЕДТА, протягом 30 хв. інкубували при температурі 37^0C . Отриману суспензію центрифугували при 2500 об/хв. протягом 3 хв. Осадок ресуспендували в 1 мл середовища DMEM без сироватки, розводили до 3 мл тим самим середовищем і підраховували у гематоцитометрі Ньюбауера кількість клітин.

У результаті виявилось, що концентрація клітин становить $3,3 \times 10^7$ клітин/мл. Кожній тварині вводили по 0,2 мл отриманої суспензії в хвостову вену. Таким чином, доза становила $6,6 \times 10^6$ клітин/тварину. Тварин маркірували за схемою і переводили на стандартні умови віварію.

Для виконання роботи використовували проточний цитометр Galaxy фірми DAKO та моноклональні антитіла, що мічені флуорохромом, в тому числі антитіла до маркерів, які є специфічними для прогеніторних клітин: CD34 та CD117. Обчислювали кількість та співвідношення прогеніторних клітин різних типів у експериментальних та контрольних груп тварин до і після ведення гранулоцитарного фактору росту [308].

2.4 Хімічні речовини та лікарські засоби, що використовувалися

У якості речовини, що викликає розвиток ураження репродуктивної системи, був використаний доксорубоміцину гідрохлорид у вигляді адрибластину швидкорозчинного (виробник Pharmacia Italia S.p.A.). Доксорубоміцину гідрохлорид є протипухлинним антибіотиком з групи антрациклінів, який швидко проникає в клітини, взаємодіє з ДНК, перешкоджаючи синтезу нуклеїнових кислот, викликає виражене гальмування мітотичної активності, сприяє виникненню хромосомних аберацій, а також являється імуносупресором. В експериментах доксорубоміцину гідрохлорид здатний викликати різноманітні токсичні ефекти: кардіотоксичний ефект (кролі, щури), атрофію яєчок (щури), мієлосупресію (всі види експериментальних тварин) [309 – 313].

Другим фактором, що уражує, був обраний розчин нітриту натрія у концентрації 0,3 % («cell grade», виробник Merck, Німеччина).

З метою корекції гіпогонадізму, який розвивається внаслідок оваріоектомії, був використаний препарат ізофлавонів сої, що його отримано з бобів сої, – ЕКСО. ЕКСО був розроблений в результаті спільних досліджень Інституту стоматології АМН України (м.Одеса) та НВА «Одеська біотехнологія» [295] і являє собою біологічно активний харчовий додаток. В склад препарату входять біологічно активні речовини: ізофлавоони, білки, амінокислоти, сахара, вітаміни, макро- та мікроелементи. Велика група біологічно активних речовин в ЕКСО представлена фенольними сполуками, що є активними антиоксидантами, тому препарат уповільнює процеси старіння, атеросклероз, запобігає розвитку онкологічних та серцево-судинних захворювань, підвищує імунітет [314 – 315].

Ізофлавоони ЕКСО мають у 100 разів меншу активність ніж естрогени, оказують м'яку естрогеноподібну дію [316]. За умов зниженого естрогенного стану ізофлавоони ЕКСО займають вільні естрогенові

рецептори. Підвищений рівень естрогенів сприяє конкурентному зв'язуванню з рецепторами та ефективно знижують естрогенемію за рахунок меншої активності. При цьому препарат не пригнічує роботу статевих залоз.

В якості стимулятора викиду стовбурових клітин з депо з метою регенерації був використаний гранулоцитарний колонієстимулювальний фактор (Гр-КСФ), що належить до групи цитокінів – біологічно активних протеїнів, які регулюють ріст і диференціацію клітин [277]. Гр-КСФ застосовували у вигляді препарату граноцит 34 (виробник Шугаї – Авентіс, Франція), він являється рекомбінантним глікопротеїдом, і є еквівалентом людського гранулоцитарного колонієстимулювального чинника [284]. Оказує стимулювальний вплив на клітини-попередники лейкопоезу. Викликає значне збільшення кількості нейтрофілів у периферичній крові.

Використання Граноциту призводить до мобілізації у периферичну кров аутологічних стовбурових клітин-попередників (АСКП), які можуть бути зібрані і введені пацієнту як замісний, або той, що доповнює трансплантацію кісткового мозку, засіб [285]. Реінфузовані АКСП, одержані після мобілізації граноцитом, відновлюють гемопоез і скорочують період приживлення трансплантата порівняно з таким при аутологічній трансплантації кісткового мозку. Застосування Граноциту для лікування пацієнтів, яким проводиться трансплантація кісткового мозку або цитотоксична хіміотерапія, призводить до значного зменшення тривалості лейкопенії і пов'язаних з нею ускладнень.

2.5 Методи статистичної обробки інформації

Окрім вірогідного та статистичного аналізу отримані цифрові дані були оброблені математично з використанням статистичних методів [317, 318] на персональному комп'ютері «Pentium – 200 MHz» з використанням електронних таблиць Open Office.org Calc, а також за алгоритмами [319].

Під середньою величиною генеральної сукупності при статистичних розрахунках розуміли математичне очікування, що його обчислювали за формулою:

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

Де μ – математичне очікування, X_i – n -е спостереження змінної, N – об'єм генеральної сукупності.

Для оцінювання ступеня коливання даних навкруги середнього значення, використовували такі показники як дисперсія та стандартне відхилення математичного очікування.

Дисперсію генеральної сукупності обчислювали за формулою:

$$\sigma^2 = \left(\sum_{i=1}^N (X_i - \mu)^2 \right) / N$$

Де σ^2 - дисперсія генеральної сукупності, μ – математичне очікування, X – n -е спостереження змінної, N – об'єм генеральної сукупності.

Стандартне відхилення математичного очікування генеральної сукупності обчислювали за формулою:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \mu)^2}{N}}$$

Де μ - математичне очікування, X_i – n -е спостереження змінної, N – об'єм генеральної сукупності.

Стандартну похибку середньої величини генеральної сукупності обчислювали за формулою:

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

Де m – стандартна похибка середньої величини генеральної сукупності виміряних значень, σ – стандартне відхилення генеральної сукупності, N – об'єм генеральної сукупності.

Таким чином, результати всіх вимірювань представлені у вигляді:

$$\mu \pm m$$

для порівняння двох незалежних генеральних вибірок примінили t -критерій Стьюдента для оцінювання різниці поміж математичними очікуваннями за допомогою сумарної дисперсії. Величину t -критерію обчислювали за наступною формулою:

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2) - (\mu_1 - \mu_2)}{\sqrt{S_p^2 \left(\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2} \right)}}$$

де:

$$S_p^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{(n_2 - 1) + (n_1 - 1)}$$

\bar{X}_1 , \bar{X}_2 – середні значення з вибірки першої, другої генеральної сукупності, S_1^2 , S_2^2 – дисперсія з першої, другої генеральної сукупностей, n_1 , n_2 – об'єм вибірки, взятої з першої та другої генеральних сукупностей.

В якості критерія перевірки гіпотез використовували рівень значущості p , що спостерігається.

Вірогідність різниці ознак, що вивчаються, оцінювали за t -критерієм Стьюдента з використанням математико-статистичних таблиць значення t -критерія при даному числі ступенів свободи і величині p для відхилення нульової гіпотези приймали рівень значущості $p > 0,05$, що спостерігається.

Результати розділу опубліковані в наступних статтях, надрукованих в фахових виданнях.

1. Холодкова Е. Л. Морфо-функциональное состояние сперматогенного эпителия в цикле сперматогенеза у мышей / Е. Л. Холодкова, Д. М. Пыхтеев, А. Л. Щербатюк // Вісник морфології. – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 216 – 218.

Результати, які містяться в розділі, доповідались на наукових форумах.

1. Холодкова Е. Л. Проточная цитофлуорометрия как метод рутинного анализа содержания прогениторных клеток в периферической крови / Е. Л. Холодкова, А. И. Пономаренко, Д. М. Пыхтеев // V читання В. В. Підвисоцького : наукова конференція, 25-26 травня 2006 р., Одеса : бюллетень матеріалів. – Одеса : ОДМУ, 2006. – С. 99 – 100.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН В РЕПРОДУКТИВНІЙ СИСТЕМІ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ ВПЛИВУ
ДОКСОРУБОМІЦИНУ ГІДРОХЛОРИДА ТА ЕКЗОГЕННИХ
ДОНАТОРІВ ОКСИДУ АЗОТУ

За медико-статистичними даними, кількість пар, що страждають на неплідність, зростає [14 – 16]. Є відомості, що такий стан пов'язаний з поширеним застосуванням гормональних препаратів, стресовим навантаженням, збільшенням патогенного впливу біологічно активних речовин природного і промислового походження [320 – 322]. Така ситуація вимагає досконалого вивчення можливого патологічного впливу хімічних речовин на репродуктивну систему, в тому числі лікарських засобів [323, 324].

Для з'ясування універсальності проявів токсичного ураження при дії факторів різного походження в якості токсикантів були обрані нітрит натрія (як екзогенний донатор оксиду азоту) та антибіотик доксорубоміцину гідрохлорид. При цьому бралися до уваги наступні обставини. Нітрит натрія являється донатором NO, який широко розповсюджений у довкіллі, і може надходити до організму з їжею, водою та повітрям. Відомо також, що оксид азоту, поряд з його багаточисленними фізіологічними функціями, за певних умов, може оказувати і виразну токсичну дію. Пошкоджуюча дія NO є результатом утворення потужного окислювального агенту – пероксинітриту, що виникає в реакції NO^o з активною формою кисню – аніоном супероксиду (O₂^{o-}) [97, 98]. Пероксинітрит здатний окислювати SH-групи, ініціювати перекисне окислення ліпідів і пошкоджувати основи ДНК, а при розпаданні може продукувати інші агресивні оксиданти, як, наприклад, радикал гідроксилу -

ОН° [100]. ДГ має виразні протипухлинні властивості і широко застосовується в онкології. Показано, що останній швидко проникає в клітини пухлини, взаємодіє з молекулою ДНК, порушує синтез нуклеїнових кислот, гальмує мітотичну активність клітин, сприяє утворенню хромосомних аберацій, і є імуносупресором [31 – 312].

3.1 Морфофункціональний стан репродуктивної системи та її нейроендокринної регуляції тварин контрольних груп

Патоморфологічне дослідження самок мишей виявило правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників слабко-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено. Відносна маса матки і яєчників складала в середньому $0,0081 \pm 0,0002$.

Слизова оболонка яйцепроводів утворена багаточисленними гілчастими складками. Власна пластинка містить пухку сполучну тканину з гістіоцитами, макрофагами, що знаходяться в стадії спокою. В м'язовій оболонці виявляються циркулярні та повздожні шари гладеньком'язових клітин. Цитоплазма міоцитів гомогенна, містить нормохромне ядро овально-витагнутої форми. Серозна оболонка без особливостей.

Матка дворога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка представлена одношаровим призматичним епітелієм з нормохромними ядрами, іноді пікнотичними, гомогенною цитоплазмою. В окремих випадках з'являється незначна зернистість, тоді пікноз ядер цих клітин більш виразний. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною, яка містить невелику кількість сполучнотканинних клітинних елементів з нормохромними ядрами у макрофагів та помірно пікнотичними ядрами у гістіоцитів. Кріпти, що мали вигляд трубочок, орієнтовані

перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Міометрій представлений гладеньком'язовими клітинами. Цитоплазма клітин гомогенна, містить нормохромне ядро, овально-втягнутої форми. Підслизовий шар звичайного вигляду. Судинний шар містить багаточисленні кровоносні судини звичайного виду.

Тривалість ЕЦ становила в середньому $3,81 \pm 0,04$ доби, в 19,5 % спостерігалось зникнення проєструсу, а в 17 % випадків – метєструсу. Ймовірніше за все ці фази протікають швидше ніж еструс та дієструс, і не мають чіткої межі з іншими фазами ЕЦ. Важливим показником репродуктивної функції є здатність до запліднення, що виражається індексом плодючості (I_p). Величина останнього в середньому становила 0,87; середня кількість плодів на самку при цьому була 11,06.

Морфометричне дослідження вмісту нейронів у супраоптичному ядрі гіпоталамуса самок мишей контрольної групи показало, що у найбільшій кількості у цій зоні виявлялися нейрони II морфо-функціонального типу (табл. 3.1.1). Дослідження вмісту нейросекретуючих клітин в аркуатному ядрі також виявило переважну більшість клітин II типу.

Таблиця 3.1.1

Середній вміст нейросекреторних клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей контрольної групи ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Вміст нейронів кожного типу
СОЯ	I	$32,55 \pm 0,65$
	II	$51,05 \pm 0,64$
	III	$11,07 \pm 0,74$
	IV	$3,00 \pm 0,30$
	V	$2,52 \pm 0,27$
АЯ	I	$23,15 \pm 0,74$
	II	$48,06 \pm 0,85$
	III	$12,98 \pm 1,01$
	IV	$11,25 \pm 0,99$
	V	$4,56 \pm 0,66$

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 1,86, і для аркуатного ядра – 2,6.

Дослідження морфологічного стану репродуктивної системи самців контрольної групи показало правильне розташування яєчок, над'яєчків та передміхурової залози.

Білкова оболонка яєчок щільна, сіро-білого кольору, судини звичайного вигляду. На розтині тканина яєчка має вигляд сіро-білої однорідної пухкої маси. Відносна маса яєчок становила $0,0036 \pm 0,0003$.

Вимірювання морфометричних параметрів виявило, що товщина сперматогенного епітелію в V стадії була $8,72 \pm 0,10$ мкм.

Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм становила $4,48 \pm 0,12\%$.

Питома площа окремих компонентів тканини яєчка була такою: сперматогоній – $6,49 \pm 0,18$, клітин Сертолі – $1,45 \pm 0,18$, клітин Лейдига – $0,67 \pm 0,05$, інтерстицію – $6,22 \pm 0,49$, базальної мембрани – $1,40 \pm 0,13$, простору між клітинами SE – $4,78 \pm 0,23$, просвіту каналців – $14,06 \pm 1,14$.

Індекс сперматогенезу становив $5,61 \pm 0,03$ для V стадії і $4,57 \pm 0,03$ для VII стадії сперматогенезу.

Передміхурова залоза складалася з двох часточок. Поверхня залози була слабо-бугристою, блілого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

Індекс плодючості був 0,87, середня кількість плодів – 11,06.

Морфометрия супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса показала, що так само, як і у самок контрольної групи, у найбільшій кількості виявлялися нейрони II морфо-функціонального типу (табл. 3.1.2).

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 2,06, для АЯ – 6,7.

Середній вміст нейросекреторних клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самців мишей контрольної групи (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Вміст нейронів кожного типу
СОЯ	I	27,79±0,46
	II	48,76±0,70
	III	13,42±0,75
	IV	5,24±0,36
	V	4,91±0,48
АЯ	I	7,70±0,46
	II	54,20±0,99
	III	18,30±0,98
	IV	14,51±0,86
	V	5,30±0,44

3.2 Морфофункціональна характеристика органів репродуктивної системи та її нейроендокринної регуляції самок під впливом доксорубоміцину гідрохлорида та нітриту натрія

У самок III групи на 10-ий, 20-ий та 30-ий дні після останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлорида виявлялося правильне розташування органів репродуктивної системи.

На 10-ий день від останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлорида слизова оболонка яйцепроводів складалася з багаточисленних складок, що розгалужуються, містять одношаровий призматичний війчастий епітелій з нормохромними ядрами. В окремих ділянках виявляються клітини з дисоційованим ядром, в якого базофільна субстанція розташована переважно з краю ядерної мембрани. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною, містить гістіоцити, макрофаги. У м'язовій оболонці

розрізняються циркулярний та повздожний шари. Цитоплазма клітин гомогенна, містить нормохромне ядро, овально-втягнутої форми. Серозна оболонка – без особливостей.

Поверхня яєчників була слабо-бугристою, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність невеликої кількості зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл.

Матка була дворогою, вигляд поверхні однорідний, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. В окремих випадках виявлялися невеликі крововиливи. Базальний шар ендометрія містить невелику кількість залоз, вузьких, вистелених циліндричним багатошаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. Просвіт крипт базального шару майже не виявляється. Клітини строми розташовані компактно, ядра різко базофільні, цитоплазма рожева, гомогенна. У багатьох місцях базального шару спостерігається дисоціація ядерного матеріалу, що представлений у такому випадку маленькими базофільними брильцями, часто – конгломератами у межах каріолеми. Ядерця не виявлялися. Відрізняльною рисою даної групи є наявність виразних полів з ознаками дистрофічно змінених клітин залозистого епітелію. У такому разі цитоплазма містить крупні оксифільні брильця, іноді цитоплазма взагалі відсутня. Майже цілком відсутні клітини, що діляться.

Функціональний шар слизової оболонки був представлений одношаровим призматичним епітелієм з нормохромними ядрами, рожевою гомогенною цитоплазмою. Крипти мали форму трубочок, розташовані досить пухко, орієнтовані перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Серед проліферуючого епітелію залозистих крипт часто виявлялися світлі клітини (клітини-пузирі), що являються собою незрілі клітини в'їчастого епітелію ендометрія. В окремих місцях зустрічалися клітини, що дегенерують, з ознаками каріорексису. Кількість мітозів становила менш ніж 3 мітози в 10 полях зору. У тому випадку, коли мітози зустрічалися, їх

верифікували як патологічні – багатополюсні, моноцентричні, мітози з відставанням та розсіюванням хромосом у метафазі. У деяких тварин цієї групи спостерігали ізольовані ділянки некрозу залоз, які за своїми розмірами не перевищували однієї чверті поля зору при збільшенні 400 х. Міжзалозиста строма була представлена пухкою сполучною оксифільною тканиною, містила помірну кількість сполучнотканинних веретеноподібних клітинних елементів з нормохромними ядрами й трохи пікнотичними ядрами у гістіоцитів. Міометрій – без особливостей.

Відносна маса комплексу матки і яєчників зменшувалась на 24,69 % порівняно з контрольною групою, і становила $0,0061 \pm 0,0002$ (табл. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1

**Відносні маси матки і яєчників самок III групи після введення
доксорубоміцину гідрохлориду ($M \pm m$)**

	Контрольна група	10-ий день	20-ий день	30-ий день
Відносна маса матки і яєчників	$0,0081 \pm 0,0002$	$0,0061 \pm 0,0002^*$ $p < 0,001$	$0,0056 \pm 0,0003^*$ $p < 0,001$	$0,0076 \pm 0,0002$

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

На 20-ий день від останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлориду макроскопічна картина яйцепроводів була тотожною з картиною у попередньому терміні, скільки-небудь значущих відмінностей не мала.

Поверхня яєчників була слабо-бугристою, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл.

Матка була дворогою, вигляд поверхні однорідний, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Питома щільність полів з ознаками дистрофічно змінених клітин залозистого

епітелію зростала. Дуже рідко зустрічалися клітини, що діляться. У функціональному шарі у невеликій кількості виявлялися клітини-пузирі. В окремих місцях зустрічалися клітини, що дегенерують, з ознаками каріорексису. Кількість мітозів залишалася низькою (менш ніж 3 мітози в 10 полях зору). Переважна кількість мітозів мала ознаку патологічних. У деяких тварин цієї групи спостерігали ізольовані ділянки некрозу залоз, які за своїми розмірами не перевищували однієї чверті поля зору при збільшенні 400 х. Міометрій – без особливостей.

Відносна маса комплексу матки і яєчників продовжувала зменшуватися, складаючи 69,14 % від показника контрольної групи (табл. 3.2.1).

На 30-ий день від останньої ін'єкції доксорубоміцина гідрохлорида морфологічних відмінностей у будові яйцепроводів у порівнянні з попередніми термінами не виявлялося.

Поверхня яєчників була слабо-бугристою, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл.

Матка була дворогою, вигляд поверхні однорідний, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Мікроскопічна будова матки суттєво не відрізнялася від її будови у попередньому терміні. Міометрій – без особливостей.

Спостерігалось значне (майже на 35,71 % відносно попереднього терміну) підвищення відносної маси матки і яєчників, що становило 93,87 % від контрольного показника (табл. 3.2.1).

Індекс плодючості у самок III групи становив 0,85, що дещо менше ніж у контрольній групі тварин. У цей самий час кількість плодів зменшувалась на 7,59 % порівняно з контрольною групою, і становила 10,22.

Тривалість естрального циклу становила $4,29 \pm 0,04$ дні, що на 12,6 % довше, ніж у контролі. Стадія проєструсу зникала у 23,71 % випадків, що

на 21, 59 % частіше, ніж у контролі, а стадія метеструсу не виявлялася у 12,23 % випадків, що на 28, 06 % частіше, ніж у контрольній групі.

Морфометричне дослідження вмісту нейронів у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок мишей III групи показало, що у найбільшій кількості у цій зоні виявлялися нейрони I морфофункціонального типу (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей III групи після введення доксорубоміцина гідрохлориду ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	III група (ДГ)
СОЯ	I	32,55±0,65	54,82±0,91*
	II	51,05±0,64	27,11±1,06*
	III	11,07±0,74	7,31±0,81*
	IV	3,00±0,30	2,40±0,23
	V	2,52±0,27	8,44±0,35*
АЯ	I	23,15±0,74	41,67±1,00*
	II	48,06±0,85	25,78±0,70*
	III	12,98±1,01	14,81±0,44*
	IV	11,25±0,99	3,74±0,23*
	V	4,56±0,66	14,30±0,42*

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 0,6, для АЯ – 0,8, що становить 32,26 та 30,77 % відповідно від рівня контрольної групи.

Патоморфологічне дослідження самок V групи на 10-ий день після припинення вживання нітриту натрія у концентрації 0,3 % виявило правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено. Слизова оболонка яйцепроводів

вистелена одношаровим призматичним війчастим епітелієм, клітини якого містять нормохромні ядра, рожеву цитоплазму. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною. У м'язовій оболонці наявні циркулярний та повздожній шари гладенькомязових клітин. Серозна оболонка яйцепроводів – без особливостей.

Матка двоорога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Базальний шар ендометрія містить залози, що вислані циліндричним одношаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. Клітини строми цього шару розташовані компактно, ядра різко базофільні, цитоплазма гомогенна. У деяких ділянках спостерігається дисоціація ядерного матеріалу. Ядерця не виявляються. Кількість мітозів невелика – менше 3 мітозів у 10 полях зору. У підслизовому шарі верифікуються багаточисленні кровоносні судини звичайного виду. Міометрій складався з гладенькомязових клітин з гомогенною цитоплазмою, нормохромними ядрами. Периметрій – без особливостей.

Відносна маса комплексу матка-яєчники на 10-ий день дослідження становила $0,0058 \pm 0,0002$, що на 28,40 % нижче контрольного значення (табл. 3.2.3), але ця різниця не є вірогідною.

Таблиця 3.2.3

Відносні маси матки та яєчників самок V групи після отримання розчину нітриту натрія у концентрації 0,3 % ($M \pm m$)

	Контрольна група	10-ий день	20-ий день	30-ий день
Відносна маса матки та яєчників	$0,0081 \pm 0,0002$	$0,0058 \pm 0,0002^*$ $p < 0,001$	$0,0057 \pm 0,0001^*$ $p < 0,001$	$0,0052 \pm 0,0001^*$ $p < 0,001$

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Патоморфологічне дослідження самок V групи на 20-ий день виявило правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено. Слизова оболонка яйцепроводів покрита одношаровим призматичним війчастим епітелієм, клітини якого містять нормохромні ядра. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною. У м'язовій оболонці наявні циркулярний та повздожний шари гладенькомязових клітин. Серозна оболонка яйцепроводів – без особливостей.

Матка двоорога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка ендометрія містить залози, які вислані циліндричним одношаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. Клітини строми цього шару розташовані компактно, ядра різко базофільні, цитоплазма гомогенна. У деяких ділянках спостерігається дисоціація ядерного матеріалу. Ядерця не виявляються. Зустрічаються клітини, що дегенерують, з ознаками каріорексису. Мітотична активність помірною (до 5 мітозів у 10 полях зору). Зустрічаються патологічні мітози. Підслизовий шар містить багаточисленні кровоносні судини звичайного виду. Міометрій складався з гладенькомязових клітин з гомогенною цитоплазмою, нормохромним ядром. Периметрій – без особливостей.

Відносна маса матки та яєчників дорівнювала 0,0057, що на 29,63 % нижче за контрольний показник, та майже не відрізняється від показника попереднього терміну (табл. 3.2.3).

На 30-ий день після завершення експерименту у самок V групи виявлене правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів

та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено. Будова яйцепроводів – без особливостей.

Матка дворога однорідної щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка ендометрія містить залози, які вислані циліндричним одношаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. У деяких ділянках спостерігається дисоціація ядерного матеріалу. Ядерця не виявляються. Зустрічаються клітини, що дегенерують, з ознаками каріорексису. Мітотична активність помірна (до 5 мітозів у 10 полях зору). Зустрічаються патологічні мітози. Підслизовий шар, міометрій та периметрій – без особливостей.

Відносна маса матки та яєчників знов дещо знижується, і становить $0,0052 \pm 0,0001$, тобто на 8,77 % менше за попередній термін і на 35,8 % нижче за контроль (табл. 3.2.3).

Дослідження особливостей протікання естрального циклу в самок мишей V групи, що вживали 0,3 % розчин нітриту натрія, показало, що в 14,6 % випадків з'являються цикли без фази еструсу, у багатьох випадках поряд із зникненням фаз метеструсу (23,4 %) та проеструсу (30,2 %) майже у чверті циклів (24,2 %) випадають фази діеструсу. У 7 % випадків спостерігаються двофазні цикли, що складаються з довгої фази (до 5 днів) проеструсу та короткої (1 день) фази еструсу.

Тривалість ЕЦ становила $5,4 \pm 1,02$ дні ($p > 0,05$ по відношенню до контролю).

Індекс плодючості у самок V групи різко знижувався – на 66,5 % у порівнянні з цим показником контрольних тварин. У цей самий час кількість плодів незначно (на 7,6 %) зменшувалась порівняно з контрольною групою, і становила 10,22. Зовнішніх ознак аномалій розвитку не виявлялося. Тобто, за умов вживання 0,3 % розчину нітриту натрія у більшості самок мишей спостерігається зниження здатності до запліднення із збереженням здатності до виношування зовнішньо здорових нащадків.

Результати морфометрії вмісту нейронів в супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок мишей V групи показало, що у найбільшій кількості у цій зоні виявлялися нейрони I морфофункціонального типу (табл. 3.2.4).

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 0,7, для АЯ – 0,9, що становило 37,63 та 34,62 % відповідно по відношенню до контролю.

Таблиця 3.2.4

Середній вміст нейросекреторних клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей V групи після отримування розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	V група
СОЯ	I	32,55±0,65	53,72±0,91*
	II	51,05±0,64	31,74±0,79*
	III	11,07±0,74	6,82±0,47*
	IV	3,00±0,30	3,42±0,31
	V	2,52±0,27	4,40±0,28*
АЯ	I	23,15±0,74	43,73±0,91*
	II	48,06±0,85	27,72±0,80*
	III	12,98±1,01	16,84±0,62*
	IV	11,25±0,99	3,62±0,33*
	V	4,56±0,66	8,20±0,23*

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

У самок IX групи на 10-ий, 20-ий та 30-ий дні після припинення спаявання нітриту натрія в концентрації 0,03 % виявлялося правильне розташування органів репродуктивної системи. Виразних структурних особливостей маткової труби у самок IX групи не виявлено. Поверхня яєчників була слабо-бугристою, тканина м'яко-еластичної консистенції,

на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлялося.

Матка була дворогою, вигляд поверхні однорідний, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Всі шари матки звичайного виду, суттєвих відмінностей від будови матки у самок контрольної групи не виявлено.

На 10-ий день експерименту відносна маса матки та яєчників дещо зменшувалась у порівнянні з тваринами контрольної групи, і становила $0,0076 \pm 0,0002$, залишаючись на тому самому рівні до 20-го дня, що складає 93,8 % від показника контрольної групи (табл. 3.2.5). На 30-ий день спостерігалось невелике (на 2,63 % відносно попереднього терміну) підвищення відносної маси матки та яєчників, але воно не є вірогідним (табл. 3.2.5.).

Таблиця 3.2.5

Відносні маси матки та яєчників у самок ІХ групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % ($M \pm m$)

	Контрольна група	10-ий день	20-ий день	30-ий день
Відносна маса матки та яєчників	$0,0081 \pm 0,0002$	$0,0076 \pm 0,0002$ $p > 0,05$	$0,0076 \pm 0,0002$ $p > 0,05$	$0,0078 \pm 0,0002$ $p > 0,05$

Дослідження естрального циклу в самок ІХ групи показало, що його тривалість зменшувалась у порівнянні з контрольною групою, становлячи в середньому $3,5 \pm 0,06$ дні ($p < 0,01$ по відношенню до контролю). Однак, слід зазначити, що якісна характеристика стадій ЕЦ позитивно змінювалась як у порівнянні до контрольної групи, так і у порівнянні з V групою тварин, що вживали розчин нітриту натрія у концентрації 0,3 %, а саме: наявність чітко виразних стадій еструсу та метеструсу й дещо стертими ознаками діеструсу та проеструсу.

Індекс плодючості у самок ІХ групи становив 1,00, що демонструє 100 % плодючість тварин на тлі спаявання нітриту натрія в концентрації 0,03 %. У цей самий час кількість плодів на 14 % зменшувалась порівняно з контрольною групою, і становила 9,73.

Морфометричне дослідження вмісту нейронів у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок мишей ІХ групи показало, що у найбільшій кількості виявлялися нейрони ІІ морфо-функціонального типу (табл. 3.2.6).

Таблиця 3.2.6

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей ІХ групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	ІХ група
СОЯ	I	32,55±0,65	28,84±0,92*
	II	51,05±0,64	43,75±1,10*
	III	11,07±0,74	18,22±0,68*
	IV	3,00±0,30	5,40±0,23*
	V	2,52±0,27	3,92±0,18*
АЯ	I	23,15±0,74	9,30±0,26*
	II	48,06±0,85	45,83±0,96*
	III	12,98±1,01	23,85±0,68*
	IV	11,25±0,99	13,73±0,49*
	V	4,56±0,66	7,45±0,29*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 2,1, для АЯ – 5,0, що на 12,94 % та 92,23 % відповідно перебільшувало показники контрольної групи.

Співставлення значень $I_{ан}$ в досліджених експериментальних групах (рис. 3.2.1, табл. 3.2.7) виявило, що після введення доксорубоміцину гідрохлориду у самок ІІІ групи відбувається різке зниження цього показника у порівнянні з контрольною групою. Вплив нітриту натрія

викликав полярні зміни у коливанні цього індексу – розчин у концентрації 0,3 % (V експериментальна група) – значне зниження по відношенню до контрольної групи, а розчин 0,03 % концентрації (IX експериментальна група) – підвищення, як у порівнянні з V групою, так і порівняно з контрольною групою.

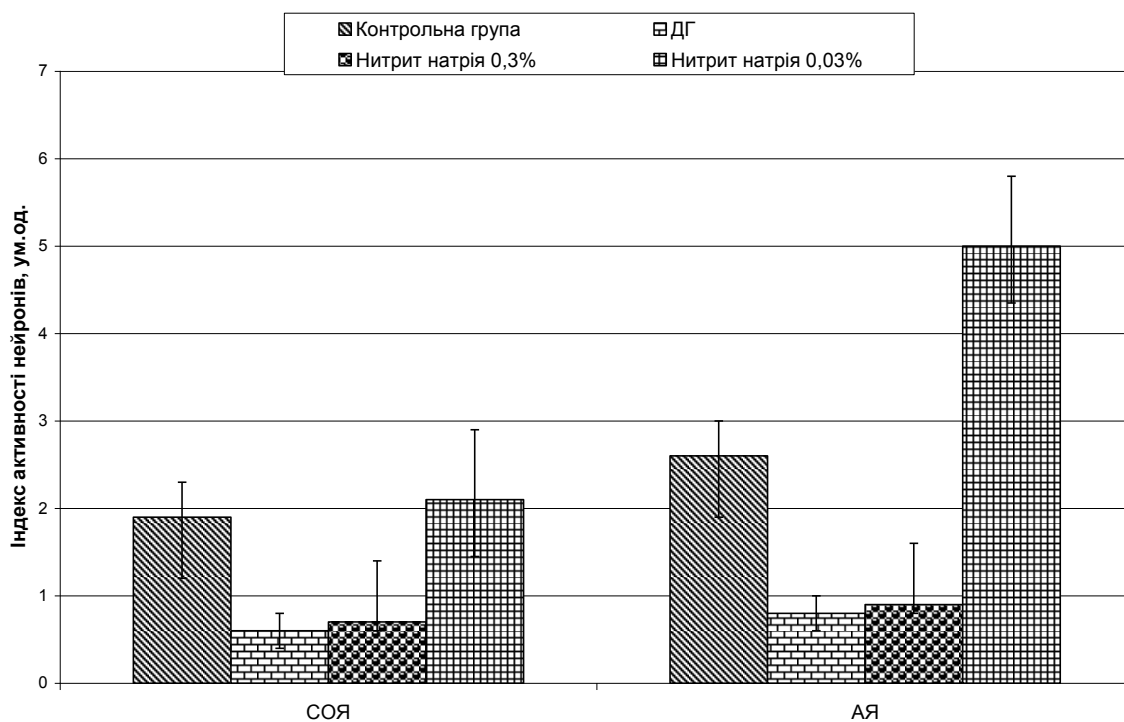


Рис. 3.2.1. Співвідношення індексів активності нейронів СОЯ та АЯ гіпоталамуса самок мишей після застосування ДГ, розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % та 0,03 %.

Таблиця 3.2.7

Індекс активності нейронів самок III, V та IX груп (в балах)

I _{ан}	Контрольна група	III група (ДГ)	V група (нітрит натрія 0,3 %)	IX група (нітрит натрія 0,03 %)
Бали	5	1,5	2	3

Обчислення інтегрального показника морфофункціонального стану репродуктивної системи (ІПМФСРС) самок ІІІ, V та ІХ груп показало (табл. 3.2.8), що найбільш виразних негативних змін викликає додавання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % – ІПМФСРС дорівнює 9 балам, причому страждають всі досліджувані ланки регуляції репродуктивної системи. У цей самий час розчин нітриту натрія в концентрації 0,03 % не тільки не оказує негативного впливу, але й виступає в якості стимулятора активності репродуктивної системи – ІПМФСРС дорівнює 20,5 балів, що є вищим ніж у контрольної групи (20 балів).

Таблиця 3.2.8

Інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи самок ІІІ, V та ІХ груп (в балах)

№ п/п	Показник	Контрольна група	ІІІ група (ДГ)	V група (нітрит натрія 0,3 %)	ІХ група (нітрит натрія 0,03 %)
1.	$I_{\text{п}}$	10	9	3	11
2.	Відносна маса матки та яєчників	5	4	3	5
3.	Тривалість ЕЦ	5	4	3	4,5
4.	ІПМФСРС	20	17	9	20,5

3.3 Морфофункціональна характеристика органів репродуктивної системи та її нейроендокринної регуляції самців під впливом доксорубоміцину гідрохлорида та нітриту натрія

Дослідження морфологічного стану репродуктивної системи самців мишей IV групи на 10-ий день експерименту показало, що на тлі введення ДГ відносна маса яєчок зменшується майже на 16,67 % у порівнянні з контролем, і становить $0,003 \pm 0,0001$ (табл. 3.3.1).

**Відносні маси яєчок самців IV групи після введення доксорубоміцину
гідрохлорида ($M \pm m$)**

	Контрольна група	10-ий день	20-ий день	30-ий день
Відносна маса яєчок	$0,0036 \pm 0,0001$	$0,003 \pm 0,0001^*$ $p < 0,001$	$0,0028 \pm 0,0001^*$ $p < 0,001$	$0,0017 \pm 0,0001^*$ $p < 0,001$

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контрольної групи

При оцінці морфологічного стану яєчок поверхневі судини білкової оболонки яєчка були розширені. Білкова оболонка щільна, сіро-білого кольору. На розтині тканина яєчка у вигляді сіро-білої однорідної пухкої маси, вибухає в провіт розтину.

Відносна кількість каналців зі злуцтвом епітелієм різко зростає до $10,15 \pm 0,83$, перевищуючи контрольний показник майже в 2,3 рази (рис. 3.3.1).

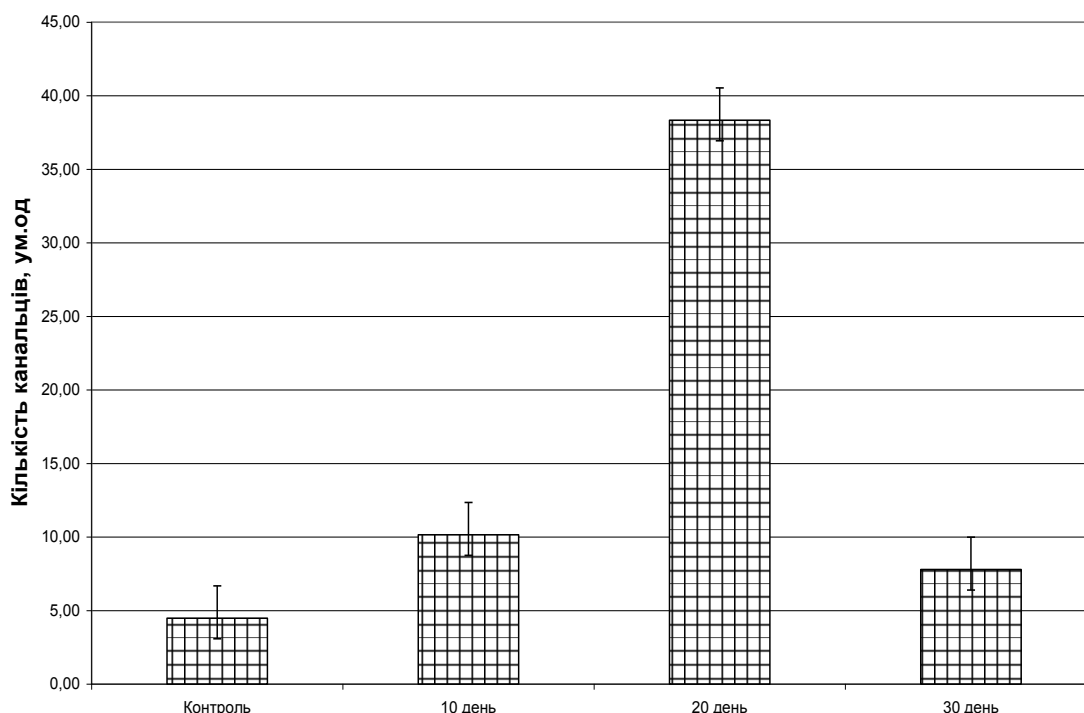


Рис. 3.3.1. Відносна кількість каналців зі злуцтвом епітелієм самців IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлорида (ум.од.).

Товщина сперматогенного епітелію в V стадії була $5,46 \pm 0,08$ мкм ($p < 0,001$ по відношенню до контролю), що становило 62,54 % від показника контрольної групи (рис. 3.3.2).

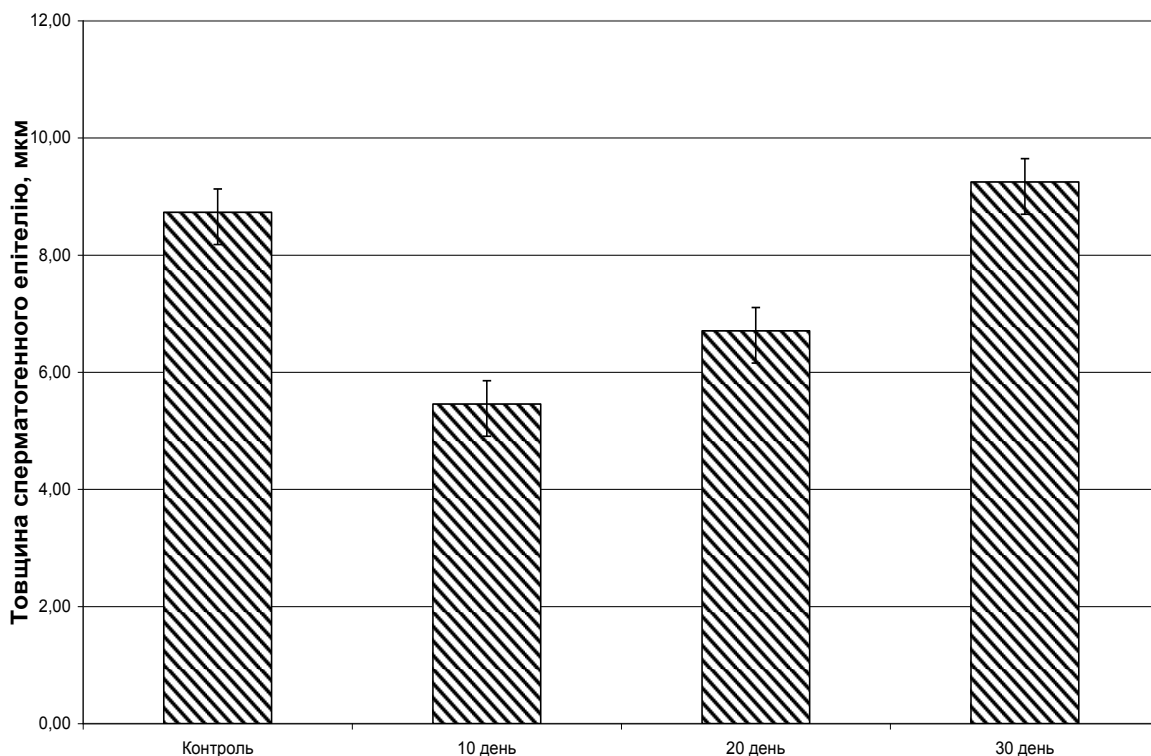


Рис. 3.3.2. Товщина сперматогенного епітелія в V стадії самців IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлорида (мкм)

Вимірювання питомої площі сперматогоній показало майже повне їх щезнення – 6,01 % від контролю; клітин Сертолі – зменшення на 8,97 % ; клітин Лейдига – зниження на 55,22 % у порівнянні з контролем (табл. 3.3.2). В цей самий час питома площа інтерстицію зростає на 65,92 %, товщини базальної мембрани – збільшується на 43,57 %. Водночас із зменшенням питомої площі тестикулярної тканини простір між клітинами сперматогенного епітелію значно збільшився, і становив 16,06, що майже у 3,4 рази більше ніж у контролі, а просвіт каналців збільшився на 24,68 %. Індекс сперматогенезу становив для V стадії 4,18, що на 13,17 % нижче

показника контрольної групи; I_c в VII стадії був на 19,25 % нижче контрольних даних, і становив 3,69 (рис. 3.3.3).

Таблиця 3.3.2

Морфометричні показники сім'яних каналців самців IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлориду

№ п/п	Показник	Контрольна група	10-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$0,39 \pm 0,03^*$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$1,32 \pm 0,10$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,02^*$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$10,32 \pm 0,052^*$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$2,01 \pm 0,1^*$
6.	Простір між клітинами сперматогеного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$16,06 \pm 0,67^*$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$17,53 \pm 0,80^*$

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна відносно контрольної групи.

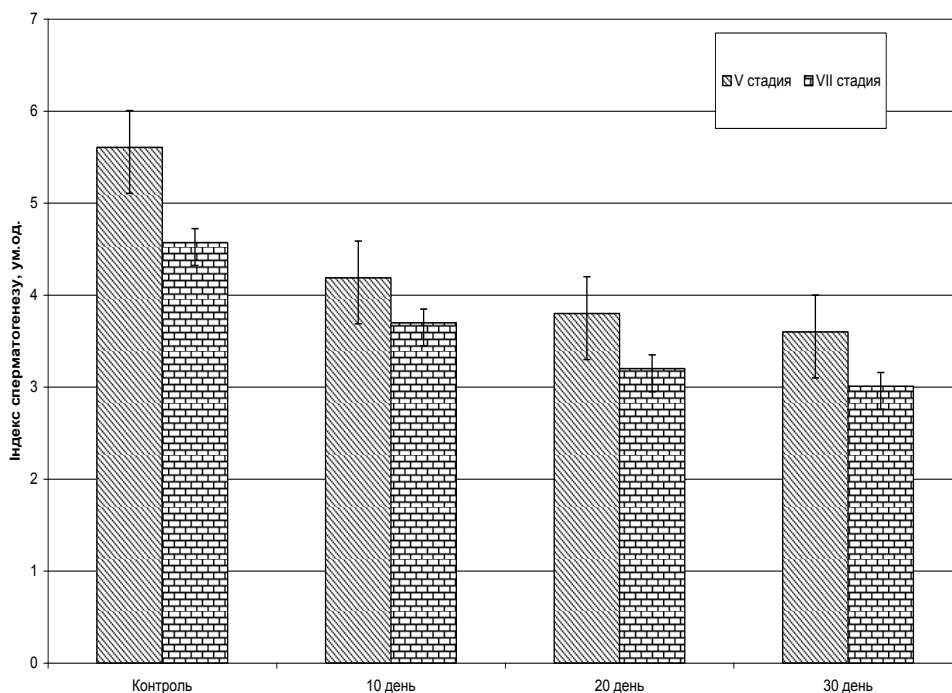


Рис. 3.3.3. Індекс сперматогенезу самців мишей IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлориду.

На 20-ий день після останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлорида над'яєчка були представлені звичайно сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, з різко вираженим судинним рисунком. Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози слабо бугриста, блідо сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

Відносна маса яєчок продовжувала знижуватися, і була на 22,20 % менше порівняно до контролю (табл. 3.3.1). Білкова оболонка яєчка була щільною, сіро-білого кольору, судини розширені.

Товщина сперматогенного епітелію становила $6,71 \pm 0,47$ мкм, що на 22,9 % більше за показник попереднього терміну і на 23,14 % менше за показник контрольних тварин (рис. 3.3.2).

Відносна кількість каналців із злущеним епітелієм збільшувалася майже в 4 рази порівняно з попереднім терміном, і в 8,56 разів – порівняно з контрольною групою, становлячи $38,34 \pm 3,05$ (рис. 3.3.1).

Питома площа сперматогоній зменшувалася на 12,82 % порівняно з попереднім терміном, і становила 5,24 % від контролю (табл. 3.3.3). Питома площа клітин Сертолі залишалася на рівні попереднього терміну, і була на 8,97% меншою за контроль; клітин Лейдига – була на 26,67 % нижчою за показник попереднього терміну, становлячи третину від показника контрольної групи; інтерстицію – знизилася на 8,04 % порівняно з попереднім терміном, але залишалася майже на 53 % вищою, ніж у тварин контрольної групи; товщини базальної мембрани – знизилася на 9,95 % порівняно з попереднім терміном, але була вищою за тварин контрольної групи на 29,29 %. Простір між клітинами сперматогенного епітелію продовжував збільшуватися, і становив 17,93, що майже у 3,8 рази більше ніж у контролі. У цей самий час просвіт каналців дещо зменшувався (на 6,16 %) у порівнянні з попереднім терміном, але залишався на 17 % вищим за дані контрольної групи.

Морфометричні показники сім'яних каналців самців IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлориду (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	20-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	6,49 ± 0,18	0,34±0,02*
2.	Питома площа клітин Сертолі	1,45 ± 0,18	1,32±0,09
3.	Питома площа клітин Лейдига	0,67 ± 0,05	0,22±0,02*
4.	Питома площа інтерстицію	6,22 ± 0,49	9,49±0,65*
5.	Питома площа базальної мембрани	1,40 ± 0,13	1,81±0,08*
6.	Простір між клітинами сперматогеного епітелію	4,78 ± 0,23	17,93±0,65*
7.	Просвіт каналців	14,06±1,14	16,45±0,74

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс сперматогенезу продовжував знижатися, і становив для V стадії 4,19, для VII стадії – 3,69, що менше показників контрольної групи на 25,35 та на 19,25 % відповідно (рис. 3.3.3).

Над'яєчка були представлені добре сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, судинний рисунок більш виразний ніж на 10-ий день. Передміхурова залоза розташована в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складається з двох часточок. Поверхня залози слабко бугриста, сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

На 30-ий день експерименту відносна маса яєчок продовжувала знижатися як у порівнянні з контролем, так і у порівнянні з попереднім терміном, і була менше на 52,80 та 30,00 % відповідно (табл. 3.3.1). Білкова оболонка яєчка залишалася незміненою.

Відносна кількість каналців із злуцтвом епітелієм була у 4,92 рази меншою порівняно з попереднім терміном, але у 1,74 разів більшою ніж у контролі, і становила $7,79 \pm 0,67$ (рис. 3.3.1).

Товщина сперматогенного епітелію підвищувалася майже на 37,85 % у порівнянні з попереднім терміном, та на 8,13 % більшою за показник контролю, і становила $9,25 \pm 0,44$ мкм (рис. 3.3.2).

Питома площа сперматогоній підвищувалася на 17,64 % порівняно з попереднім терміном, становлячи 6,16 % від контролю (табл. 3.3.4). Питома площа клітин Сертолі залишалася майже на попередньому рівні; клітин Лейдига не відрізнялася від показника попереднього терміну, залишаючись втричі меншою за контрольний показник; інтерстицію – суттєво не відрізнялася від попереднього терміну, і збільшилася майже на 50 % порівняно з контрольною групою; товщини базальної мембрани – не змінювалась по відношенню до попереднього терміну. Простір між клітинами сперматогенного епітелію зменшувався у порівнянні з попереднім терміном на 17,17 %, і становив 14,85, що все ж-таки залишається майже у 3 рази вище ніж у контрольній групі. У цей самий час просвіт каналців майже не відрізнявся від попереднього терміну, і залишався на 19,2 % вищим за дані контрольної групи.

Індекс сперматогенезу продовжував знижатися, і становив для V стадії 3,60, для VII стадії – 3,00, що менше показників контрольної групи на 35,81 та 32,89 % відповідно (рис. 3.3.3).

Передміхурова залоза та над'яечка зберігали морфологічні ознаки, що були характерні до попередніх термінів.

Індекс плодючості для самців IV групи становив 0,62, що практично на 30 % нижче за контроль, і кількість плодів у самок, що спарювали з самцями цієї групи зменшувалась на 35,62 % порівняно з контрольною групою.

Морфометричні показники сім'яних каналців самців IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлориду ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	30-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$0,40 \pm 0,01^*$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$1,36 \pm 0,12$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,03^*$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$9,31 \pm 0,42^*$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$1,80 \pm 0,09^*$
6.	Простір між клітинами сперматогеного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$14,85 \pm 0,80^*$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$16,76 \pm 0,67^*$

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Морфометричне дослідження вмісту нейронів у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей IV групи показало, що у найбільшій кількості у цій зоні виявлялися нейрони I морфофункціонального типу (табл. 3.3.5).

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 0,6, для АЯ – 1,4, що становить 29,13 та 20,9 % відповідно у порівнянні з контрольною групою.

Таким чином, виявляється морфофункціональна неспроможність репродуктивної системи самців за умов впливу доксорубоміцину гідрохлориду. Ефекти доксорубоміцину гідрохлориду, який активно затримує мітотичний поділ клітин і здійснює прямий токсичний вплив на гонади самців, пригнічуючи значною мірою і репродуктивну функцію, у самок реалізуються у вигляді зниження маси внутрішніх репродуктивних

органів, помірного розвитку дистрофічного процесу у залозистих структурах ендометрія, не оказуючи виразного впливу на здатність до запліднення та плодючість. Це підтверджує існуючі дані про більшу стійкість гамет самок до зовнішніх подразників порівняно з самцями [325].

Таблиця 3.3.5

Вміст нейросекретуючих нейронів у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамусу самців IV групи після введення доксорубоміцину гідрохлорида ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	IV група
СОЯ	I	27,79±0,46	56,33±0,65*
	II	48,76±0,70	30,70±0,57*
	III	13,42±0,75	2,11±0,13*
	IV	5,24±0,36	3,41±0,18*
	V	4,91±0,48	7,50±0,26*
АЯ	I	7,70±0,46	35,73±0,67*
	II	54,20±0,99	29,40±0,59*
	III	18,30±0,98	15,32±0,40*
	IV	14,51±0,86	12,84±0,46*
	V	5,30±0,44	6,84±0,29*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

У самців VI групи на 10-ий день після припинення спаявання розчином нітриту натрія в концентрації 0, 3 % над'яєчка були представлені добре сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, з різко вираженим судинним рисунком і чітким рисунком каналцевого апарату. При оцінці морфологічного стану ячок поверхневі судини білкової оболонки яєчка були розширені. Білкова оболонка щільна, сіро-білого кольору. На розтині тканина яєчка у вигляді сіро-білої однорідної пухкої маси, вибухає в просвіт розтину.

Відносна маса яєчок зменшується майже на 20 % у порівнянні з контролем, становлячи $0,003\pm 0,0001$ (табл. 3.3.6). При макроскопічному дослідженні зовнішніх уражень яєчок та над'яєчок не виявлено.

Таблиця 3.3.6

Відносні маси яєчок самців VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % ($M\pm m$)

	Контрольна група	10-ий день	20-ий день	30-ий день
Відносна маса яєчок	$0,0036\pm 0,0001$	$0,003\pm 0,0001^*$ $p<0,001$	$0,0028\pm 0,0001^*$ $p<0,001$	$0,0032\pm 0,0001^*$ $p<0,001$

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм різко зростає, перебільшуючи показник тварин контрольної групи у 2,66 рази (рис. 3.3.4).

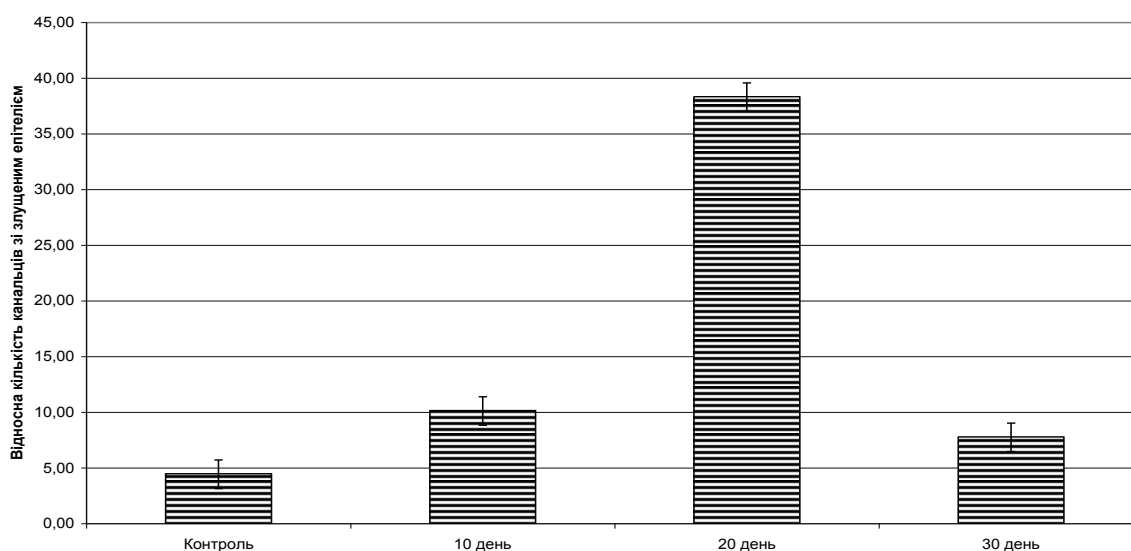


Рис. 3.3.4. Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм у самців VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 %.

Товщина сперматогенного епітелію в V стадії була $7,82\pm 0,09$ мкм, що становило 89,14 % від показника контрольної групи (рис. 3.3.5).

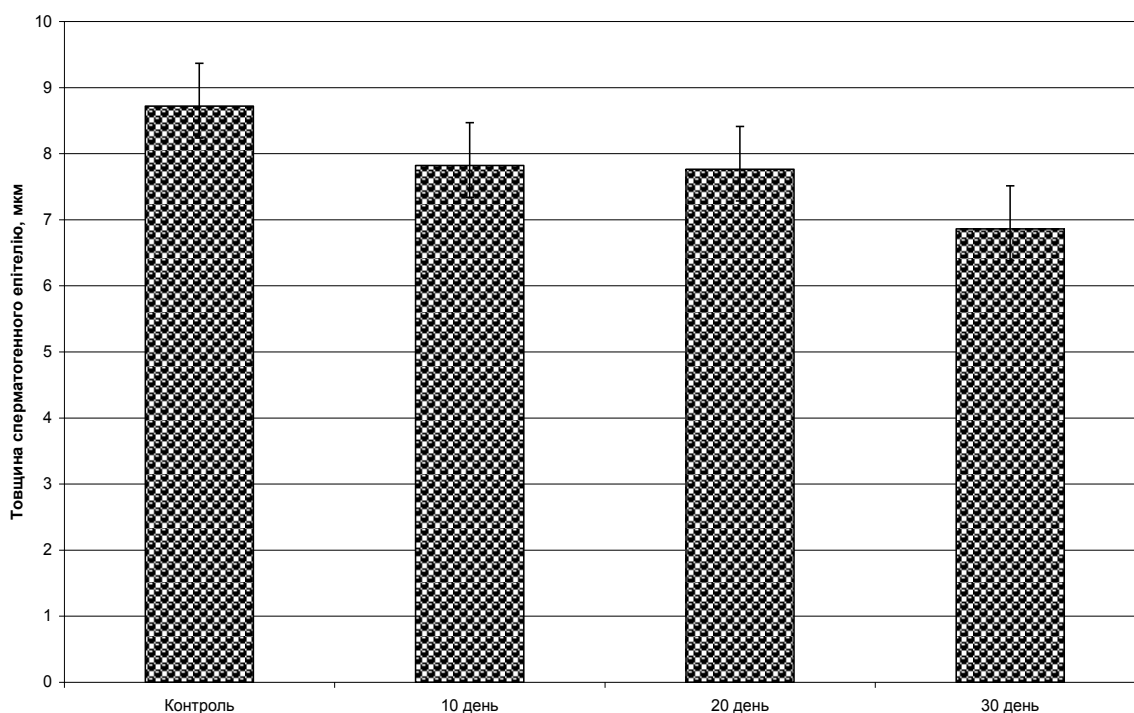


Рис. 3.3.5. Товщина сперматогенного епітелію в V стадії сперматогенезу самців VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 %.

Питома площа окремих компонентів тканини яєчка була такою: сперматогоній – 6,34 (майже не відрізняється від контролю); клітин Сертолі – 1,22 (менше за показники контрольної групи на 15,86 %); клітин Лейдига – 0,80 (на 19,40 % перевищує контроль); інтерстицію – 6,75 (на 8,52 % більше за контрольну групу); товщини базальної мембрани – 0,97 (майже на 30,71 % менше, ніж у контрольної групи) (таблиця 3.3.7). Водночас із збільшенням питомої площі тестикулярної тканини простір між клітинами сперматогенного епітелію значно збільшився, і становив 6,20, що складає майже 130 % у порівнянні з контрольною групою. В цей самий час просвіт каналців зменшувався на 36,63 % порівняно з контролем.

Морфометричні показники сім'яних каналців самців VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % на 10-ий день експерименту ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	10-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$6,34 \pm 0,36$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$1,22 \pm 0,05$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$0,80 \pm 0,05$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$6,75 \pm 0,39$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$0,97 \pm 0,13^*$
6.	Простір між клітинами сперматогеного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$6,20 \pm 0,78^*$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$8,91 \pm 1,19^*$

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс сперматогенезу становив для V стадії $6,31 \pm 0,18$, що на 12,47 % перевищує показник контрольної групи; I_c в VII стадії вірогідно не відрізнявся від контрольних даних ($p > 0,05$), і становив $4,80 \pm 0,16$ (рис. 3.3.6).

Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози була слабо бугристою, блідого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

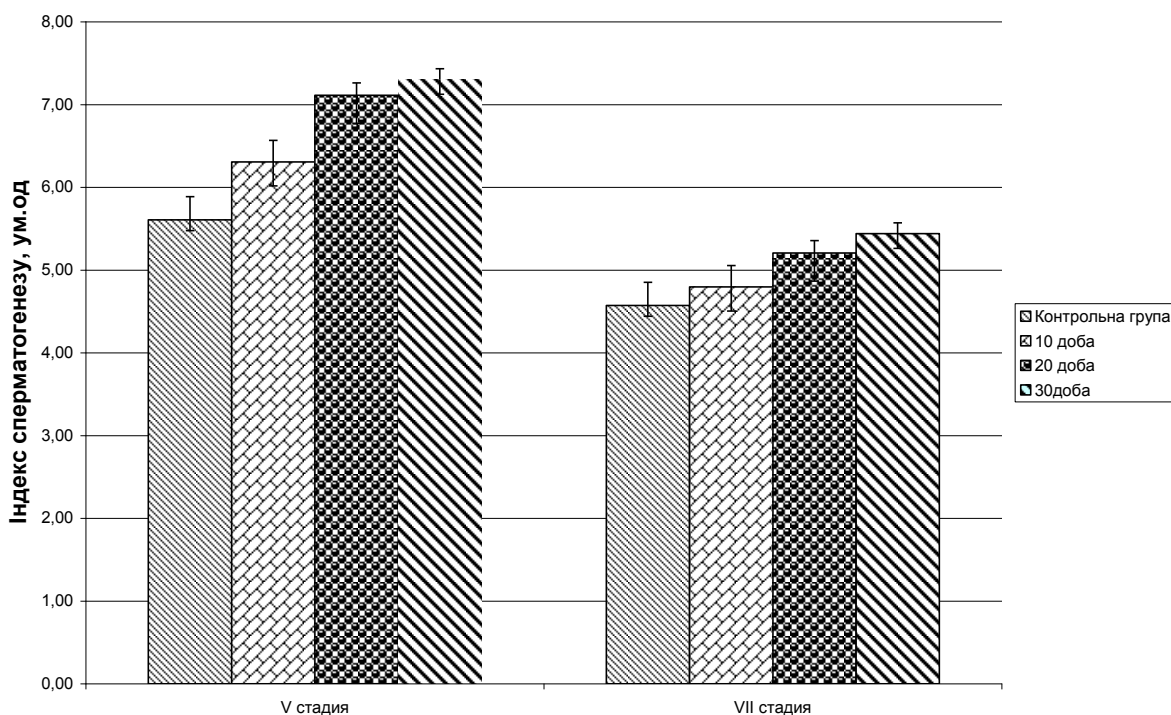


Рис. 3.3.6. Індекс сперматогенезу самців VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % в V та VII стадіях сперматогенезу.

На 20-ий день експерименту поверхневі судини білкової оболонки яєчка залишалися розширеними. Білкова оболонка сіро-біла, на дотик щільна. Тканина яєчка на розтині однорідна, сіро-білого кольору, вибухає в провіт. Відносна маса яєчок становила $0,0028 \pm 0,0001$ (табл. 3.3.6).

Товщина сперматогенного епітелію зростає на 7,67 % у порівнянні з попереднім терміном, та залишається значно меншою (на 11,01 %) відносно контрольної групи, і становить $7,76 \pm 0,23$ мкм (рис. 3.3.5).

Спостерігається різке підвищення відносної кількості каналців із злущеним епітелієм у порівнянні з попереднім терміном та контролем – у 3,78 та 8,55 разів відповідно (рис. 3.3.4).

Питома площа сперматогоній продовжує знижуватись, і стає нижчою на 17,35 % у порівнянні з попереднім терміном та на 19,26 % порівняно з контрольною групою; клітин Сертолі – зменшується вдвічі у порівнянні з попереднім терміном, становлячи 44,83 % від показника тварин

контрольної групи; клітин Лейдига – не змінюється порівняно з попереднім терміном; площі інтерстицію – зростає на 29,63 % у порівнянні з попереднім терміном, і на 40,68 % порівняно з контрольною групою; товщини базальної мембрани – зростає на 54,64 % порівняно з попереднім терміном, та стає на 7,14 % вищою за контрольні значення (табл. 3.3.8). Простір між клітинами сперматогенного епітелію зростає на 21,61 % у порівнянні з попереднім терміном та на 57,74 % порівняно до контрольної групи, а просвіт каналців зменшується у порівнянні з попереднім терміном на 4,60 %, становлячи 60,46 % від показника контрольної групи.

Таблиця 3.3.8

Морфометричні показники сім'яних каналців самців VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % на 20-ий день експерименту (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	20-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	6,49 ± 0,18	5,24±0,10*
2.	Питома площа клітин Сертолі	1,45 ± 0,18	0,65±0,05*
3.	Питома площа клітин Лейдига	0,67 ± 0,05	0,80±0,06
4.	Питома площа інтерстицію	6,22 ± 0,49	8,75±0,49*
5.	Питома площа базальної мембрани	1,40 ± 0,13	1,50±0,19
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	4,78 ± 0,23	7,54±0,9*
7.	Просвіт каналців	14,06±1,14	8,50±0,86*

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс сперматогенезу для V стадії продовжував зростати, і перевищував контрольні дані на 26,79 %, а в VII стадії – на 13,79 % вище ніж у контролі (рис. 3.3.6).

Над'яєчка були представлені добре сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, судинний рисунок менш виразний ніж на 10-ий день. Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози була слабо бугристою, блілого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

На 30-ий день експерименту відносна маса яєчок дещо зростала у порівнянні з попереднім терміном, і становила $0,0032 \pm 0,0001$ (табл. 3.3.6). Білкова оболонка яєчок зберігала свої макроскопічні показники, поверхневі судини, як і у попередні терміни, були розширеними.

Товщина сперматогенного епітелію була $6,86 \pm 0,10$ мкм, що на 21,33 % менше за контроль та на 11,6 % нижче за попередній термін (рис. 3.3.5).

Відносна кількість каналців із злущеним епітелієм стає набагато нижчою за цей показник на 10-ий та 20-ий дні, але перевищує висхідні показники контрольної групи тварин, становлячи 173,88 % (рис. 3.3.4).

Питома площа сперматогоній зменшується на 10,5 % відносно попереднього терміну, і на 27,73 % відносно контролю (табл. 3.3.9). Питома площа клітин Сертолі становить половину від попереднього терміну, і лише 22,76 % від значення контрольної групи; клітин Лейдига, навпаки, трохи зростає у порівнянні з попередніми термінами, і перевищує на 23,88 % показник контрольної групи; інтерстицію – збільшується на 18,17 % у порівнянні з попереднім терміном, і майже в 2 рази – порівняно з контрольною групою; товщини базальної мембрани – зростає на 21,33 % порівняно з попереднім терміном, і на 15,71 % перевищує контрольний показник. Простір між клітинами знижується вдвічі у порівнянні з показником попереднього терміну, і становить 4,08, що на 14,64 % нижче

за показник контрольної групи. Просвіт каналців зберігає тенденцію до зменшення, і становить 55,19 % від рівня контрольної групи.

Таблиця 3.3.9

Морфометричні показники сім'яних каналців самців VI групи на 30-ий день експерименту після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	30-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$4,69 \pm 0,21^*$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$0,33 \pm 0,03^*$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$0,83 \pm 0,08$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$10,34 \pm 0,60^*$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$1,18 \pm 0,09$
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$4,08 \pm 0,52$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$7,76 \pm 0,91^*$

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс сперматогенезу в V стадії на 30,12 %, а в VII стадії – на 19,04 % вище за контроль (рис. 3.3.6).

Дослідження над'ячок виявило незмінність їх макроскопічної структури, вони зберігали сіро-білий колір, судинний рисунок не відрізнявся від такого на 20-ий день експерименту. Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози була слабо бугристою, блілого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

Індекс плодючості у самців VI групи становив 0,84. Це на 3,45 % нижче за контрольну групу тварин, але така різниця не є вірогідною. Кількість плодів у самок контрольної групи після спарювання з самцями даної групи зменшувалась майже на 35 %, і становила в середньому 7,12. Макроскопічне обстеження плодів природжених аномалій розвитку не виявило.

Морфометричне дослідження вмісту нейронів у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей VI групи показало, що у найбільшій кількості виявлялися нейрони II морфо-функціонального типу (табл. 3.3.10).

Таблиця 3.3.10

Середній вміст нейросекреторних клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей VI групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	VI група
СОЯ	I	27,79±0,46	36,83±0,97*
	II	48,76±0,70	37,92±0,87*
	III	13,42±0,75	8,32±0,41*
	IV	5,24±0,36	10,92±0,39*
	V	4,91±0,48	6,12±0,23*
АЯ	I	7,70±0,46	16,63±0,76*
	II	54,20±0,99	32,31±0,95*
	III	18,30±0,98	19,91±0,65
	IV	14,51±0,86	6,83±0,54*
	V	5,30±0,44	24,40±0,90*

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 1,33, для АЯ – 1,4, що на 35,44 та 79,1 % відповідно нижче за показники тварин контрольної групи.

У самців Х групи, що вживали нітрит натрія в концентрації 0,03 %, на 10-ий день після припинення спаявання нітриту відносна маса яєчок знижалася на 8,33 % у порівнянні з контрольною групою, і становила $0,0033 \pm 0,0001$ (табл. 3.3.11). Білкова оболонка щільна, сіро-білого кольору, судинний малюнок не змінений.

Таблиця 3.3.11

Відносні маси яєчок самців Х групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % ($M \pm m$)

	Контрольна група	10-ий день	20-ий день	30-ий день
Відносна маса яєчок	$0,0036 \pm 0,0001$	$0,0033 \pm 0,0001$ $p > 0,05$	$0,0038 \pm 0,0002$ $p > 0,05$	$0,0038 \pm 0,0002$ $p > 0,05$

Морфологічне дослідження стану статевих залоз показало, що товщина сперматогенного епітелію становила $8,54 \pm 0,08$ мкм, що на 2,06 % нижче за показник контрольної групи (рис. 3.3.7).

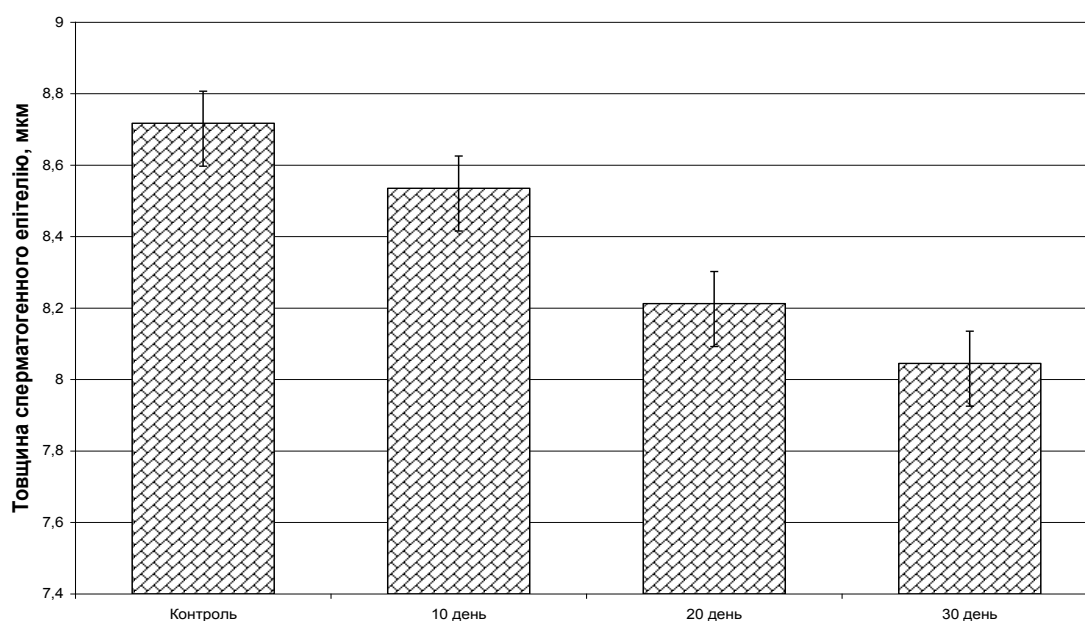


Рис. 3.3.7. Товщина сперматогенного епітелія в V стадії сперматогенезу самців Х групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 %.

Відносна кількість каналців із злуцтеним епітелієм зростала на 77,67 % у порівнянні з контролем (рис. 3.3.8).

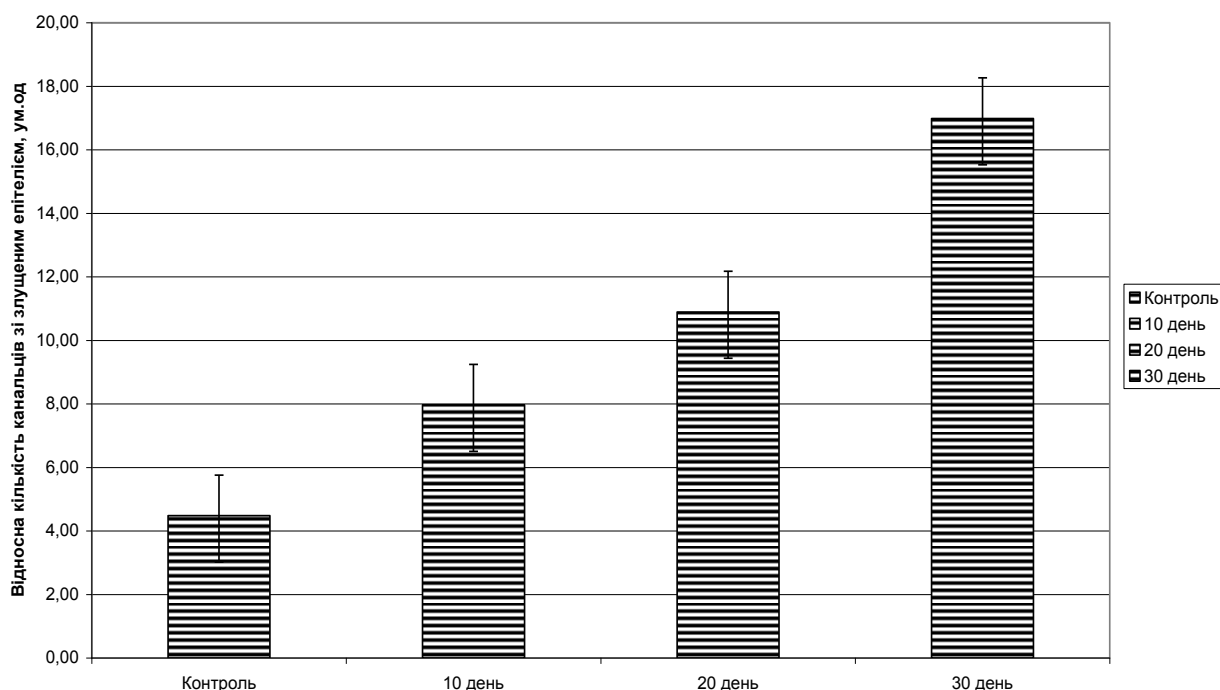


Рис. 3.3.8. Відносна кількість каналців зі злуцтеним епітелієм самців X групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 %.

За даними морфометричного дослідження показників сперматогенного епітелія питома площа сперматогоній та клітин Сертолі знижувалася вдвічі у порівнянні з контролем; клітин Лейдига, навпаки, підвищувалася на 49,25 % у порівнянні з контрольною групою (табл. 3.3.12). Показники питомих площ просвіту каналців та інтерстицію становили $14,35 \pm 1,09$ та $6,29 \pm 0,42$ відповідно, тобто вірогідно не відрізнялися від даних контрольної групи тварин, тоді як товщини базальної мембрани – зростали на 60,71 % порівняно з контролем. Простір між клітинами сперматогенного епітелію зменшувався на 16,53 % порівняно з тваринами контрольної групи.

Морфометричні показники сім'яних каналців самців X групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % на 10-ий день експерименту ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	10-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$3,24 \pm 0,29^*$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$0,75 \pm 0,08^*$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$1,00 \pm 0,07^*$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$6,29 \pm 0,42$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$2,25 \pm 0,13^*$
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$3,99 \pm 0,18^*$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$14,35 \pm 1,09$

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю.

Індекс сперматогенезу в V стадії зростав на 18,75 %, в VII стадії – залишався майже на рівні контрольних показників (рис. 3.3.9).

Над'яєчка були представлені добре сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, з виразним судинним рисунком і чітким рисунком каналцевого апарату.

Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози була слабо бугристою, блілого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

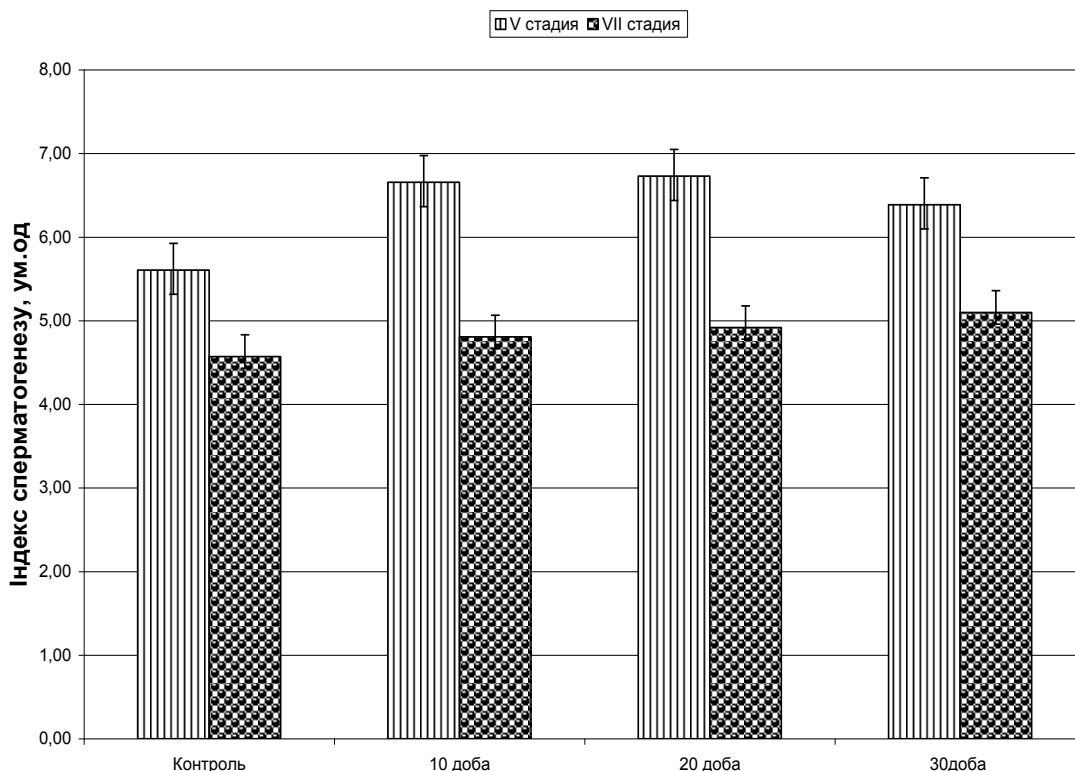


Рис. 3.3.9. Індекс сперматогенезу самців Х групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 %.

На 20-ий день експерименту відносна маса яєчок зростала, сягаючи контрольних показників, навіть з перевищенням їх на 5,56 % (табл. 3.3.11). Макроскопічна структура білкової оболонки не відрізнялася від такої у попередньому терміні.

Товщина сперматогенного епітелію знижалася на 3,86 % у порівнянні з попереднім терміном, та становила 94,15 % від контрольної групи – $8,21 \pm 0,09$ (рис. 3.3.7).

Відносна кількість каналців із злуценом епітелієм зростала на 36,81 % у порівнянні з попереднім терміном, та в 2,43 рази перевищувала цей показник контрольної групи (рис. 3.3.8).

Питома площа сперматогоній була практично вдвічі меншою за контроль, і становила 3,58, тобто, на 10,49 % перевищувала показник попереднього терміну; клітин Сертолі – підвищувалась на 17,33 % у порівнянні з попереднім терміном, але залишалась на 39,31 % меншою за

контроль; клітин Лейдига – на 30 % знижувалась у порівнянні з попереднім терміном, але на 4,48 % перевищувала показник контрольної групи (табл. 3.3.13). Питома площа інтерстицію продовжувала зростати, становлячи 114,50 % від контролю; товщини базальної мембрани – знижувалась на 11,11 % у порівнянні з попереднім терміном, та залишалась на 42,86 % вищою за контроль.

Таблиця 3.3.13

Морфометричні показники сім'яних каналців самців X групи після отримання речовини нітриту натрія в концентрації 0,03 % на 20-ий день експерименту (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	20-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	6,49 ± 0,18	3,58±0,29*
2.	Питома площа клітин Сертолі	1,45 ± 0,18	0,88±0,06*
3.	Питома площа клітин Лейдига	0,67 ± 0,05	0,70±0,05
4.	Питома площа інтерстицію	6,22 ± 0,49	7,12±0,47
5.	Питома площа базальної мембрани	1,40 ± 0,13	2,00±0,10*
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	4,78 ± 0,23	5,20±0,23
7.	Просвіт каналців	14,06±1,14	14,76±1,09

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс сперматогенезу в V стадії становив 6,73±0,17, що є більшим на 19,96 % за контроль, в VII стадії – 4,92±0,13, що практично не відрізняється від попереднього терміну, і на 7,66 % перевищує контрольний показник (рис. 3.3.9).

Над'яєчка були представлені утворюваннями сіро-білого кольору звичайної макроскопічної структури, судинний рисунок не мав відмінностей від такого у попередній термін. Передміхурова залоза

розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози була слабо бугристою, сіро-жовтого кольору з чітким судинним рисунком. Така сама картина над'ячок та передміхурової залози спостерігалася й на 30-ий день експерименту.

На 30-ий день експерименту відносна маса яєчок становила $0,0038 \pm 0,0002$, що не відрізняється від цього показника у попередньому терміні. Білкова оболонка також не змінена.

Товщина сперматогенного епітелію становила $8,05 \pm 0,07$ мкм, що на 7,68% нижче за контрольний показник та вірогідно не відрізняється від показника попереднього терміну (рис. 3.3.7).

Відносна кількість каналців із злущеним епітелієм продовжувала зростати як по відношенню до попереднього терміну, так й у порівнянні з контролем, становлячи $16,98 \pm 1,09$ (рис. 3.3.8).

Питома площа сперматогоній залишалася на рівні попереднього терміну; клітин Сертолі – продовжувала зростати, але все ще становила 76,55 % від контролю; клітин Лейдига – залишалася на рівні попереднього терміну, перевищуючи на 5,97 % показник контрольної групи (табл. 3.3.14). Питома площа інтерстицію підвищувалась у порівнянні з попередніми термінами, і становила 138,10 % від контролю; базальної мембрани – продовжувала знижатися, хоча й залишалася вищою за контроль на 15,00 %. Простір між клітинами SE продовжував зростати, і становив 123,85 % від контрольного значення. Просвіт каналців зменшувався на 19,58 % у порівнянні з попереднім терміном, і став на 15,58 % меншим за контроль.

Індекс сперматогенезу становив для V стадії $6,39 \pm 0,26$, що на 14,60 % перевищує контрольний показник, і на 3,36 % менше за показник попереднього терміну; у VII стадії – $5,10 \pm 0,09$, це майже на 12 % вище за контроль і вірогідно не відрізняється від показника попереднього терміну (рис. 3.3.9).

Індекс плодючості у самців X групи становив 0,78, що на 10,34 % менше за контроль.

Таблиця 3.3.14

Морфометричні показники сім'яних каналців самців X групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % на 30-ий день експерименту (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	30-ий день
1.	Питома площа сперматогоній	6,49 ± 0,18	3,57±0,26*
2.	Питома площа клітин Сертолі	1,45 ± 0,18	1,11±0,07
3.	Питома площа клітин Лейдига	0,67 ± 0,05	0,71±0,05
4.	Питома площа інтерстицію	6,22 ± 0,49	8,59±0,49*
5.	Питома площа базальної мембрани	1,40 ± 0,13	1,61±0,23
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	4,78 ± 0,23	5,92±0,29*
7.	Просвіт каналців	14,06±1,14	11,87±1,04

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Кількість плодів у контрольних самок після спарювання з самцями даної групи зменшувалась на 8,05 %, і становила в середньому 10,17. Макроскопічне обстеження плодів природжених аномалій розвитку не виявило.

Морфометричне дослідження вмісту нейронів у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей X групи показало, що у найбільшій кількості в цій зоні виявлялися нейрони II морфофункціонального типу (табл. 3.3.15.).

Індекс активності нейронів становив для СОЯ – 2,2, для АЯ – 9,9, що на 6,8 та 487,76 % відповідно перевищує показники контрольної групи.

Середній вміст нейросекреторних клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей X групи після отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	X група
СОЯ	I	27,79±0,46	23,61±0,91*
	II	48,76±0,70	43,43±0,84*
	III	13,42±0,75	17,42±0,64*
	IV	5,24±0,36	8,20±0,18
	V	4,91±0,48	7,43±0,15*
АЯ	I	7,70±0,46	2,71±0,08
	II	54,20±0,99	43,81±0,97*
	III	18,30±0,98	27,83±0,71*
	IV	14,51±0,86	19,25±0,60*
	V	5,30±0,44	6,53±0,40*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Співставлення показників активності нейронів у досліджених групах (рис. 3.3.10) показало, що за умов ураження доксорубоміцину гідрохлоридом, так само як і у самок відповідної групи, відбувається різке пригнічення секреторної активності нейронів СОЯ та АЯ гіпоталамуса головного мозку порівняно з контрольною групою. За умов впливу розчину нітриту натрія у концентрації 0,3 % індекс активності нейронів різко зменшується, тоді як при вживанні розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % відбувається значне підвищення цього індексу не тільки порівняно з VI групою, а й навіть у співставленні з показниками тварин контрольної групи.

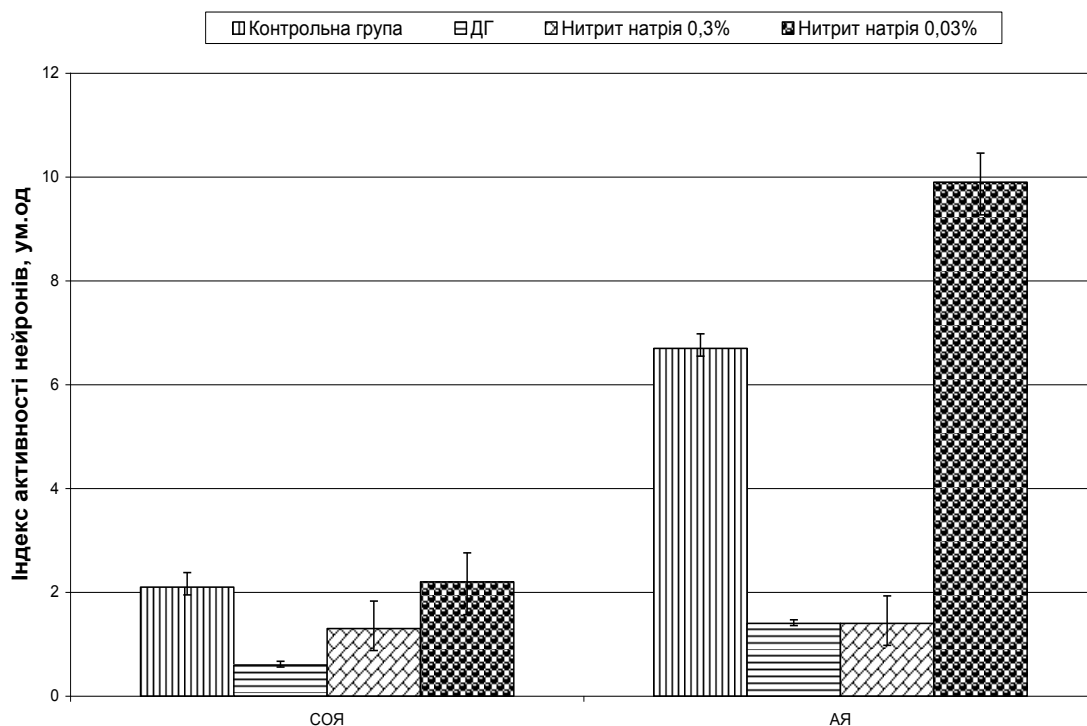


Рис. 3.3.10. Співвідношення індексів активності нейронів СОЯ та АЯ гіпоталамуса самців IV (доксорубоміцину гідрохлорид), VI (нітрит натрія 0,3 %) та X груп (нітрит натрія 0,03 %)

Обчислення ПМФСРС та активності нейронів у самців IV, VI та X груп показало (табл. 3.3.16, табл. 3.3.17), що негативного впливу на репродуктивну систему самців мишей оказують доксорубоміцину гідрохлорид та розчин нітриту натрія у концентрації 0,3 % – величина ПМФСРС 17,5 та 26,5 балів відповідно, тоді як у контрольній групі цей показник становить 30 балів, а в групі, де тварини вживали розчин нітриту натрія в концентрації 0,03 %, – 28 балів.

Підсумовуючи результати дослідження впливу доксорубоміцину гідрохлориду на морфофункціональний стан репродуктивної системи мишей, можна стверджувати, що у самок розвиваються дистрофічні зміни залоз ендометрія у всі досліджувані терміни, прогресивне зниження відносної маси комплексу матка/яєчник до 20-го дня спостереження з наступним зростанням майже до контрольних показників на 30-ту добу

експерименту. Також відбувалися суттєві розлади у протіканні естрального циклу. В СОЯ та АЯ гіпоталамуса переважну більшість становили нейрони I типу (тобто ті, що знаходилися у стадії дегенерації або пригнічення функціональної активності). Кількість плодів у породіллі різко знижалася.

Таблиця 3.3.16

**Інтегральний показник морфофункціонального стану
репродуктивної системи самців IV, VI та X груп (в балах)**

№ п/п		Бали	Контрольна група	IV група (ДГ)	VI група (нітрит натрія 0,3 %)	X група (нітрит натрія 0,03 %)
1.	I _п	10	10	7	9	11
2.	Відносна маса яєчок	5	5	3,5	4	5
3.	Питома площа SE	5	5	3,5	4	4,5
4.	I _{ст}	5	5	3,5	5	5
5.	Питома площа сперматогоній	5	5	0	4,5	2,5
6.	ІПМФСРС	30	30	17,5	26,5	28

Таблиця 3.3.17

Індекс активності нейронів самців IV, VI та X груп (в балах)

I _{ан}	Контрольна група	IV група (ДГ)	VI група (нітрит натрія 0,3 %)	X група (нітрит натрія 0,03 %)
Бали	5	3,5	1,5	4

У самців введення доксорубоміцину гідрохлориду призводило до суттєвого зниження відносної маси яєчок, становлячи на 30-ту добу лише половину від показника контрольних тварин. Різко зростає кількість каналців зі злущеним епітелієм, хоча й спостерігається деяке зниження цього показника на 30-ий день експерименту. Суттєво зростають питомі площі інтерстицію та базальної мембрани у всі досліджувані терміни. Прогресивно знижується індекс сперматогенезу. Індекс плодючості був майже на 30 % нижче за контроль, а кількість плодів, отриманих від спарювання з інтактними самками знижалась на 35,62 %. Характерною рисою було переважання нейронів I функціонального типу в ядрах СОЯ та АЯ гіпоталамуса, що призвело до зниження індексу активності цих нейронів практично на 30 та 20 % відповідно.

У результаті проведених досліджень впливу розчину нітриту натрію в концентрації 0,03 % на морфофункціональний стан репродуктивної системи було виявлено, що у самок він призводить до помірного зниження відносної маси комплексу матка/яєчники, нормалізації протікання естрального циклу, підвищення індексу плодючості до 1,0 та індекс активності нейронів СОЯ та АЯ гіпоталамуса (для АЯ – майже вдвічі) відносно контрольної групи.

Вживання розчину нітриту натрію у концентрації 0,3 % у самок призводило до суттєвого зниження відносної маси комплексу матка/яєчники, причому цей процес підсилювався з часом. Спостерігаються значні розлади у протіканні естрального циклу з наступним різким зниженням фертильності. Серед нейронів ядер гіпоталамуса переважали нейрони I функціонального типу, індекс активності нейронів становив лише третину від контрольних показників.

Надходження надлишкової кількості нітриту натрію призводило до зменшення відносної маси яєчок самців мишей, зростання кількості сім'яних каналців із злущеним епітелієм, особливо в групі тварин, які вживали розчин нітриту високої концентрації, де також спостерігалось

майже повне зникнення сперматогоній, зниження товщини сперматогенного епітелію та інших ознак ураження морфологічного стану репродуктивної системи. Відмінністю був той факт, що на 30-ту добу від початку експерименту відбувалося часткове відновлення структури гонад у випадку вживання висококонцентрованого розчину нітриту, і повне відновлення з покращанням висхідних параметрів – у випадку вживання розчину помірної концентрації. У цей самий час спостерігалось підвищення індексу сперматогенезу, а також відсутність природжених аномалій розвитку нащадків експериментальних тварин незалежно від концентрації розчину нітриту. Тобто, дія нітриту натрія на сім'яники мишей проявляється двобічно: пошкодженням сперматогенного епітелію з одного боку і активізацією регенераторних процесів – з іншого. Можна припустити, що надходячи до організму у помірних дозах нітрит натрія може не тільки втрачати свої токсичні властивості, але й стимулювати деякі фізіологічні процеси.

Результати розділу опубліковані в наступних статтях, надрукованих в фахових виданнях.

1. Холодкова О. Л. Зміни естрального циклу самок щурів під впливом нітриту натрію / О. Л. Холодкова, А. І. Гоженко, П. М. Матюшенко, Д. М. Пихтєєв, О. О. Муравйова // Вісник морфології. – 2003. – № 2. – С. 253 – 254.

2. Холодкова О. Л. Зміни морфофункціонального стану ендометрія при неплідності неясної етіології / А. І. Даниленко, О. Л. Холодкова, Р. В. Соколов // Вісник проблем біології і медицини. – 2003. – № 4. – С. 59 – 62.

3. Холодкова Е. Л. Гистохимическая характеристика процессов образования оксида азота в тканях почек и печени при интоксикациях разной природы / Б. А. Насибуллин, А. И. Гоженко, Д. М. Пыхтеев, С. И.

Доломатов, Л. В. Гончарова, Е. Л. Холодкова // Вісник морфології. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 102 – 105.

4. Холодкова О. Л. Морфометричні характеристики стадій сперматогенезу мишей в умовах дії нітриту натрію / О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв, А. Л. Щербатюк // Досягнення біології та медицини. – 2006. – № 1(7). – С. 50 – 53.

5. Холодкова О. Л. Можливості застосування адрибластину з метою моделювання токсичного ураження яєчок / О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв, А. Л. Щербатюк // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2006. – № 4(6). – С. 131 – 135.

6. Холодкова О. Л. Стан репродуктивної функції самців білих мишей лінії ICR за умов адрибластинової інтоксикації / О. Л. Холодкова // Вісник наукових досліджень. – 2006. – №. 3. – С. 150 – 151.

Отримано патент України на корисну модель.

1. Пат. 17287 Україна, МПК (2006) G09B 23/02 (2006.1) G09B 23/04 (2006.1). Спосіб моделювання вторинного гіпогонадизму / Запорожан В. М., Холодкова О. Л., Пихтєєв Д. М., Перепелюк М. ; заявник та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № U200603542 ; заявл. 03.06.06 ; опубл. 15.09.2006, Бюл. № 9. – 2 с.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА СПОСОБІВ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ СТАНУ
РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ

Регенеративна медицина була виділена в окрему галузь медичної науки з метою вивчення процесів відновлення морфологічної та функціональної здатності органів та тканин і розробки альтернативних методів їх активізації. Розв'язання основних завдань регенеративної медицини може стати реальністю вже в найближчій перспективі на ґрунті об'єднання нових наукових досліджень та даних першого клінічного досвіду в розвитку альтернативних терапевтичних стратегій. Найбільш перспективними вважають технології, що вже стали майже традиційними для лікарень багатьох країн світу, – клітинну трансплантацію, тканинну інженерію, терапію цитокінами та застосування методів генної терапії.

Публікації, які з'являються в науковій літературі, свідчать про те, що стовбурові клітини, що їх було введено до організму, здатні стимулювати синтез цитокінів власними клітинами реципієнта [326, 327]. Є повідомлення про те, що стовбурові гемопоетичні клітини (CD34⁺) стимулюють експресію фактору інгібування лейкозу (LIF) епітеліальними клітинами печінки щурів при сумісному культивуванні [328]. Цілком вірогідно, що аналогічний процес відбувається й *in vivo*, оскільки матрична РНК LIF у більшій чи меншій кількості синтезується в багатьох органах дорослого організму [329], а особливо – у залозистих клітинах матки напередодні імплантації [330, 331], а також – у тимусі, легенях, гіпофізі [332], серцевому м'язі [333], нирках [334], в нервовій тканині після її пошкодження [335] і шкірі [336]. Можна припустити, що стовбурові клітини, які були введені ззовні, виділяють цілий коктейль із різноманітних факторів, що здатні ремоделювати «внутрішнє середовище» організму хазяїна і активізувати його власні клітини [337].

Морфофункціональні зміни органів репродуктивної системи, що ми їх спостерігали у самців мишей IV групи за умов застосування доксорубоміцину гідрохлориду, характеризувалися розвитком типового токсичного ураження. Застосування розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % у самців VI групи викликало зміни сперматогенного епітелія за типом токсичного ураження з наявністю метаболічних розладів. Спостереження у режимі хронічного експерименту показало, що у тварин обох експериментальних груп, що зазначені, існують певні регенераторні можливості сперматогенного епітелія, і це проявляється відповідними змінами СЕ, а саме: збільшенням товщини СЕ, зменшенням кількості каналців із злущеним епітелієм, зростанням кількості сперматогенних клітин на 30-у добу дослідження в порівнянні з попередніми термінами. Але більшість показників, що характеризують стан сперматогенезу, демонструють наявність важкого патологічного процесу в органах репродуктивної системи. Той факт, що, незважаючи на токсичний вплив та метаболічні розлади, в сперматогенному епітелії залишаються гамети, які розвиваються, говорить про можливість стимуляції активності відновних процесів у яєчках. З метою прискорення мітотичного поділу можна використовувати цитокіни, як регулятори метаболізму, та прогеніторні клітини, як стимулятори біологічної активності тканин.

4.1 З'ясування ефектів клітин фетальної печінки при системному введенні

Для виявлення безпечності впливу на репродуктивну систему клітин фетальної печінки (КФП) тваринам VII та VIII груп їх вводили двічі з інтервалом 14 днів.

При дослідженні тривалості ЕЦ у самок мишей VII групи, можна відмітити, що вона становила в середньому $4,22 \pm 0,04$ дні, що на 10, 78 % довше, ніж у контрольній групі. У 16,56 % спостерігалось зникнення

проеструсу, а в 24,22 % випадків – метеструсу (у контролі – 19,5 % та 17, 0 % відповідно).

Патоморфологічне дослідження самок на 21-ий день після останньої ін'єкції КФП показало, що макроскопічна картина внутрішніх органів не змінена. Органи репродуктивної системи розташовані правильно. Відносна маса комплексу матки і яєчників несуттєво зменшувалась по відношенню до контролю.

Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено.

Слизова оболонка яйцепроводів була утворена багаточисленними гілчастими складками. Власна пластинка містила пухку сполучну тканину з гістіоцитами, макрофагами, що знаходяться в стадії спокою. В м'язовій оболонці виявлялися циркулярні та повздожні шари гладеньком'язових клітин. Цитоплазма міоцитів гомогенна, з нормохромними ядрами овально-втягнутої форми. Серозна оболонка особливостей не мала.

Матка дворога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка складалася з одношарового призматичного епітелію з нормохромними ядрами, іноді пікнотичними, гомогенною цитоплазмою. В окремих випадках з'являлася незначна зернистість, тоді пікноз ядер цих клітин був більш виразний. Власна пластинка утворювалася пухкою сполучною тканиною рожевого кольору, яка містила невелику кількість сполучнотканинних клітинних елементів з нормохромними ядрами у макрофагів та повільно пікнотичними ядрами у гістіоцитів. Кріпти, що мали вигляд трубочок, орієнтовані перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Міометрій був представлений гладеньком'язовими клітинами. Цитоплазма клітин гомогенна, містила нормохромне ядро, овально-втягнутої форми. Підслизовий шар мав звичайний вигляд. Судинний шар містив багаточисленні кровоносні судини звичайного виду.

Індекс плодючості у самок VII групи становив 0,89, що майже не відрізняється від тварин контрольної групи. Тотожна картина спостерігалася і стосовно кількості плодів – 11,40, що на 3,07 % більше за контрольну групу, але така відмінність не є вірогідною.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамусу показало, що більшість у них становлять нейрони II типу (табл. 4.1.1).

Таблиця 4.1.1

Вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок мишей після введення КФП ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	VII група
СОЯ	I	32,55±0,65	31,79±0,34
	II	51,05±0,64	45,09±0,23*
	III	11,07±0,74	13,81±0,28*
	IV	3,00±0,30	6,31±0,12*
	V	2,52±0,27	2,99±0,23
АЯ	I	23,15±0,74	22,61±0,45
	II	48,06±0,85	46,96±0,39
	III	12,98±1,01	11,61±0,94
	IV	11,25±0,99	12,79±0,44
	V	4,56±0,66	6,02±0,34

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 1,9, і для аркуатного ядра – 2,5, що майже не відрізняється від показників контрольної групи.

У самців VIII групи на 3-5-ий день після останньої ін'єкції КФП біля кореня хвоста і в ділянці куприка мало місце підсилене випадіння шерсті – формується алопеція (рисунок 4.1.1). В 43,44 % випадків на поверхні алопеції з'являється виразка. При мікроскопічному дослідженні шкіри в шарі дерми виявляються пучки еозинофільних волокон помірної товщини, міститься велика кількість фіброцитів, клітин гістіоцитарного ряду

(рисунок 4.1.2). Волосяні фолікули деформовані. Біля сальних залоз спостерігається скупчення лімфоїдних елементів.



Рис. 4.1.1. Формування алопеції біля кореня хвоста і в ділянці куприка самця після введення КФП (макрофото).

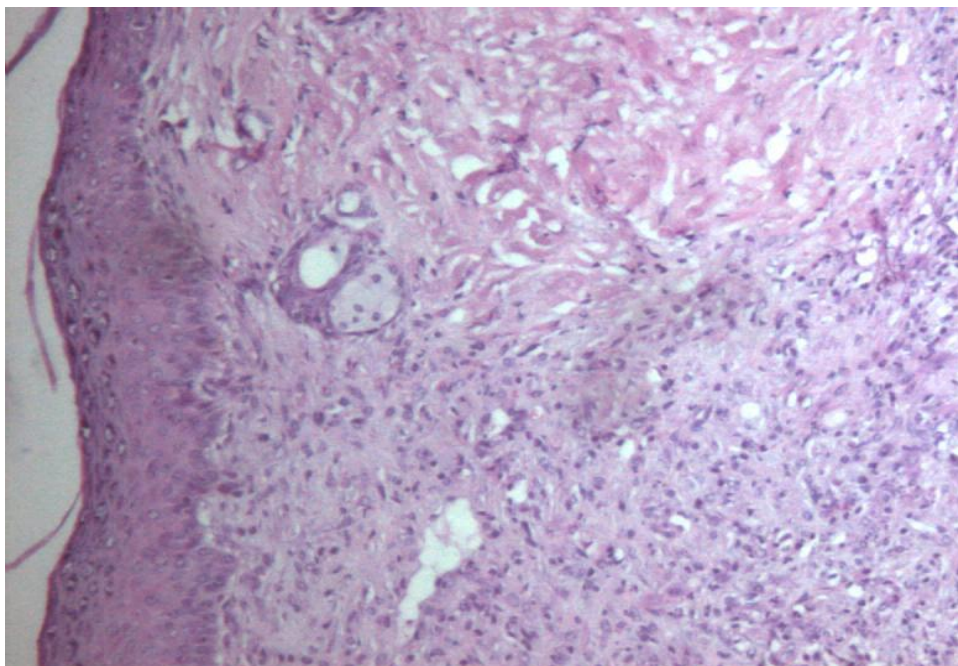


Рис. 4.1.2. Відсутність волосяних фолікулів у шкірі в ділянці куприка самця після введення КФП. Забарвлення: гематоксилін-еозин. x 200.

Патоморфологічне дослідження внутрішніх органів показало, що у печінці спостерігається балочна будова тканин. Поміж балками розташовуються звичайного вигляду синусоїди, вільні від еритроцитів на більшому протязі. Септальні жовчні протоки вислані високим циліндричним епітелієм з нормохромними ядрами округлої форми. Стінки міждолькових проток вистелені кубічними епітеліоцитами, ядра яких дрібні, овальної форми, нормохромні, розташовані центрально. Інфільтратів не виявлено.

Будова печінкових балок неоднорідна. Гепатоцити утворюють поля, що містять поліморфні клітини (рис. 4.1.3). Цитоплазма гепатоцитів піниста, або у стані альвеолярної дистрофії. Гепатоцити центральної зони дольки різнокаліберні, поліморфні, витягнуті. Ядра крупні, овальні, хроматин дрібноглибчастий. Цитоплазма еозинофільна, гомогенна.

Гепатоцити перипортальної зони дольки різнокаліберні, поліморфні, з витягнутими ядрами. У багатьох тварин цієї групи як у перипортальних, так і в центральних зонах дольки виявляються клітини з гантелеподібними ядрами. Такий вигляд ядер пов'язують з процесами аміотичного поділу. У цей самий час виявляються групи клітин з ознаками апоптозу: в ядрах – ділянки конденсованої ДНК, що формує повні і неповні кільця на внутрішній поверхні ядерної мембрани; цитоплазма конденсована (рис. 4.1.4, рис. 4.1.5). Крім того, зустрічаються скупчення клітин з атиповою формою ядра, фрагментованою цитоплазмою, зміненим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням.

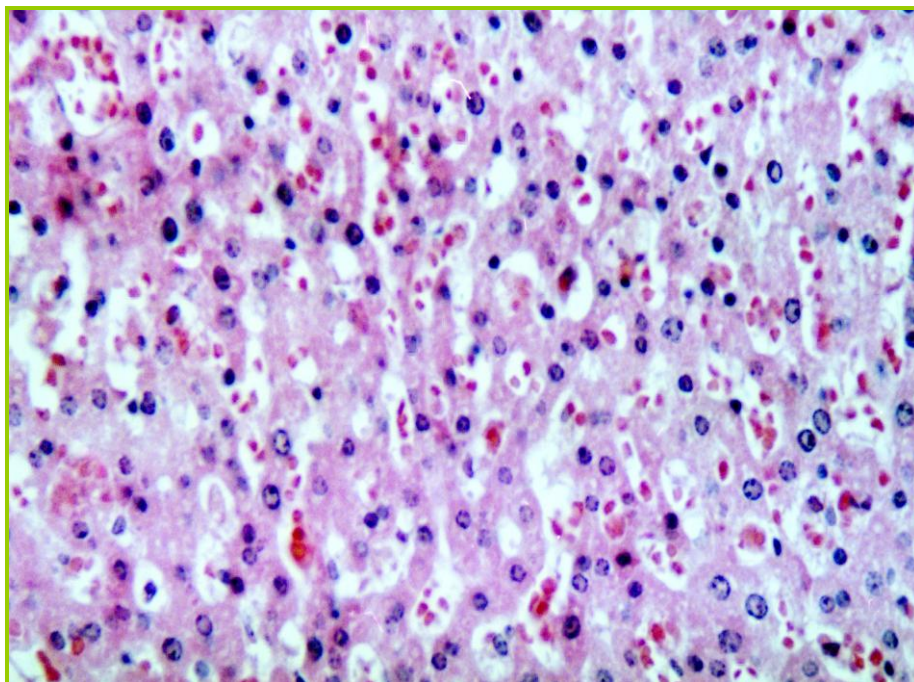


Рис. 4.1.3. Печінка самця після введення КФП. Неоднорідність будови печінкових балок, скупчення поліморфних клітин. Забарвлення: гематоксилін-еозин. х 200.

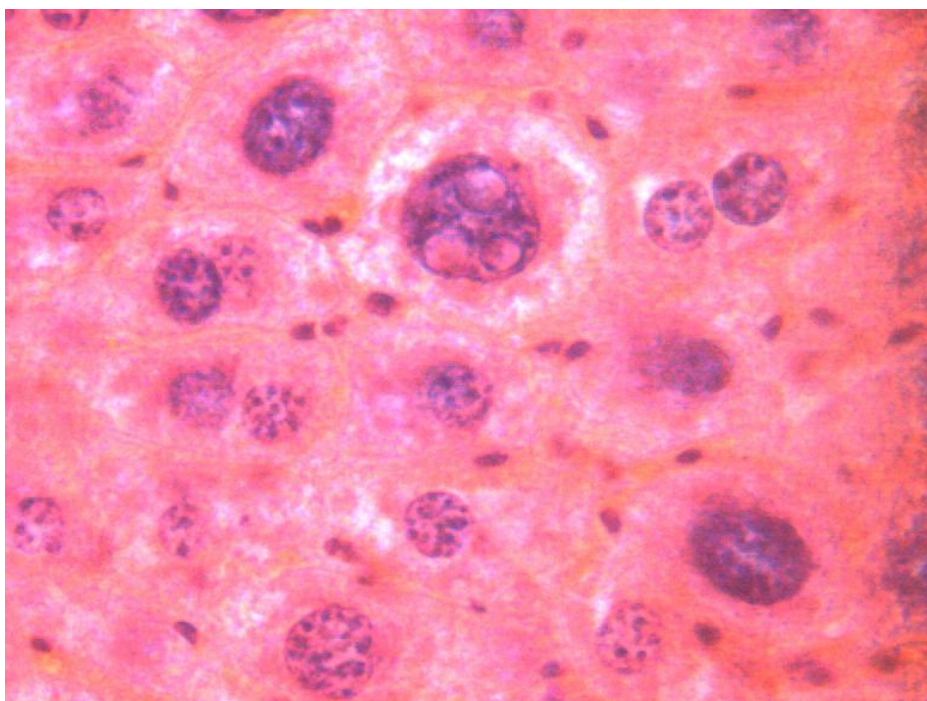


Рис. 4.1.4. Печінка самця після введення КФП. Наявність ділянок клітин з ознаками апоптозу. Забарвлення: гематоксилін-еозин. х 200.

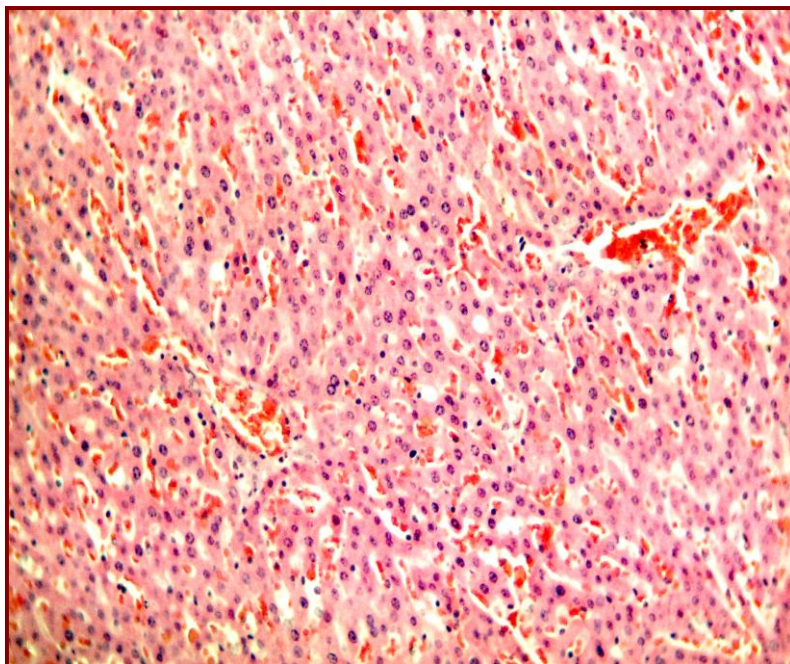


Рис. 4.1.5. Печінка самця після введення КФП. Скупчення гепатоцитів з зміненим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. Забарвлення: гематоксилін-еозин. х 200.

У нирках спостерігалися клубочки переважно округлої форми. Клубочки мономорфні, компактні, капілярні петлі рівномірної товщини. В окремих місцях виявлялися колабовані клубочки. Клітинний склад клубочків представлений мезангіальними клітинами, подоцитами, вісцеральними епітеліоцитами, еритроцитами. Ступінь кровонаповнення капілярів характеризувалась як виразна. В окремих гломерулах виявляється гіперплазія парієтальних епітеліоцитів з утворенням клітин, за морфологічними ознаками схожих на циліндричний епітелій (рис. 4.1.6). Необхідно зауважити на різкий перехід від плоского до циліндричного епітелію. Цитоплазма цих клітин гомогенна, еозинофільна. Ядра округлі, нормохромні, розташовані центрально. Проксимальні каналці представлені кубічними клітинами з гомогенною цитоплазмою, нормохромним, округлим центрально розташованим ядром. В окремих місцях спостерігається вакуолізація цитоплазми епітеліоцитів, а подекуди

– відторгнення апікальних відділів цитоплазми. В деяких каналцях виявлялися білкові преципітати в просвіті.

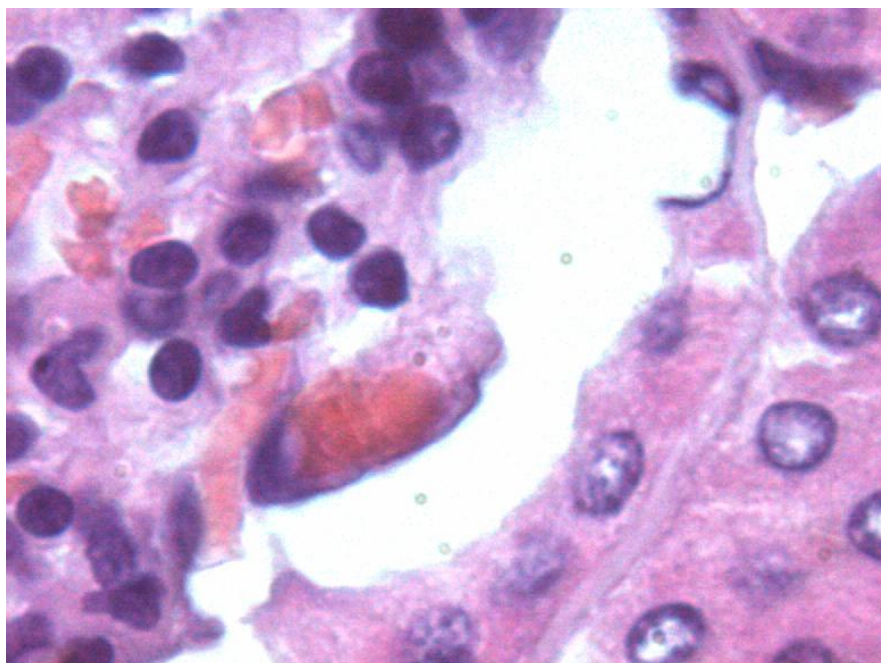


Рис. 4.1.6. Нирка самця після введення КФП. Гіперплазія паріетальних епітеліоцитів капсули Шумлянського-Боумена. Масляна імерсія. Забарвлення: гематоксилін-еозин. x 200.

Дистальні каналці представлені клітинами сплющеного епітелію з гомогенною цитоплазмою, округлим нормохромним ядром. У багатьох випадках спостерігається вакуолізація цитоплазми, іноді – її зернистий розпад. Просвіт каналців зайнятий еозинофільними зернистими масами преципітованого білку. У глибоких шарах мозкової речовини виражені дистрофічні зміни епітелія, лізис цитоплазми, відторгнення клітин від базальної мембрани. У середніх та глибоких шарах кіркової та, практично на всьому протязі мозкової речовини, спостерігається слабка проліферація інтерстиціальних клітин. Гістіоцити і макрофаги утворюють незначні периваскулярні інфільтрати. Кровоносні судини різко розширені, переповнені кров'ю, виявляться дрібноклітинні петехіальні крововиливи.

Стінки кровоносних судин набрякли, з невеликими периваскулярними муфтами. В базальних мембранах нирок виявлений колаген IV типу, який не є типовим для даної ділянки (рисунок 4.1.7). Відомо, що цей тип колагену являється компонентом міжклітинної речовини, і з'являється для обмеження міграції клітин у ділянках регенерації, що створює умови для диференціації клітин.

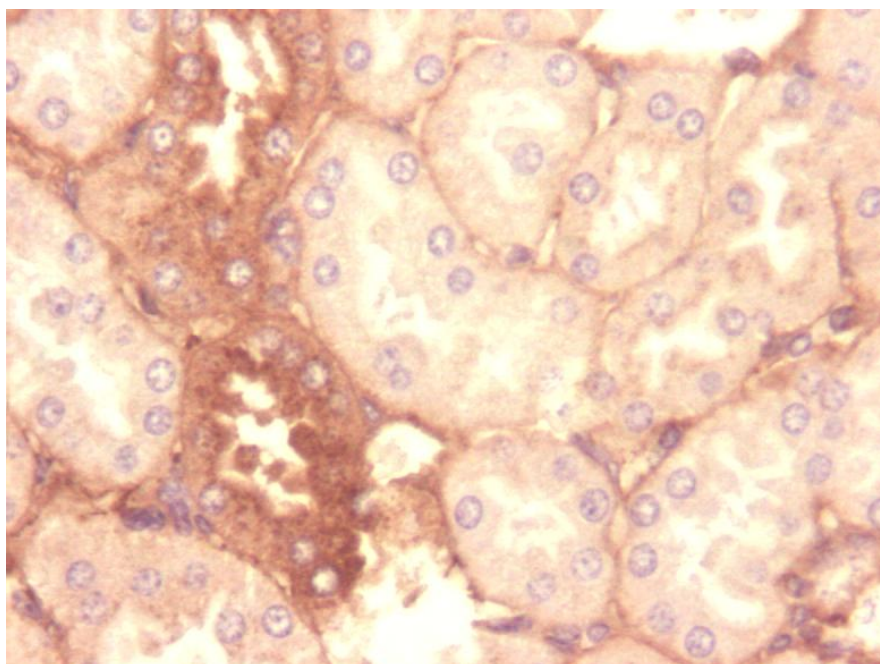


Рис. 4.1.7. Нирка самця після введення КФП. Наявність колагену IV типу. Забарвлення: гематоксилін-еозин. х 200.

Над'яєчка та передміхурова залоза не мали помітних відмінностей від контрольної групи.

Відносна маса яєчок становила $0,0033 \pm 0,0001$, що складає 91,67 % від показника контрольної групи.

Морфологічне дослідження стану статевих залоз показало, що товщина сперматогенного епітелію становила 8,28 мкм, що є несуттєво нижчим за показник контрольної групи.

Відносна кількість каналців із злуцением епітелієм підвищувалася на 40,45 % у порівнянні з контролем.

Питома площа сперматогоній та клітин Сертолі майже не змінювалася; клітин Лейдига – знижалася на 14,93 % у порівнянні з контролем (табл. 4.1.2). Питомі площі просвіту каналців, інтерстицію, базальної мембрани та інших клітинних елементів сперматогенного епітелію практично не змінювалися. Простір між клітинами збільшувався на 7,95 %.

Таблиця 4.1.2

Морфометричні показники сім'яних каналців самців VIII групи після введення КФП ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	VIII група
1.	Питома площа сперматогоній	6,49 ± 0,18	6,4±0,03
2.	Питома площа клітин Сертолі	1,45 ± 0,18	1,31±0,18
3.	Питома площа клітин Лейдига	0,67 ± 0,05	0,57±0,01
4.	Питома площа інтерстицію	6,22 ± 0,49	6,00±0,11
5.	Питома площа базальної мембрани	1,40 ± 0,13	1,43±0,13
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	4,78 ± 0,23	5,16±0,29
7.	Просвіт каналців	14,06 ± 1,14	14,01±1,05

Примітка: $p > 0,05$ по відношенню до контрольної групи.

Індекс сперматогенезу як у V, так і в VII стадії залишався майже на рівні показників контрольних тварин, і становив 5,52 та 4,50 відповідно.

Індекс плодючості не змінювався у порівнянні з контрольною групою. Кількість плодів дещо зменшувалась, і складала 10,80±1,9.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса показало, у найбільшій кількості у них містяться нейрони II типу (табл. 4.1.3).

Таблиця 4.1.3

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самців мишей VIII групи після введення КФП (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	VIII група
СОЯ	I	27,79±0,46	28,43±0,34
	II	48,76±0,70	47,01±0,44*
	III	13,42±0,75	14,89±0,46
	IV	5,24±0,36	5,25±0,36
	V	4,91±0,48	4,30±0,36
АЯ	I	7,70±0,46	9,14±0,34*
	II	54,20±0,99	53,88±0,83
	III	18,30±0,98	13,67±0,75*
	IV	14,51±0,86	16,19±0,86
	V	5,30±0,44	7,24±0,46*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю.

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 2,1, що суттєво не відрізняється від показника контрольної групи, і для аркуатного ядра – 5,1, що становить 76,12 % від цього показника у тварин контрольної групи.

4.2 Дослідження ефектів мезенхімальних прогеніторних клітин

Виходячи з отриманих результатів, які показали можливість негативного впливу на експериментальних тварин КФП, а саме: розвиток дистрофічних процесів у шкірі та нирках, проліферативних з індукуванням апоптозу – у печінці, було проведене патоморфологічне дослідження печінки, нирок та органів репродуктивної системи тварин XI та XII груп за умов введення мезенхімальних прогеніторних клітин, що їх вводили у

тому ж режимі, що і КФП. Макроскопічно печінка та нирки самок XI групи після введення МПК не відрізнялися від тварин контрольної групи.

Дослідження протікання естрального циклу у самок XI групи виявило щезнення проеструсу у 14, 82 % випадків, тривалість циклу становила 4,18 дні, що не має вірогідних відмінностей від показників тварин контрольної групи.

На 21-ий день після останньої ін'єкції МПК макроскопічне дослідження показало, що органи репродуктивної системи самок цієї групи розташовані правильно, мають звичайний вигляд, крововиливів не має. Відносна маса матки та яєчників зростала на 7,4 % у порівнянні з контрольною групою, складаючи $0,0087 \pm 0,0005$. Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл.

Слизова оболонка яйцепроводів утворена багаточисленними гілчастими складками. Власна пластинка містить пухку сполучну тканину з гістіоцитами, макрофагами, що знаходяться у стадії спокою. У м'язовій оболонці виявляються циркулярні та повздожні шари гладеньком'язових клітин. Цитоплазма міоцитів гомогенна, містить нормохромне ядро овально-втягнутої форми. Серозна оболонка без особливостей.

Матка дворога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка представлена одношаровим призматичним епітелієм з нормохромними ядрами, іноді пікнотичними, гомогенною цитоплазмою. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною рожевого кольору, яка містить невелику кількість сполучнотканинних клітинних елементів з нормохромними ядрами у макрофагів та повільно пікнотичними ядрами у гістіоцитів. Трубочасті крипти орієнтовані перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Міометрій представлений гладеньком'язовими клітинами. Цитоплазма клітин гомогенна, містить нормохромне ядро, овально-втягнутої форми. Підслизовий шар звичайного вигляду.

Судинний шар містить велику кількість кровоносних судин звичайного виду.

Індекс плодючості у самок XI групи становив 0,93, що на 6,9 % вище за показник контрольної групи. Кількість плодів становила $11,20 \pm 0,6$, що майже не відрізняється від контрольної групи.

Морфометричне дослідження супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса показало, що переважну більшість в них складають нейрони II типу (табл. 4.2.1).

Таблиця 4.2.1

Вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок мишей після введення МПК ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	XI група
СОЯ	I	$32,55 \pm 0,65$	$32,98 \pm 0,47$
	II	$51,05 \pm 0,64$	$46,81 \pm 0,61^*$
	III	$11,07 \pm 0,74$	$12,67 \pm 0,69$
	IV	$3,00 \pm 0,30$	$4,70 \pm 0,29^*$
	V	$2,52 \pm 0,27$	$2,79 \pm 0,23$
АЯ	I	$23,15 \pm 0,74$	$22,70 \pm 0,62$
	II	$48,06 \pm 0,85$	$47,18 \pm 0,85$
	III	$12,98 \pm 1,01$	$13,88 \pm 0,95$
	IV	$11,25 \pm 0,99$	$10,12 \pm 0,93$
	V	$4,56 \pm 0,66$	$6,14 \pm 0,49$

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 1,8, і для аркуатного ядра – 2,5, тобто практично співпадав з результатами контрольної групи.

При макроскопічному дослідженні печінки та нирок самців XII групи після введення МПК помітних відмінностей у їх будові не виявлено. На шкірі жодних патологічних утворень не спостерігалось. Вважаючи на зміни, що спостерігалися у печінці та нирках самців мишей після введення КФП, було проведено мікроскопічне дослідження цих органів.

У печінці спостерігається балочна будова тканин (рис. 4.2.1). Поміж балками розташовуються звичайного вигляду синусоїди, вільні від еритроцитів на більшому протязі. Септальні жовчні протоки вислані високим циліндричним епітелієм з нормохромними ядрами округлої форми. Стінки міждолькових проток вислані кубічними епітеліоцитами, ядра яких дрібні, овальної форми, нормохромні, розташовані центрально. Інфільтратів не виявлено. Гепатоцити перипортальної зони дольки різнокаліберні, поліморфні, з витягнутими ядрами. Будова печінкових балок неоднорідна. Гепатоцити утворюють поля, що містять поліморфні клітини. Цитоплазма гепатоцитів піниста, або у стані альвеолярної дистрофії. Гепатоцити центральної зони дольки різнокаліберні, поліморфні, витягнуті. Ядра крупні, овальні, хроматин дрібноглибчастий. Цитоплазма еозинофільна, гомогенна. Спостерігаються клітини у стадії амітотичного поділу.

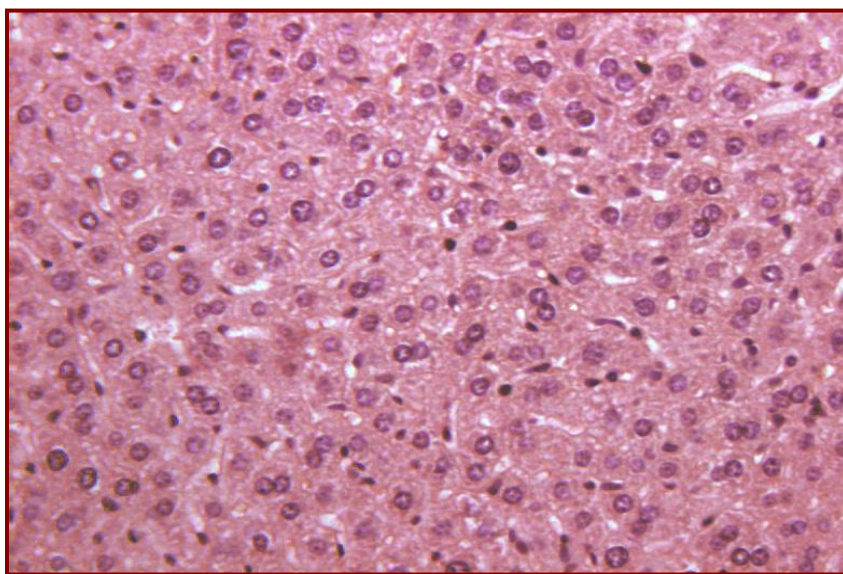


Рис. 4.2.1. Печінка самця після введення МПК. Забарвлення: гематоксилін-еозін. x 200.

У нирках спостерігалися клубочки переважно округлої форми. Клубочки мономорфні, компактні, капілярні петлі рівномірної товщини (рис. 4.2.2). Клітинний склад клубочків представлений мезангіальними клітинами, подоцитами, вісцеральними епітеліоцитами, еритроцитами. Кровонаповнення капілярів помірне. Дистальні каналці представлені клітинами сплющеного епітелію з гомогенною цитоплазмою, округлим нормохромним ядром.

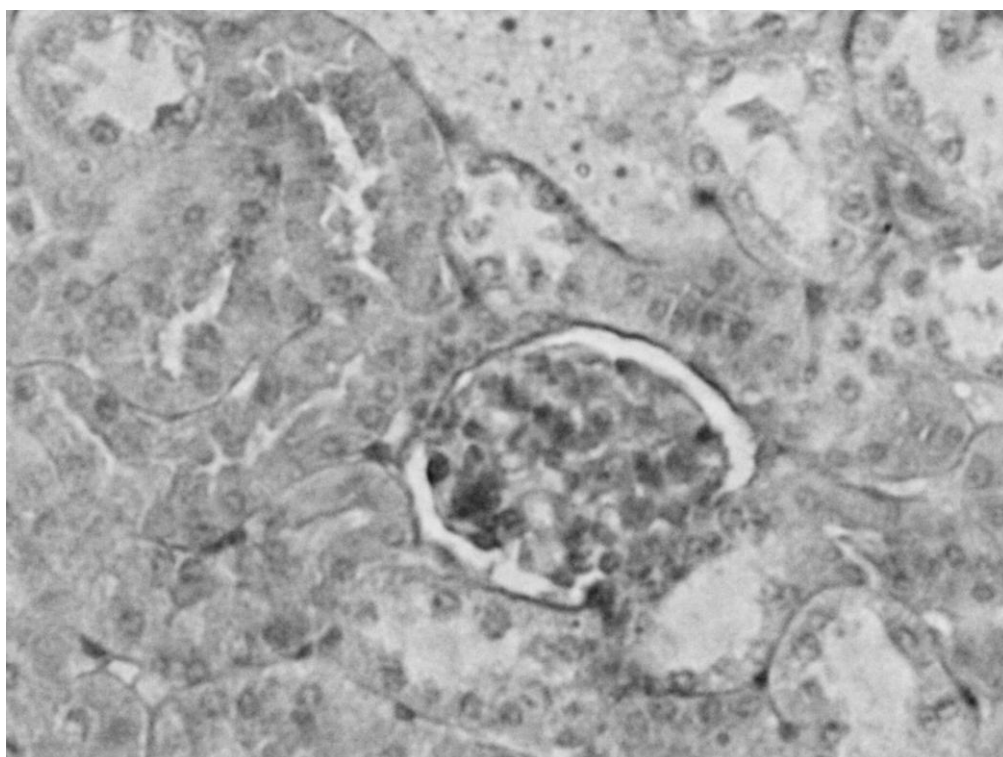


Рис. 4.2.2. Нирка самця після введення МПК. Забарвлення: гематоксилін-еозин. х 400.

Над'яєчка та передміхурова залоза не мали помітних відмінностей від контрольної групи.

Відносна маса яєчок становила $0,0034 \pm 0,0004$, що складало 94,44 % від показника контрольної групи.

Морфометричне дослідження стану статевих залоз показало, що товщина сперматогенного епітелію становила $8,32 \pm 0,47$ мкм, що є дещо нижчим за показник контрольної групи.

Відносна кількість каналців із злущеним епітелієм становила $5,15 \pm 0,60$, тобто підвищувалася на 15,73 % у порівнянні з контролем, але у порівнянні з VIII групою, де застосовувались фетальні клітини, їх кількість була на 17,60 % меншою.

Питома площа сперматогоній та клітин Сертолі майже не змінювалася; клітин Лейдига – знижалася на 17,91 % у порівнянні з контролем (табл. 4.2.2). Питомі площі просвіту каналців, інтерстицію, базальної мембрани та інших клітинних елементів сперматогенного епітелію практично не змінювалися. Простір між клітинами збільшувався на 5,02 %.

Таблиця 4.2.2

Морфометричні показники сім'яних каналців самців XII групи після введення МПК ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	XII група
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$6,28 \pm 0,13$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$1,38 \pm 0,10$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$0,55 \pm 0,06$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$6,08 \pm 0,34$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$1,41 \pm 0,10$
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$5,02 \pm 0,26$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$14,71 \pm 0,93$

Примітка: $p > 0,05$ відповідно до контрольної групи.

Індекс сперматогенезу як в V, так і в VII стадії залишався практично на рівні контрольних показників, і становив $5,49 \pm 0,05$ та $4,6 \pm 0,05$ відповідно.

Індекс плодючості майже не змінювався у порівнянні з контрольною групою. Кількість плодів дещо зростала, і складала $11,80 \pm 2,3$.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів II типу в їх складі (табл. 4.2.3).

Таблиця 4.2.3

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самців мишей XII групи після введення МПК ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	XII група
СОЯ	I	$27,79 \pm 0,46$	$26,70 \pm 0,44$
	II	$48,76 \pm 0,70$	$45,17 \pm 0,69^*$
	III	$13,42 \pm 0,75$	$14,43 \pm 0,72$
	IV	$5,24 \pm 0,36$	$9,19 \pm 0,33^*$
	V	$4,91 \pm 0,48$	$4,51 \pm 0,43$
АЯ	I	$7,70 \pm 0,46$	$8,19 \pm 0,51$
	II	$54,20 \pm 0,99$	$56,69 \pm 1,00$
	III	$18,30 \pm 0,98$	$13,89 \pm 1,00^*$
	IV	$14,51 \pm 0,86$	$15,37 \pm 0,86$
	V	$5,30 \pm 0,44$	$5,77 \pm 0,39$

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 2,2, що на 6,80 % перевищує цей показник у контрольній групі, і для аркуатного ядра – 6,1, тобто на 8,96 % нижче за цей показник у контрольній групі.

4.3 Вивчення впливу гранулоцитарного колоніестимулювального фактору

З метою виявлення безпечності впливу на репродуктивну систему гранулоцитарного фактору росту (Гр-КСФ) інтактним самкам та самцям

його вводили одноразово, ці тварини склали XIII групу та XIV групу відповідно. Окрема група тварин слугувала контролем.

Для з'ясування впливу Гр-КСФ на вміст прогеніторних клітин у периферійній крові було проведено цитофлуориметричне дослідження фракційного складу її формених елементів в динаміці. З'ясовано, що через добу після ін'єкції Гр-КСФ у самців мишей XIV групи відбувається підвищення вмісту CD34+ клітин, тобто недиференційованих попередників гемопоезу (рис. 4.3.1), майже в 1,5 рази. Такий стан зберігався до 7-ої доби, з наступним зниженням до висхідних значень на 14-ту добу. У самок XIII групи спостерігалася дещо інша картина: вміст гемопоетичних клітин поступово підвищувався, сягаючи максимуму на 14-ту добу, коли величина цього показника в 2,85 рази перевищувала контроль.

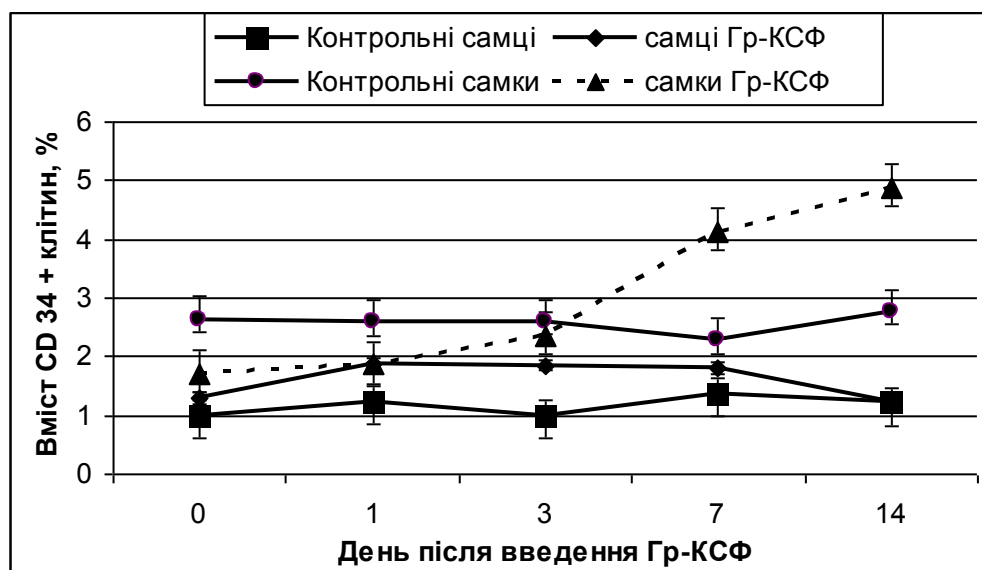


Рис. 4.3.1. Динаміка вмісту CD34+ клітин у периферійній крові мишей після введення Гр-КСФ

Тривалість естрального циклу у самок XIII групи після введення Гр-КСФ становила $4,24 \pm 1,06$ дні, що на 11,29 % довше, ніж у контролі. У 20,31 % випадків спостерігалася щезнення метеструсу, у 12,64 % -

проеструсу, що майже не відрізнялося від показників тварин контрольної групи.

При макроскопічному дослідженні на 10-ий день після ін'єкції Гр-КСФ органи репродуктивної системи самок мають звичайний вид, розташовані правильно, в звичайному анатомічному місці. Відносна маса матки та яєчників не змінювалася у порівнянні з контрольною групою.

Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено.

Слизова оболонка яйцепроводів утворена багаточисленними гілчастими складками. Власна пластинка містить пухку сполучну тканину з гістіоцитами, макрофагами, що знаходяться в стадії спокою. В м'язовій оболонці виявляються циркулярні та повздожні шари гладеньком'язових клітин. Цитоплазма міоцитів гомогенна, містить нормохромне ядро овально-втягнутої форми. Серозна оболонка без особливостей.

На розтині макроскопічна структура матки без патології. Слизова оболонка представлена одношаровим призматичним епітелієм з нормохромними ядрами, іноді пікнотичними, гомогенною цитоплазмою. В окремих випадках з'являється незначна зернистість. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною, що містить невелику кількість сполучнотканинних клітинних елементів. Крипти орієнтовані перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Міометрій представлений гладеньком'язовими клітинами. Цитоплазма клітин гомогенна, містить нормохромне ядро, овально-втягнутої форми. Підслизовий шар звичайного вигляду. Судинний шар містить багаточисленні кровоносні судини звичайного виду.

Індекс плодючості у самок XIII групи становив 0,93, що на 6,90 % вище за контроль. Кількість плодів становила $10,70 \pm 1,0$, що вірогідно не відрізняється від контрольної групи.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів II типу в їх складі (табл. 4.3.1).

Таблиця 4.3.1

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей XIII групи після введення Гр-КСФ ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	XIII група
СОЯ	I	32,55±0,65	30,56±0,70*
	II	51,05±0,64	46,11±0,66*
	III	11,07±0,74	17,20±0,69*
	IV	3,00±0,30	4,00±0,29*
	V	2,52±0,27	2,13±0,25
АЯ	I	23,15±0,74	18,81±0,86*
	II	48,06±0,85	51,30±0,97*
	III	12,98±1,01	12,52±0,95
	IV	11,25±0,99	12,82±0,89
	V	4,56±0,66	4,61±0,68

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 2,1, і для аркуатного ядра – 3,3, що на 12,90 та 26,92 % відповідно, вище за показник контрольної групи.

У самців XIV групи на 21-ий день після ін'єкції Гр-КСФ макроскопічне дослідження будови додатків яєчок та передміхурової залози не виявили помітних відмінностей від морфології цих органів у тварин контрольної групи.

Відносна маса яєчок не відрізнялася від показника контрольної групи, і становила $0,0037 \pm 0,0004$ ($p > 0,05$) (рис. 4.3.2).

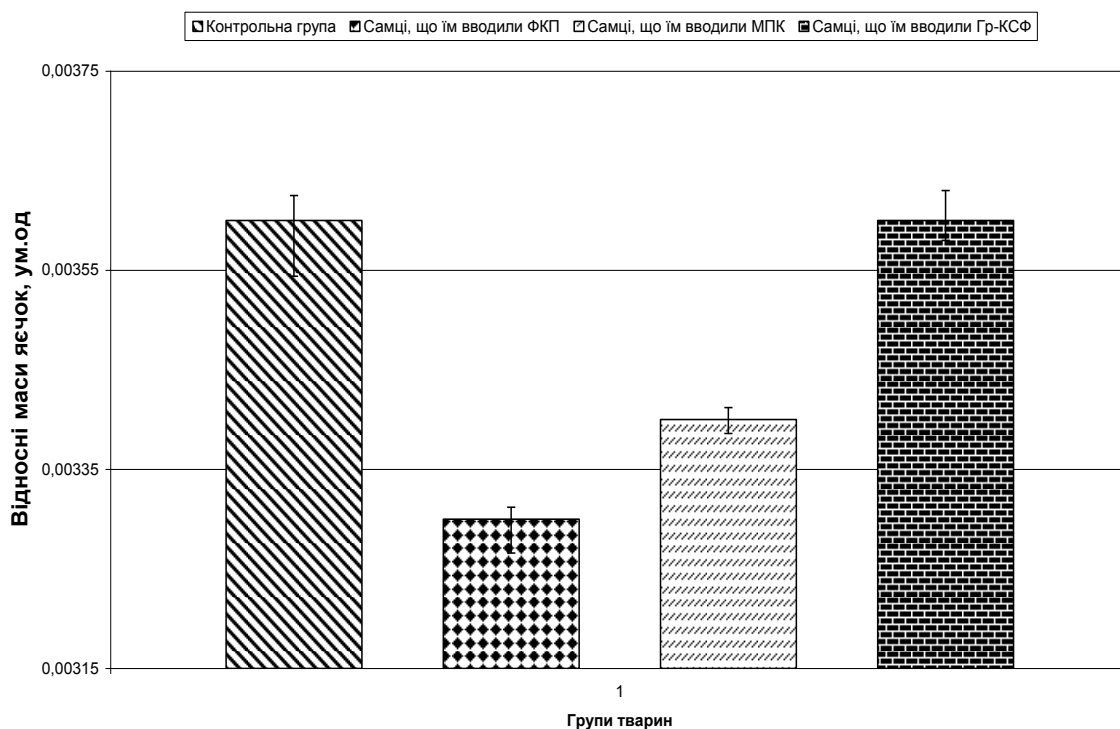


Рис. 4.3.2. Відносні маси яєчок самців після введення КФП, МПК та Гр-КСФ.

Морфологічне дослідження стану статевих залоз показало, що товщина сперматогенного епітелію становила $9,00 \pm 0,57$ мкм, що є дещо вищим за показник контрольної групи, але така відмінність не є вірогідною (табл. 4.3.2).

Відносна кількість каналців із злущеним епітелієм знижалася на 14,16 % у порівнянні з контролем, і становила $3,82 \pm 0,29$.

Питома площа сперматогоній та клітин Сертолі майже не змінювалася (табл. 4.3.3); клітин Лейдига – знижалася на 16,42 % у порівнянні з контрольною групою. Питомі площі просвіту каналців, інтерстицію, базальної мембрани та інших клітинних елементів сперматогенного епітелію практично не змінювалися. Простір між клітинами майже не змінювався.

**Морфометричні показники сім'яних каналців самців XIV групи
після введення Гр-КСФ ($M \pm m$)**

№ п/п	Показник	Контрольна група	XIV група
1.	Питома площа сперматогоній	$6,49 \pm 0,18$	$6,62 \pm 0,16$
2.	Питома площа клітин Сертолі	$1,45 \pm 0,18$	$1,45 \pm 0,12$
3.	Питома площа клітин Лейдига	$0,67 \pm 0,05$	$0,56 \pm 0,06$
4.	Питома площа інтерстицію	$6,22 \pm 0,49$	$6,31 \pm 0,31$
5.	Питома площа базальної мембрани	$1,40 \pm 0,13$	$1,40 \pm 0,11$
6.	Простір між клітинами сперматогенного епітелію	$4,78 \pm 0,23$	$4,68 \pm 0,21$
7.	Просвіт каналців	$14,06 \pm 1,14$	$14,13 \pm 0,93$

Примітка: $p > 0,05$, різниця не є вірогідною

Індекс сперматогенезу в V стадії зростав на 5,4 %, а в VII стадії – залишався практично на рівні контрольного показника (рис. 4.3.3).

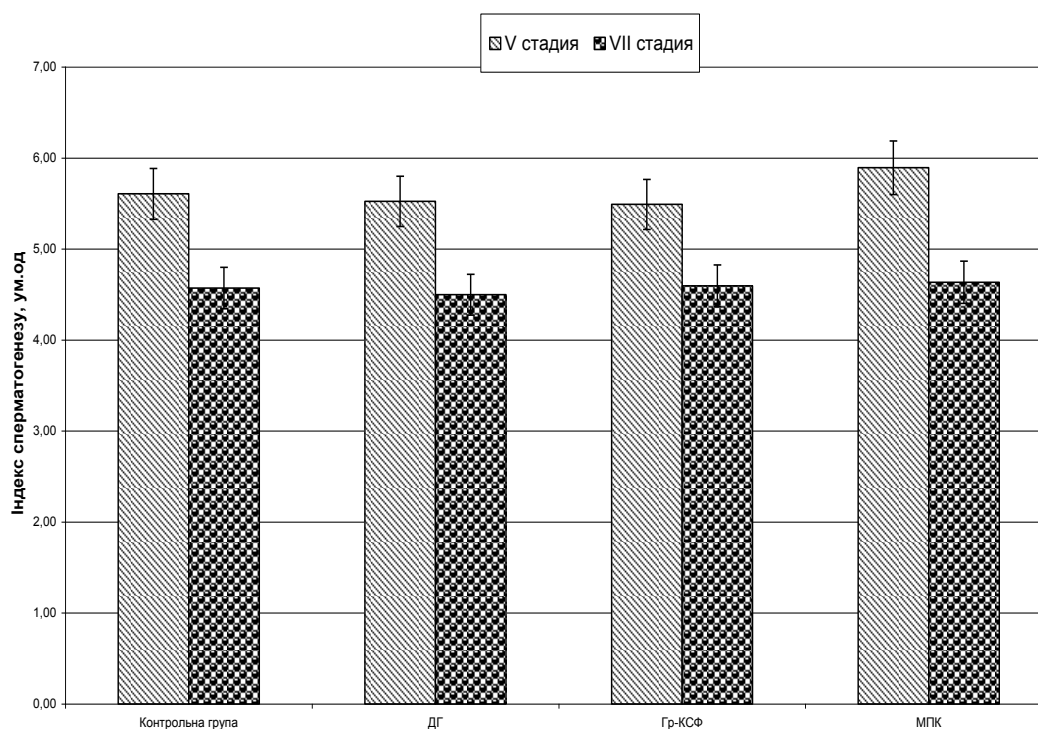


Рис. 4.3.3. Індекс сперматогенезу самців після введення ДГ, МПК та Гр-КСФ.

Індекс плодючості не змінювався у порівнянні з контрольною групою. Кількість плодів знижалася на 11,39 % порівняно з контролем, і становила $9,80 \pm 2,60$ ($p > 0,05$).

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів II типу в їх складі (табл. 4.3.4).

Таблиця 4.3.4.

Середній вміст нейросекреторних клітин в супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самців мишей XIV групи після введення Гр-КСФ ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	XIV група
СОЯ	I	$27,79 \pm 0,46$	$26,69 \pm 0,39$
	II	$48,76 \pm 0,70$	$45,43 \pm 0,71^*$
	III	$13,42 \pm 0,75$	$13,24 \pm 0,75$
	IV	$5,24 \pm 0,36$	$5,70 \pm 0,44$
	V	$4,91 \pm 0,48$	$9,02 \pm 0,40^*$
АЯ	I	$7,70 \pm 0,46$	$8,34 \pm 0,45$
	II	$54,20 \pm 0,99$	$53,48 \pm 0,92$
	III	$18,30 \pm 0,98$	$18,20 \pm 0,99$
	IV	$14,51 \pm 0,86$	$13,90 \pm 0,89$
	V	$5,30 \pm 0,44$	$6,16 \pm 0,34$

Примітка: $*-p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 1,8, і для аркуатного ядра – 5,9, що на 12,62 та 11,94 % відповідно, нижче за показник контрольної групи.

Обчислення ІПМФСРС у самок VII, XI та XIII груп (табл. 4.3.5, табл. 4.3.6), та самців VIII, XII та XIV показало, що введення прогеніторних клітин різного походження, та Гр-КСФ не оказує негативного впливу на репродуктивну систему здорових експериментальних тварин.

**Інтегральний показник морфофункціонального стану
репродуктивної системи самок VII (КФП), XI (МПК) та XIII (Гр-КСФ)
груп (в балах)**

№ п/п	Показник	Контрольна група	VII група	XI група	XIII група
1.	I_n	10	10	10	10
2.	Відносна маса матки та яєчників	5	5	5	5
3.	Тривалість ЕЦ	5	4,5	4,5	4,5
4.	$I_{ан}$	5	5	5	>5
5.	ІПМФСРС	25	24,5	24,5	>24,5

Таблиця 4.3.6

**Інтегральний показник морфофункціонального стану
репродуктивної системи самців VIII (КФП), XII (МПК) та XIV (Гр-
КСФ) груп (в балах)**

№ п/п	Показник	Контрольна група	VIII група	XII група	XIV група
1.	I_n	10	10	10	10
2.	Відносна маса яєчок	5	4,5	5	5
3.	Питома площа СЕ	5	5	5	5
4.	$I_{сг}$	5	5	5	5
5.	Питома площа сперматогоній	5	5	5	5
6.	$I_{ан}$	5	4	4,5	4
7.	ІПМФСРС	35	33,5	34,5	34

Аналізуючи зведені дані про морфологічний (макро-, мікроскопічне та морфометричне дослідження) та функціональний (індекс плодючості, кількість плодів у породіллі) стан репродуктивної системи, можна сказати,

що досліджені сполуки і біологічні тканини не змінювали її загальний стан. Винятком виявились клітини фетальної печінки, застосування яких викликало значні патологічні зміни внутрішніх органів тварин. У зв'язку з цим було прийняте рішення вважати недоцільним використання КФП у якості фактору, що корегує.

Результати розділу опубліковані в наступних статтях, надрукованих в фахових виданнях.

1. Холодкова Е. Л. Морфологические изменения кожи мышей, выявляемые при введении фетальной ткани печени / В. Н. Запорожан, Б. А. Насибулин, Е. Л. Холодкова, Д. М. Пыхтеев // Патологія. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 32 – 34.

2. Холодкова Е. Л. Экспериментальное изучение некоторых методологических подходов, используемых в реверсивной медицине / В. Н. Запорожан, Е. Л. Холодкова, Д. М. Пыхтеев, А. И. Пономаренко // Трансплантология. – 2005. – Т. 8, № 1. – С. 10 – 20.

3. Холодкова О. Л. Стан репродуктивної функції самок мишей за умов дії біологічно активних субстанцій різного походження / О. Л. Холодкова // Вісник морфології. – 2007. – № 13(2). – С. 281 – 284.

Результати, які містяться в розділі, доповідались на наукових форумах.

1. Kholodkova O. L. Features of organ structure in experimental animals after introduction of embryonic liver cells / O. L. Kholodkova, D. M. Rykhtyeyev, T. G. Titok // Установчий з'їзд Українського товариства клітинної біології : наукова конференція з міжнародною участю, 24-18 трав. 2004 р., Львів : тези. доп. – Львів, 2004. – С. 149.

2. Kholodkova O. L. Systemic heterochronic incompatibility: the problem that should be solved / V. M. Zaporozhan, O. L. Kholodkova, D. M. Rykhtyeyev, V. G. Dubinina, T. G. Titok, T. N. Gulko, L. I. Likhacheva, O. G. Deryabina, V. A. Kordyum // Cytotherapy. – 2004. – Vol. 6. – № 3. – P. 280

(International Conference “Strategies in Tissue Engineering”, June 17-19, 2004, Wurzburg, Germany : abstracts).

3. Kholodkova O. L. Heterochronic incompatibility can become a cause of cellular therapy inefficiency / V. Zaporozhan, E. Kholodkova, D. Pykhtyeyev, E. Deriabina, T. Titok, S. Ruban, E. Sukhorada, V. Kordyum // 5th European congress of biogerontology, 16-20 September, 2006, Istanbul, Turkey : abstracts. – Istanbul, 2006. – P.91.

4. Kholodkova O. L. Introduction of genetically marked cells into mice and study of the fate of implanted cells / O. Toporova, T. Gulko, D. Pykhtyeyev, O. Kholodkova, O. Sukhorada, T. Ruban, O. Deryabina, V. Kordyum // Human gene therapy. – 2007. – Vol.18, №. 10. – P. 1088 (XVth Annual Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy, 27-30 October, 2007, De Doelen, Rotterdam, The Netherlands : abstracts).

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВІНАЙДЕНИХ МЕТОДІВ КОРЕКЦІЇ
УРАЖЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ

У результаті експериментальних досліджень з метою пошуку нових методів корекції порушень репродуктивної системи за патологічних умов були розроблені моделі застосування гранулоцитарного колонієстимулювального фактору та мезенхімальних прогеніторних клітин після ураження доксорубоміцином та гідрохлоридом та нітритного впливу. Для з'ясування ефективності розроблених моделей на тваринах обох статей були відпрацьовані запропоновані методи. Окрема серія дослідів присвячена відпрацюванню моделі корекції гіпоестрогенного стану, що його викликає оваріоектомія.

5.1 Дослідження ефективності гранулоцитарного колонієстимулювального фактору та мезенхімальних прогеніторних клітин за умов ураження доксорубоміцином та нітритом натрія

У самок XV групи на 21-ий день після ін'єкції Гр-КСФ на тлі введення доксорубоміцину гідрохлориду виявлялося правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників була слабко-бугристою, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність невеликої кількості зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Матка була дворогою, вигляд поверхні однорідний, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології.

При мікроскопічному дослідженні слизова оболонка яйцепроводів утворена багаточисленними складками, що розгалужуються, містять одношаровий призматичний війчастий епітелій з нормохромними ядрами. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною, яка містить

гістіоцити, макрофаги у стадії спокою. В м'язовій оболонці розрізняються циркулярний і повздожній шари гладеньком'язових клітин. Цитоплазма клітин гомогенна, містить нормохромне ядро овально-втягнутої форми. Серозна оболонка – без особливостей.

Базальний шар ендометрія містить вузькі залози, в яких майже не розрізняється просвіт. Протоки вислані циліндричним однорядним епітелієм з овальними базофільними ядрами. Клітин з ознаками апоптозних змін мало. Кількість мітозів становить 10-13 на 10 полів зору. Клітини строми розташовані компактно, ядра різко базофільні, цитоплазма гомогенна. Поверхнево-функціональний шар представлений сукупністю залозистого і стромального компонентів. Крипти вислані одношаровим циліндричним епітелієм з нормохромними ядрами, гомогенною цитоплазмою, мають вигляд штопороподібних трубочок, які тісно розташовані та орієнтовані перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Апікальні боки залозистого епітелію мають рівні чіткі межі. Спостерігається більше 13-15 мітозів на 10 полях зору. Патологічні мітози зустрічаються не частіше, ніж 0,5-1 на 10 полів зору. При цьому основною патологією мітозів являються мітози з затримкою і розсіюванням хромосом у метафазі. Ознак некрозу залоз не спостерігається. Міжзалозиста строма представлена пухкою сполучною тканиною, що забарвлюється оксифільно, містить помірну кількість сполучнотканинних веретеноподібних клітинних елементів з нормохромними ядрами і помірно пікнотичними ядрами. В окремих ділянках зустрічаються значні поля, інфільтровані лімфоцитами. Міометрій представлений гладеньком'язовими клітинами. Цитоплазма клітин гомогенна, містить нормохромне ядро овально-втягнутої форми. Розташований на підслизовому шарі, в якому виявляються багаточисленні кровоносні судини звичайного вигляду. Надсудинний шар зливається з периметрієм, і майже не відрізняється від останнього.

Відносна маса матки та яєчників зростала на 34,43 % порівняно з групою без корекції, сягаючи рівня контрольних тварин (рис. 5.1.1).

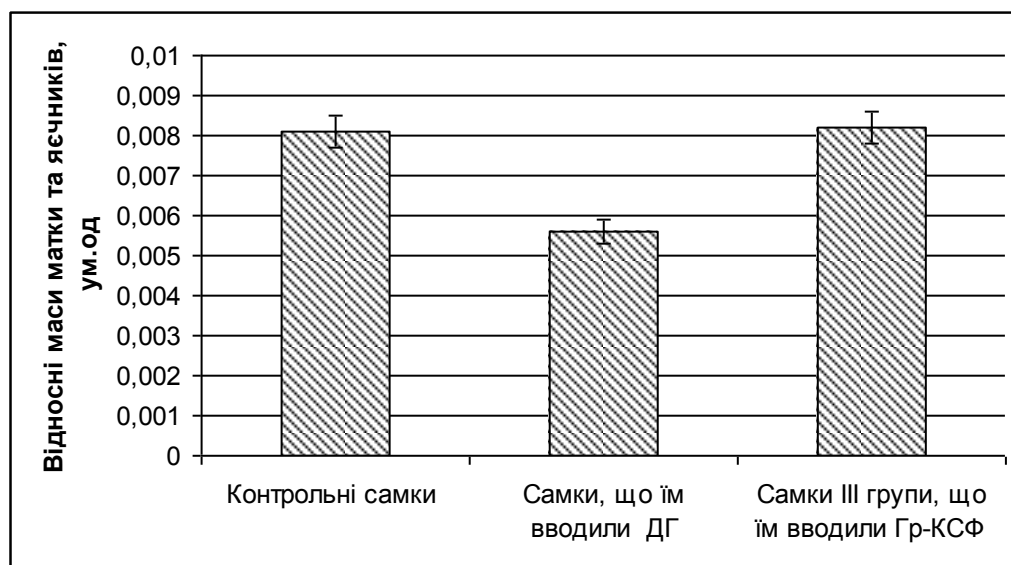


Рис. 5.1.1. Відносні маси матки та яєчників самок III (на тлі ураження доксорубоміцину гідрохлоридом) та XV (після корекції Гр-КСФ) груп.

Тривалість естрального циклу в середньому становила 4,12 дні, що вірогідно не відрізняється від цього показника тварин контрольної групи. При спостереженні за протіканням ЕЦ також суттєвих відмінностей від контрольних показників виявлено не було: у 18,4 % випадків спостерігалось випадіння фази проєструсу, у 15,8 % випадків – метєструсу.

Індекс плодючості у самок XV групи становив 0,86, що майже не відрізняється від контрольної групи тварин. В цей самий час кількість плодів зменшувалась на 5,06 % порівняно з контрольною групою і становила $10,5 \pm 1,9$, та зростала на 2,74 % порівняно з групою без корекції ($p > 0,05$).

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в їх складі (табл. 5.1.1).

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок мишей до і після корекції Гр-КСФ ураження доксорубоміцину гідрохлоридом (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	III група (ДГ)	XV група (ДГ+Гр-КСФ)
СОЯ	I	32,55±0,65	54,82±0,91	53,06±0,67
	II	51,05±0,64	27,11±1,06	28,37±0,65
	III	11,07±0,74	7,31±0,81	8,21±0,81
	IV	3,00±0,30	2,40±0,23	2,49±0,13
	V	2,52±0,27	8,44±0,35	7,92±0,14
АЯ	I	23,15±0,74	41,67±1,00	40,13±0,71
	II	48,06±0,85	25,78±0,70	27,07±1,00
	III	12,98±1,01	14,81±0,44	14,09±1,03
	IV	11,25±0,99	3,74±0,23	3,08±0,26
	V	4,56±0,66	14,30±0,42	15,72±0,81

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 0,5, що на 73,11 % нижче за контрольну групу, і є на 16,67 % нижчим за цей показник у III групі; для аркуатного ядра – 0,8, тобто становить лише 30,77 % від величини показника контрольної групи, і не відрізняється від цього показника в III групі.

У самців XVI групи на 21-ий день після останньої ін'єкції Гр-КСФ на тлі ураження доксорубоміцину гідрохлоридом над'яєчка були представлені звичайно сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, з різко вираженим судинним рисунком. Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози слабо бугриста, блілого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

При оцінці морфологічного стану яєчок поверхневі судини білкової оболонки яєчка були звичайної будови. Білкова оболонка щільна, сіро-білого кольору. На розтині тканина яєчка у вигляді сіро-білої однорідної пухкої маси. Відносна маса яєчок збільшується на 5,56 % порівняно з інтактною групою і майже на 27 % порівняно з показниками самців IV групи, яким не вводили фактор росту гранулоцитів (табл. 5.1.2).

Таблиця 5.1.2

Відносна маса яєчок самців до і після корекції Гр-КСФ ураження доксорубоміцину гідрохлоридом ($M \pm m$)

	Контрольна група	IV група	XVI група
Відносна маса яєчок	0,0036 \pm 0,0001	0,003 \pm 0,0001*	0,0038 \pm 0,0002

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Товщина сперматогенного епітелію в V стадії була 8,1 мкм, що становило 92,89 % від показника контрольної групи, тобто зростає на 12,43 % у порівнянні з групою без корекції.

Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм суттєво зростає в 4,78 разів по відношенню до контрольної групи та в 1,8 разів порівняно з групою без корекції (рис. 5.1.2). Цей факт можна пояснити тим, що ДГ має певні кумулятивні властивості, тому процес відшарування сперматогенного епітелію в частині каналців якийсь час ще триває, хоча й регенерація, що її спричиняє введення Гр-КСФ, вже почалась.



Рис. 5.1.2. Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм самців до і після корекції Гр-КСФ ураження доксорубоміцина гідрохлоридом.

Вимірювання питомої площі сперматогоній показало значне її підвищення у порівнянні з групою без корекції – 3,58 та 0,39 відповідно, що становило 55,16 % порівняно з контрольною групою; клітин Сертолі – майже не відрізнялась від контрольної групи; клітин Лейдига – зниження на 32,84 % у порівнянні з контрольною групою (табл. 5.1.3). В цей самий час питома площа інтерстицію зростає на 43,25 % порівняно з контрольною групою, але знижується на 6,11 % у порівнянні з групою без корекції; товщини базальної мембрани – практично не відрізняється від контрольної групи, і зменшується на 19,89 % порівняно з групою без корекції. Простір між клітинами сперматогенного епітелія збільшився на 86,61 % у порівнянні з контрольною групою, але зменшився на 50,25 % у порівнянні з групою без корекції, просвіт каналців зростає на 14,22 % порівняно з іконтрольною групою та майже не змінюється у порівнянні з групою без корекції.

Морфометричні показники сперматогенного епітелію самців до і після корекції Гр-КСФ ураження доксорубоміцину гідрохлоридом (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	IV група	XVI група
1	Питома площа сперматогоній	6,49±0,18	0,34±0,02*	3,58±0,02*
2	Питома площа клітин Сертолі	1,45±0,18	1,32±0,09	1,40±0,08
3	Питома площа клітин Лейдига	0,67±0,05	0,22±0,02*	0,45±0,01
4	Питома площа інтерстицію	6,22±0,49	9,49±0,65*	8,91±0,10*
5	Питома площа базальної мембрани	1,40±0,13	1,81±0,08*	1,45±0,11
6	Простір між клітинами SE	4,78±0,23	17,93±0,65*	8,92±0,20*
7	Просвіт каналців	14,06±1,14	16,45±0,74	16,06±1,01*

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Індекс сперматогенезу становив для V стадії 5,0, що на 10,87 % нижче показника контрольної групи та на 19,33 % вище за показник групи без корекції; I_c в VII стадії був на 5,03 % вище даних контрольних тварин, становлячи 4,8, та на 30,08 % перевищував дані групи без корекції.

Індекс плодючості становив 0,8 – на 8,05 % менше за контрольну групу, та на 29,03 % вище за групу без корекції, кількість плодів була 9,6±0,8, що на 13,20 % нижче за контрольну групу та на 34,83 % вище за IV групу (без корекції).

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в їх складі (табл. 5.1.4).

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей до і після корекції Гр-КСФ ураження доксорубоміцину гідрохлоридом (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	IV група	XVI група
СОЯ	I	27,79±0,46	56,33±0,65*	55,91±0,72*
	II	48,76±0,70	30,70±0,57*	32,86±0,69*
	III	13,42±0,75	2,11±0,13*	3,93±0,31*
	IV	5,24±0,36	3,41±0,18*	4,80±0,29*
	V	4,91±0,48	7,50±0,26*	2,51±0,08*
АЯ	I	7,70±0,46	35,73±0,67*	26,72±0,61*
	II	54,20±0,99	29,40±0,59*	33,21±0,93*
	III	18,30±0,98	15,32±0,40*	14,93±0,80*
	IV	14,51±0,86	12,84±0,46*	11,17±0,86*
	V	5,30±0,44	6,84±0,29*	13,95±0,42*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 0,7, тобто на 66,02 % менше за контрольну групу, та перевищував на 16,67 % цей показник в IV групі; і для аркуатного ядра – 1,5, що майже в 5 разів нижче за контрольну групу і на 7,14 % вище у порівнянні з IV групою.

У самок XVII групи на 21-ий день після введення МПК на тлі ураження ДГ виявлялося правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників була слабо-бугристою, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність небагаточисленних зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Слизова оболонка маткових труб утворена великою кількістю розгалужених складок, які містили одношаровий призматичний війчастий епітелій з нормохромними ядрами. В окремих ділянках виявляються клітини з дисоційованим мілкоглибчастим ядром. Ядерна субстанція таких клітин розташовувалася переважно на межі ядерної оболонки. власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною з гістіоцитами та макрофагами. У м'язовій оболонці

розрізняються циркулярний та повздовжний шари. Цитоплазма міоцитів гомогенна, містить нормохромне ядро.

Матка була дворогою, вигляд поверхні однорідний, щільної консистенції. Базальний шар ендометрія містить невелику кількість вузьких залоз, висланих циліндричним одношаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. Ядра клітин строми різко базофільні, цитоплазма гомогенна. В багатьох ділянках спостерігається дисоціація ядерного матеріалу, який представлений маленькими базофільними глибками, часто конгломератами в межах каріолеми. Ядерця не візуалізуються. Особливістю даної групи є наявність виразних ділянок з ознаками дистрофічно змінених клітин залозистого епітелію. В цьому випадку цитоплазма містить крупні оксифільні глибки, подекуди цитоплазма взагалі відсутня. Майже повністю відсутні клітини, що діляться. Функціональний шар ендометрія представлений одношаровим призматичним епітелієм з нормохромними ядрами, гомогенною цитоплазмою. Крипти трубчасті, орієнтовані перпендикулярно поверхні слизової оболонки. Серед епітелія, що проліферує, часто спостерігаються світлі клітини (клітини-пузири), які являють собою незрілі клітини миготливого епітелія ендометрія. В окремих місцях зустрічаються клітини, що дегенерують, з ознаками каріорексису. Кількість мітозів низька - менше 3 мітозів в 10 полях зору. У випадках, де виявляються мітози, вони мають ознаки патологічних – таких як багатополюсні мітози, моноцентричні, мітози з затримкою і розсіюванням хромосом в метафазі. В окремих тварин цієї групи спостерігаються ізольовані ділянки некрозу залоз, які за розмірами не перевищують однієї чверті площі одного поля зору при збільшенні 400х. Міжзалозиста строма представлена пухкою сполучною тканиною, що забарвлюється оксифільно, містить помірну кількість сполучнотканинних веретеноподібних клітинних елементів з нормохромними ядрами, і помірно пікнотичними ядрами – для гістіоцитів. Міометрій представлений гладеньком'язовими клітинами. Цитоплазма

клітин гомогенна, містить нормохромне ядро овально-витягнутої форми. Розташований на підслизовому шарі, де містяться кровоносні судини звичайного вигляду. Надсудинний шар зливається з периметрієм, і майже не відрізняється від нього.

Відносна маса матки та яєчників була майже втричі більшою порівняно з групою без корекції, і майже не відрізнялась від контрольної групи (рис. 5.1.4).

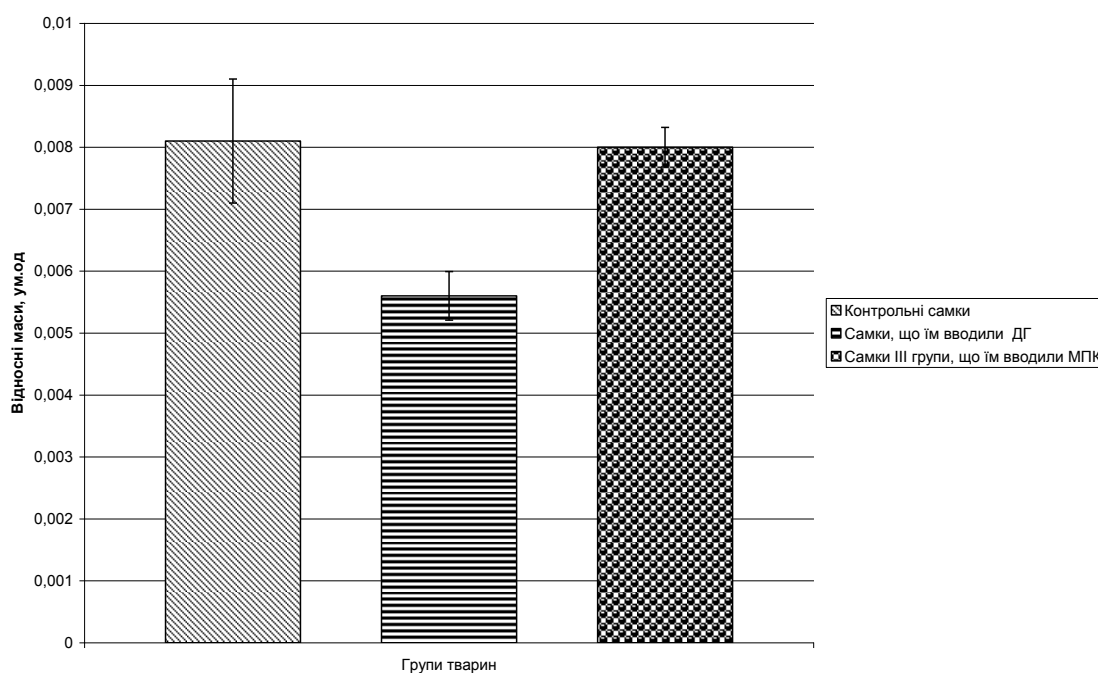


Рис. 5.1.4. Відносні маси матки та яєчників самок до і після корекції МПК ураження доксорубоміцину гідро хлоридом.

Дослідження протікання ЕЦ показало відсутність суттєвих відмінностей від контрольної групи: стадія проєструсу не виявлялася в 10 % випадків, дієструсу – в 16, 2 % випадків. Тривалість ЕЦ становила $5,02 \pm 1,6$ днів, що на 31,76 % довше, ніж у тварин контрольної групи та на 16,78 % довше, ніж у тварин III групи (без корекції).

Індекс плодючості становив 0,84, що несуттєво менше ніж у тварин III та контрольної груп. Кількість плодів також не відрізнялася від контрольної групи, становлячи $11,0 \pm 1,3$, та була на 7,63 % вищою порівняно з групою без корекції.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в їх складі (табл. 5.1.5).

Таблиця 5.1.5

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей до і після корекції МПК ураження доксорубоміцину гідрохлоридом ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	III група (ДГ)	XVII група (ДГ+МПК)
СОЯ	I	32,55±0,65	54,82±0,91*	54,60±0,67*
	II	51,05±0,64	27,11±1,06*	26,87±0,72*
	III	11,07±0,74	7,31±0,81*	7,97±0,79*
	IV	3,00±0,30	2,40±0,23	2,61±0,18
	V	2,52±0,27	8,44±0,35*	7,96±0,30*
АЯ	I	23,15±0,74	41,67±1,00*	42,16±0,86*
	II	48,06±0,85	25,78±0,70*	24,36±0,96*
	III	12,98±1,01	14,81±0,44	15,88±1,03
	IV	11,25±0,99	3,74±0,23*	3,95±0,34*
	V	4,56±0,66	14,30±0,42*	13,65±0,57*

Примітка: * - різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 0,6, тобто не відрізняється від показника III групи; і для аркуатного ядра – 0,8, що також не відрізняється від показника III групи.

У самців XVIII групи на 21-ий день після введення МПК на тлі введення доксорубоміцину гідрохлориду над'яєчка були представлені звичайно сформованими утворюваннями сіро-білого кольору, з різко вираженим судинним рисунком. Передміхурова залоза розташовувалася в анатомічно звичайному місці безпосередньо під шкірою передньої черевної стінки, складалася з двох часточок. Поверхня залози слабо бугриста, блілого сіро-жовтого кольору з виразним судинним рисунком.

При оцінці морфологічного стану яєчок поверхневі судини білкової оболонки яєчка були звичайної будови. Білкова оболонка щільна, сіро-

білого кольору. На розтині тканина яєчка у вигляді сіро-білої однорідної пухкої маси.

Відносна маса яєчок не відрізняється від контрольної групи і зростає на 20,0 % порівняно з показниками самців IV групи, яким не вводили мезенхімальних прогеніторних клітин (табл. 5.1.6).

Таблиця 5.1.6

Відносна маса яєчок самців до і після корекції МПК ураження доксорубоміцину гідрохлоридом ($M \pm m$)

	Контрольна група	IV група (ДГ)	XVIII група (ДГ+МПК)
Відносна маса яєчок	0,0036 \pm 0,0001	0,003 \pm 0,0001*	0,0036 \pm 0,0001*

Примітка: * - $p < 0,001$, різниця є вірогідною по відношенню до контролю

Товщина сперматогенного епітелію в V стадії була 7,88 мкм, що становило 90,37 % від показника контрольної групи, тобто зростає на 17,44 % у порівнянні з групою без корекції у цей самий термін після останньої ін'єкції доксорубоміцину гідрохлориду (рис. 5.1.5).

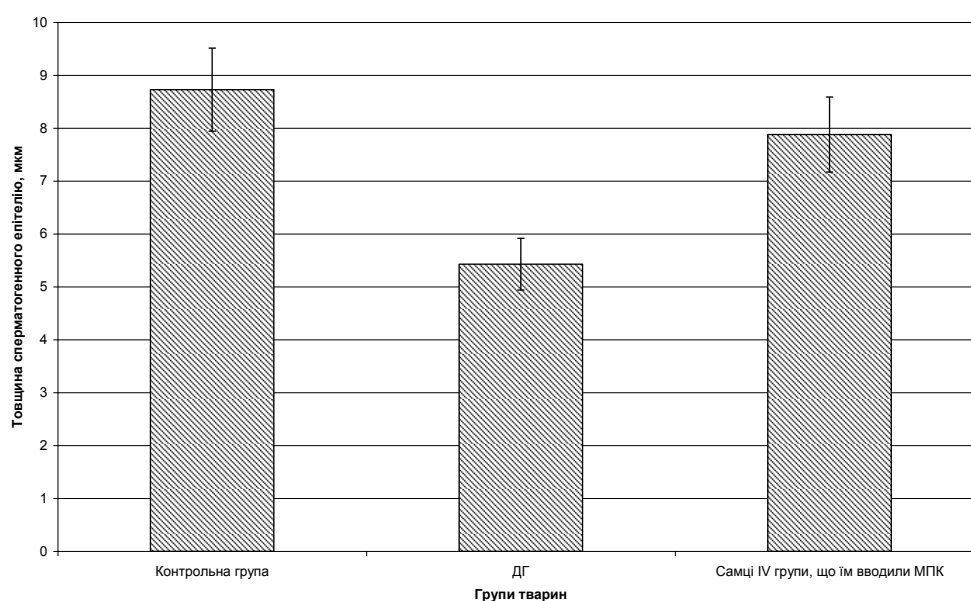


Рис. 5.1.5. Товщина сперматогенного епітелію самців II (ДГ) та XVIII (ДГ+МПК) груп в V стадії сперматогенезу.

Як і в групі з введенням Гр-КСФ, відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм зростає у 2,27 разів порівняно з групою без корекції (рис. 5.1.6). що, вірогідно, обумовлене кумулятивними властивостями ДГ, тому процес відшарування сперматогенного епітелію в частині каналців певний час ще триває, хоча й регенерація внаслідок введення МПК, вже почалась.

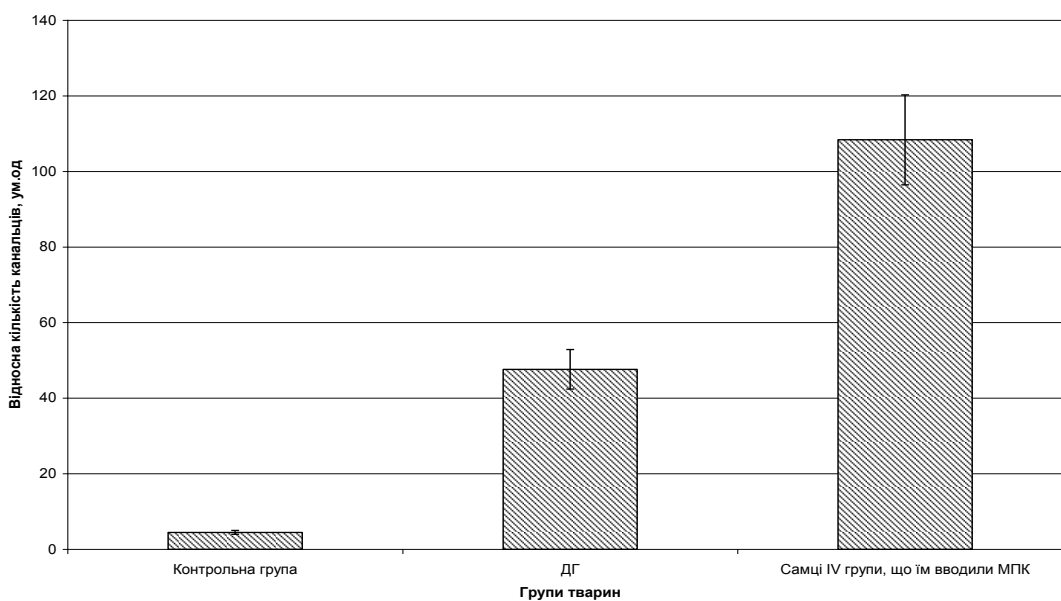


Рис. 5.1.6. Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм самців II (ДГ) та XVIII (ДГ+МПК) груп.

Вимірювання питомої площі сперматогоній показало значне її підвищення у порівнянні з групою без корекції – 3,4 та 0,39 відповідно, тобто в 8,7 разів вище; клітин Сертолі – незначне зменшення порівняно з контрольними тваринами, але ця різниця не є вірогідною; клітин Лейдига – зниження на 35,82 % у порівнянні з контрольною групою та зростання майже вдвічі порівняно з групою без корекції (табл. 5.1.7). У цей самий час питома площа інтерстицію зростає на 46,46 % порівняно з контрольною групою, але знижується на 4,0 % у порівнянні з групою без корекції; товщини базальної мембрани – майже не змінюється порівняно з контрольною групою і зменшується на 21,55 % порівняно з групою без

корекції. Простір між клітинами сперматогенного епітелію збільшився вдвічі у порівнянні з контрольною групою, але зменшився на 44,57 % у порівнянні з групою без корекції, просвіт каналців зменшується на 8,25 % порівняно з контрольною групою та зменшується на 7,48 % порівняно з групою без корекції.

Таблиця 5.1.7

Морфометричні показники сперматогенного епітелія самців до і після корекції МПК ураження доксорубоміцину гідрохлоридом ($M \pm m$)

№ п/п	Показник	Контрольна група	IV група	XVIII група
1	Питома площа сперматогоній	6,49±0,18	0,34±0,02*	3,40±0,02*
2	Питома площа клітин Сертолі	1,45±0,18	1,31±0,09	1,44±0,08
3	Питома площа клітин Лейдига	0,67±0,05	0,22±0,02*	0,43±0,01
4	Питома площа інтерстицію	6,22±0,49	9,49±0,65*	9,11±0,09*
5	Питома площа базальної мембрани	1,40±0,13	1,81±0,08*	1,42±0,11
6	Простір між клітинами СЕ	4,78±0,23	17,93±0,65*	9,94±0,21*
7	Просвіт каналців	14,06±1,14	16,45±0,74	15,22±0,97

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна відносно контролю

Індекс сперматогенезу становив для V стадії 4,8, що на 14,3 % нижче показника контрольної групи та 14,56 % вище за показник групи без корекції; I_c в VII стадії був на 21,23 % нижче даних контрольної групи, і становив 3,6, та майже не відрізнявся від даних групи без корекції (рис. 5.1.7).

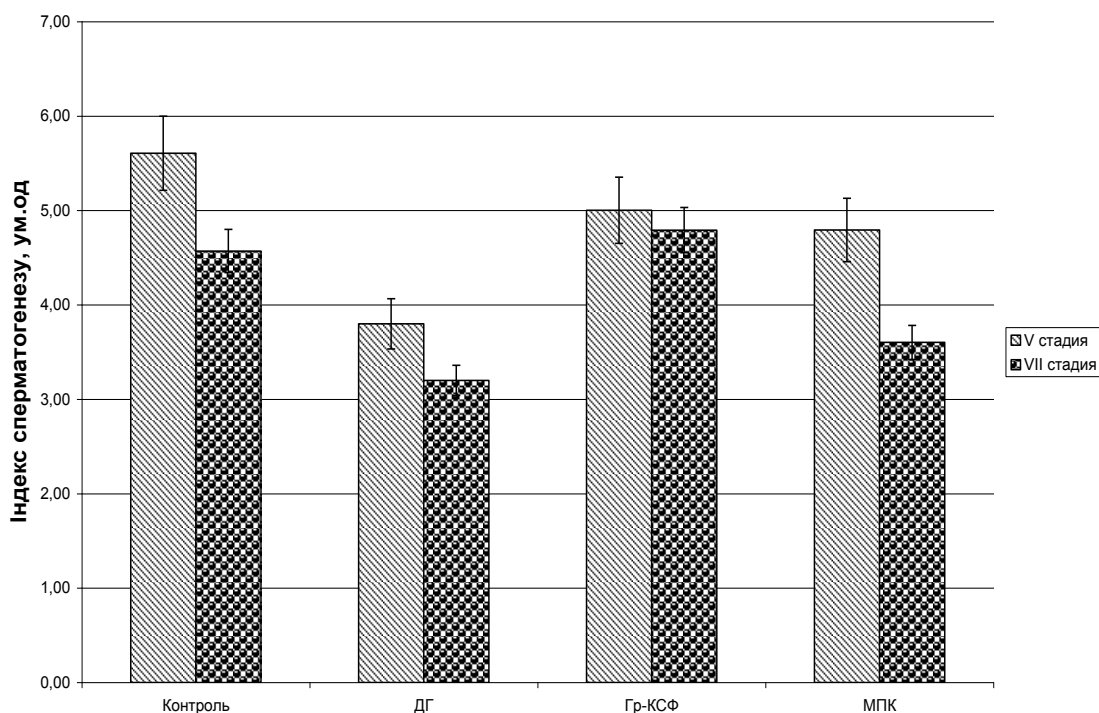


Рис. 5.1.7. Індекс сперматогенезу самців IV (ДГ), XVI (ДГ+Гр-КСФ) та XVIII (ДГ+МПК) груп.

Індекс плодючості становив 0,73, що на 16,09 % нижче цього показника контрольної групи, та на 17,74 % вище ніж у групі без корекції, кількість плодів була $8,6 \pm 1,8$, що майже на 22, 24 % нижче ніж у контрольних тварин, але на 20,79 % вище за групу без корекції.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в їх складі (табл. 5.1.8). Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 0,6, що не відрізнялося від показника IV групи, та становило 29,13 % від рівня контрольної групи; і для аркуатного ядра – 1,5, що становило лише 22,39 % від показника контрольної групи та було на 7,14 % вище показника тварин IV групи (рис. 5.1.8).

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самців мишей до і після корекції МПК ураження доксорубоміцину гідрохлоридом ($M \pm m$)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	IV група (ДГ)	XVIII група (ДГ+МПК)
СОЯ	I	27,79±0,46	56,33±0,65*	54,16±0,57*
	II	48,76±0,70	30,70±0,57*	32,38±0,73*
	III	13,42±0,75	2,11±0,13*	3,61±0,28*
	IV	5,24±0,36	3,41±0,18*	3,08±0,21*
	V	4,91±0,48	7,50±0,26*	6,79±0,29*
АЯ	I	7,70±0,46	35,73±0,67*	28,38±0,41*
	II	54,20±0,99	29,40±0,59*	32,34±0,99*
	III	18,30±0,98	15,32±0,40*	14,60±0,83*
	IV	14,51±0,86	12,84±0,46*	13,34±0,86
	V	5,30±0,44	6,84±0,29*	11,51±0,45*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

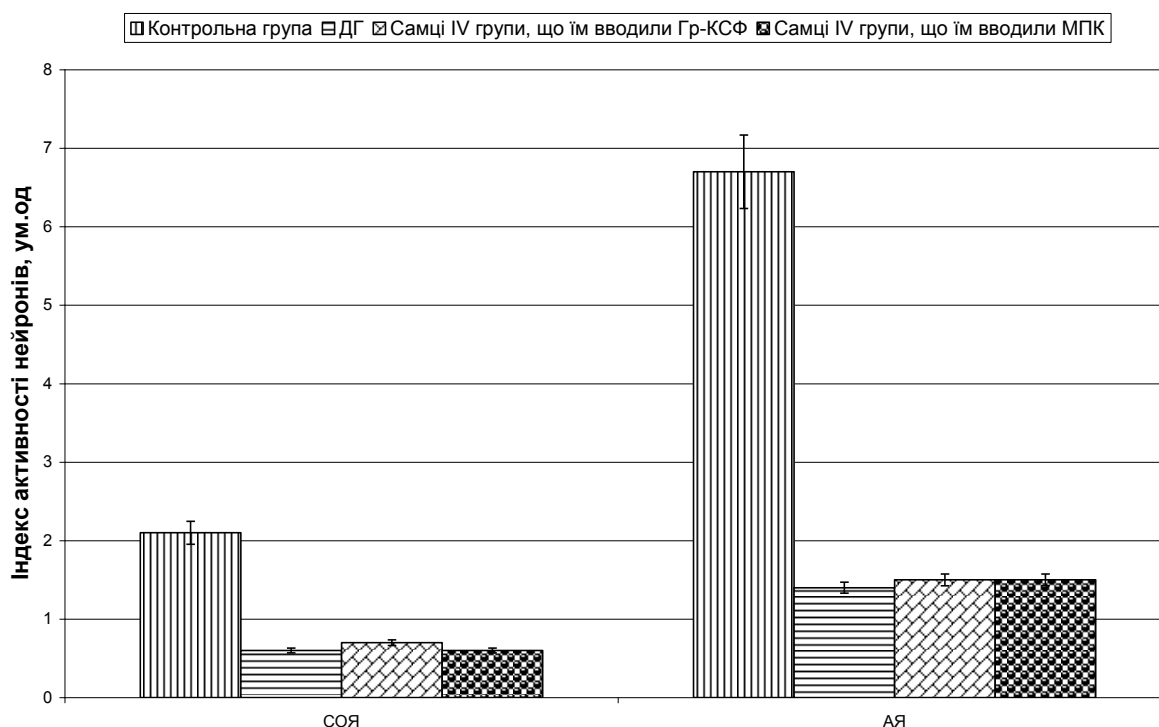


Рис. 5.1.8. Індекс активності нейронів самців до і після корекції МПК впливу доксорубоміцину гідрохлориду ($M \pm m$).

У самок XIX групи на 21-ий день після введення МПК на тлі отримання нітриту натрія виявлялося правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність невеликої кількості зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено.

Слизова оболонка яйцепроводів покрита одношаровим призматичним війчастим епітелієм, клітини якого містять нормохромні ядра. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною. У м'язовій оболонці наявні циркулярний та повздожний шари гладеньком'язових клітин. Серозна оболонка яйцепроводів – без особливостей.

Матка двоорога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка ендометрія містить залози, які вислані циліндричним одношаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. Клітини строми цього шару розташовані компактно, ядра різко базофільні, цитоплазма гомогенна. У деяких ділянках спостерігається дисоціація ядерного матеріалу. Ядерця не виявляються. Кількість мітозів становила 5-7 у 10 полях зору. Підслизовий шар містить багаточисленні кровоносні судини звичайного виду. Міометрій складався з гладеньком'язових клітин з гомогенною цитоплазмою, нормохромним ядром. Периметрій – без особливостей.

Відносна маса матки і яєчників складала в середньому $0,0069 \pm 0,0002$, що виявилось на 14,82 % менше, ніж у мишей контрольної групи та на 21,05 % вище ніж у V групі (рис. 5.1.9). Тривалість естрального циклу становила 3,74 дні, що майже не відрізнялося від показника контрольної групи. Спостерігалось випадіння фази метеструсу в 13, 7 % випадків, еструсу – в 8, 4 % випадків, тобто навпіл рідше, ніж у контрольних тварин. Індекс плодючості у самок XIX групи становив 0,74, тобто на 14,94 % нижче за контрольну групу та майже у 2,5 рази вище за дані тварин V групи. В цей самий час кількість плодів вірогідно не змінювалась

порівняно з контрольною групою, і становила $11,2 \pm 2,2$, що на 9,6 % перевищує цей показник у V групі.

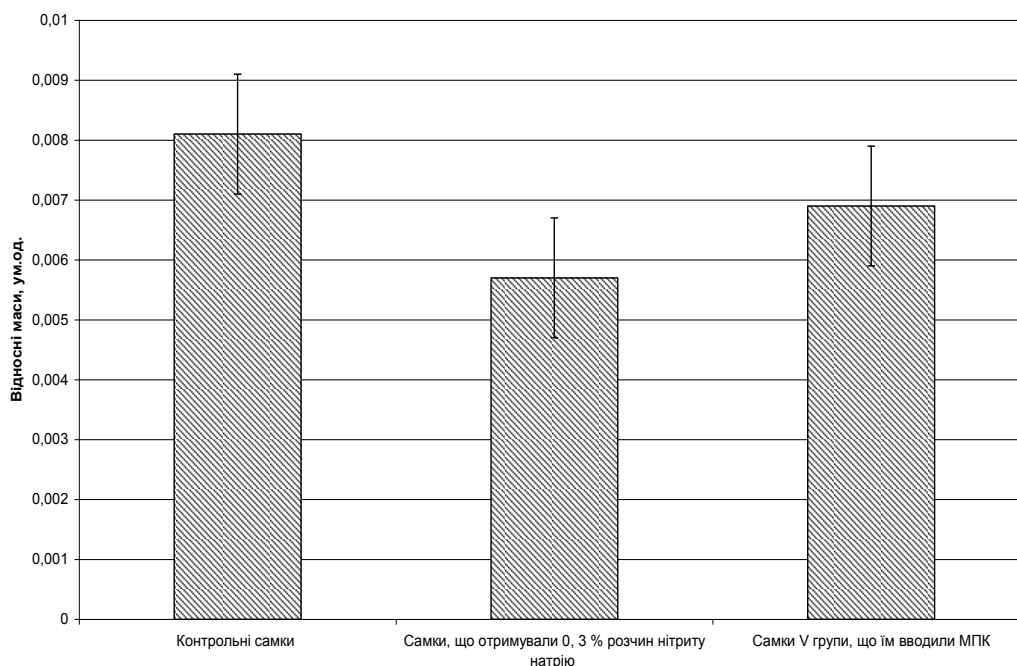


Рис. 5.1.9. Відносні маси матки та яєчників самок до і після корекції МПК на тлі введення нітриту натрія.

Морфометричне дослідження СОЯ та АЯ гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в їх складі (табл. 5.1.9).

Таблиця 5.1.9.

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей до і після корекції введення нітриту натрія ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	V група	XIX група
СОЯ	I	$32,55 \pm 0,65$	$53,72 \pm 0,91^*$	$52,58 \pm 0,88^*$
	II	$51,05 \pm 0,64$	$31,74 \pm 0,79^*$	$32,41 \pm 0,83^*$
	III	$11,07 \pm 0,74$	$6,82 \pm 0,47^*$	$7,51 \pm 0,47^*$
	IV	$3,00 \pm 0,30$	$3,42 \pm 0,31$	$3,30 \pm 0,21$
	V	$2,52 \pm 0,27$	$4,40 \pm 0,28^*$	$4,23 \pm 0,26$
АЯ	I	$23,15 \pm 0,74$	$43,73 \pm 0,91^*$	$39,92 \pm 0,82^*$
	II	$48,06 \pm 0,85$	$27,72 \pm 0,80^*$	$34,18 \pm 0,74^*$
	III	$12,98 \pm 1,01$	$16,84 \pm 0,62^*$	$14,92 \pm 1,08$
	IV	$11,25 \pm 0,99$	$3,62 \pm 0,33^*$	$4,21 \pm 0,49^*$
	V	$4,56 \pm 0,66$	$8,20 \pm 0,23^*$	$6,85 \pm 0,57^*$

*- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 0,8, що становить 43,01 % від показника контрольної групи, або на 14,29 % перевищує цей показник у тварин V групи; і для аркуатного ядра – 1,1, що становить 42,31 % від показника контрольної групи та на 22,22 % перевищує цей показник V групи.

Дослідження морфологічного стану репродуктивної системи самців мишей XX групи показало, що на 20-ий день після ін'єкції МПК на тлі отримання нітриту натрія відносна маса яєчок зменшується в 2,45 рази відносно контрольної групи, становлячи 0,0033, але цей показник майже на 10,0 % вищий за дані тварин VI групи, які вживали 0,3 % розчин нітриту натрія без корекції МПК (рис. 5.1.10). При макроскопічному дослідженні зовнішніх уражень яєчок та над'яєчок не виявлено.

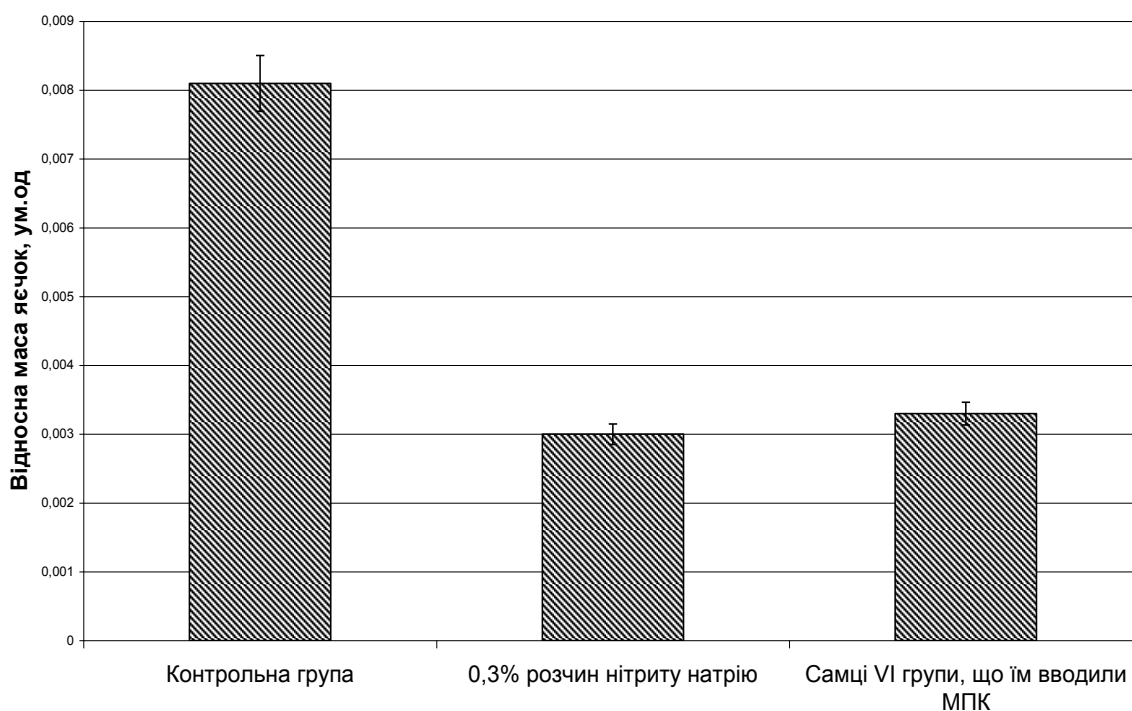


Рис. 5.1.10. Відносна маса яєчок самців до і після корекції МПК після введення нітриту натрія.

Товщина сперматогенного епітелія в V стадії була 8,0 мкм, що становило 91,74 % від показника контрольної групи та 103,09 % у

порівнянні з VI групою. Відносна кількість каналців зі злущеним епітелієм підвищена на 19,42 % порівняно з контрольною групою. Співставлення цього показника з даними тварин VI групи показує його зниження на 13,29 % після введення МПК.

Питома площа окремих компонентів тканини яєчка була такою: сперматогоній – 5,78 (на 10,92 % менше ніж у контрольних тварин та на 10,31 % більше ніж у VI групі); клітин Сертолі – 1,28 (менше за показники контрольної групи на 11,72 %, але майже вдвічі вище за VI групу тварин); клітин Лейдига – 0,72 (на 7,46 % перевищує показник контрольної групи, і на 10,77 % перевищує показник VI групи); інтерстиція – 6,27 (майже не відрізняється від показника контрольної групи, та на 28,34 % нижче за дані VI групи); товщини базальної мембрани – 1,40 (не відрізняється від показника контрольної групи, та на 6,67 % нижче даних VI групи) (табл. 5.1.11). Простір між клітинами сперматогенного епітелію дещо зростає по відношенню до показників контрольної групи та значно зменшується (на 33,55 %) по відношенню до VI групи. В цей самий час просвіт каналців майже не відрізнявся від показника контрольної групи, та зростав на 71,77 % у порівнянні з VI групою. Індекс сперматогенезу становив для V стадії 6,8, що на 21,43 % перевищує показник контрольної групи та виявляється дещо нижчим за VI групу; I_c в VII стадії на 9,41 % перевищував дані контрольної групи, та статистично вірогідно не відрізнявся від VI групи, і становив 5,0 (рис. 5.1.11). Індекс плодючості становив 0,9, що статистично не відрізняється від показника контрольної групи, та на 7,14 % перевищує цей показник у порівнянні з тваринами VI групи. Кількість плодів у контрольних самок після спарювання з самцями даної групи вірогідно не змінювалась у порівнянні з контрольною групою тварин, і становила в середньому 10,8, що майже на 52 % вище за цей показник в VI групі. Макроскопічне обстеження плодів природжених аномалій розвитку не виявило.

Морфометричні показники сім'яних каналців самців до і після корекції МПК на тлі отримання нітриту натрія (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	VI група	XX група
1	Питома площа сперматогоній	6,49±0,18	5,24±0,10*	5,78 ±0,03*
2	Питома площа клітин Сертолі	1,45±0,18	0,65±0,05*	1,31±0,1*
3	Питома площа клітин Лейдига	0,67±0,05	0,80±0,06	0,72±0,03
4	Питома площа інтерстицію	6,22±0,49	8,75±0,49*	6,27±0,08
5	Питома площа базальної мембрани	1,40±0,13	1,50±0,19	1,40±0,12
6	Простір між клітинами СЕ	4,78±0,23	7,54±0,9*	5,01±0,20
7	Просвіт каналців	14,06±1,14	8,50±0,86*	14,60±0.87

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

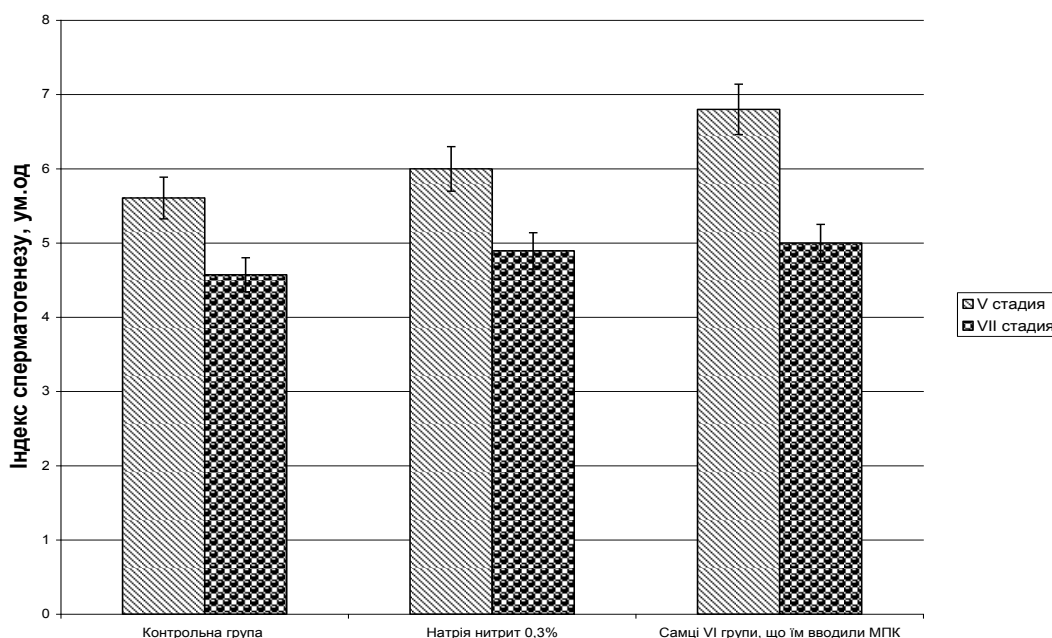


Рис. 5.1.11. Індекс сперматогенезу самців до і після корекції МПК на тлі введення нітриту натрія.

Морфометричне дослідження супраоптичного ядра гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в його складі. Дослідження

аркуатного ядра гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів II типу в його складі (табл. 5.1.12).

Таблиця 5.1.12

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самців мишей до і після корекції МПК на тлі введення нітриту натрія ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	VI група	XX група
СОЯ	I	27,79±0,46	36,83±0,97*	39,51±0,43*
	II	48,76±0,70	37,92±0,87*	35,72±0,74*
	III	13,42±0,75	8,32±0,41*	7,81±0,65*
	IV	5,24±0,36	10,92±0,39*	12,10±0,46*
	V	4,91±0,48	6,12±0,23*	4,91±0,34
АЯ	I	7,70±0,46	16,63±0,76*	18,32±0,62*
	II	54,20±0,99	32,31±0,95*	34,69±0,85*
	III	18,30±0,98	19,91±0,65	19,19±0,80
	IV	14,51±0,86	6,83±0,54*	9,10±0,62*
	V	5,30±0,44	24,40±0,90*	18,72±0,75*

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 1,3, що на 36,89 % нижче за показник контрольної групи і майже не відрізняється від цього показника у VI групи; і для аркуатного ядра – 1,7, тобто становить лише чверть від рівня контрольної групи, та на 21,43 % перевищує результат VI групи.

У самок XXI групи на 20-ий день після введення гранулоцитарного колонієстимулювального фактору на тлі нітритного ураження виявлялося правильне розташування органів репродуктивної системи. Поверхня яєчників слабо-бугриста, тканина м'яко-еластичної консистенції, на розтині – наявність невеликої кількості зрілих фолікулів та поодиноких жовтих тіл. Крововиливів не виявлено.

Слизова оболонка яйцепроводів покрита одношаровим призматичним війчастим епітелієм, клітини якого містять нормохромні ядра. Власна пластинка утворена пухкою сполучною тканиною. У м'язовій

оболонці наявні циркулярний та повздовжній шари гладеньком'язових клітин. Серозна оболонка яйцепроводів – без особливостей.

Матка дворога, її поверхня однорідна, щільної консистенції. На розтині макроскопічна структура без патології. Слизова оболонка ендометрія містить залози, які вислані циліндричним одношаровим епітелієм з овальними базофільними ядрами. Клітини строми цього шару розташовані компактно, ядра різко базофільні, цитоплазма гомогенна. Ядерця не виявляються. Зустрічаються клітини, що дегенерують, з ознаками каріорексису.

Кількість мітозів становила 5-7 у 10 полях зору. Зустрічаються поодинокі патологічні мітози. Підслизовий шар містить багаточисленні кровоносні судини звичайного виду.

Міометрій складався з гладеньком'язових клітин з гомогенною цитоплазмою, нормохромним ядром овально-витягнутої форми. Периметрій – без особливостей. Відносна маса матки і яєчників складала в середньому 0,007, що виявилось на 13,58 % менше, ніж у мишей контрольної групи та майже на 23 % вище ніж у V групі (рис. 5.1.12).

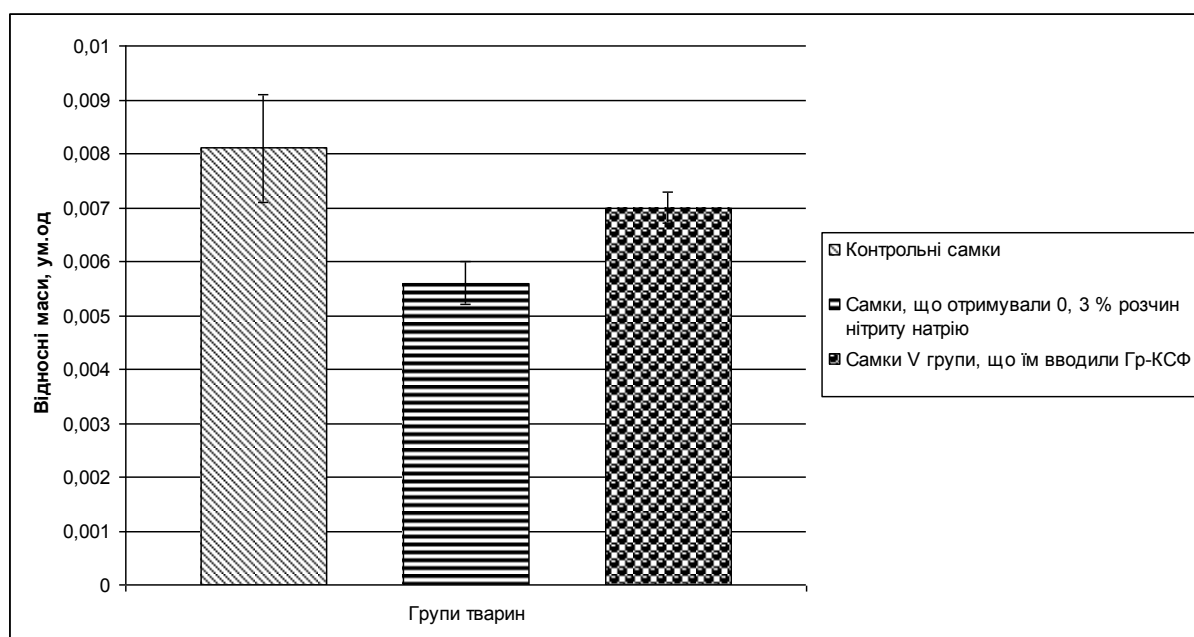


Рис. 5.1.12. Відносна маса матки і яєчників самок до і після корекції Гр-КСФ на тлі вживання нітриту натрію.

Тривалість естрального циклу становила 4,3 дні. У 28,6 % випадків спостерігалось зникнення фази еструсу, у 14,2 % - фази метеструсу.

Індекс плодючості становив 0,52, тобто на 40,23 % нижче за контрольну групу, та на 73,33 % вище за дані тварин V групи. В цей самий час кількість плодів вірогідно не змінювалась порівняно з контрольною і V групами, і становила $10,6 \pm 0,9$.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів I типу в їх складі (табл. 5.1.13). Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 0,9, тобто становить лише половину від показника контрольної групи та на 28,57 % перевищує цей показник V групи; і для аркуатного ядра – 1,1, що становить лише 42,31 % від показника контрольної групи та є на 22,2 % вищим за даний показник V групи.

Таблиця 5.1.13

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самок мишей до і після корекції Гр-КСФ після отримання нітриту натрія ($M \pm m$, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	V група	XXII група
СОЯ	I	$32,55 \pm 0,65$	$53,72 \pm 0,91^*$	$49,81 \pm 0,75^*$
	II	$51,05 \pm 0,64$	$31,74 \pm 0,79^*$	$35,18 \pm 0,60^*$
	III	$11,07 \pm 0,74$	$6,82 \pm 0,47^*$	$7,21 \pm 0,56^*$
	IV	$3,00 \pm 0,30$	$3,42 \pm 0,31$	$3,01 \pm 0,25$
	V	$2,52 \pm 0,27$	$4,40 \pm 0,28^*$	$4,11 \pm 0,35^*$
АЯ	I	$23,15 \pm 0,74$	$43,73 \pm 0,91^*$	$41,79 \pm 0,85^*$
	II	$48,06 \pm 0,85$	$27,72 \pm 0,80^*$	$31,81 \pm 0,65^*$
	III	$12,98 \pm 1,01$	$16,84 \pm 0,62^*$	$15,10 \pm 0,85^*$
	IV	$11,25 \pm 0,99$	$3,62 \pm 0,33^*$	$4,82 \pm 0,62^*$
	V	$4,56 \pm 0,66$	$8,20 \pm 0,23^*$	$6,51 \pm 0,55^*$

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Вивчення морфологічного стану статеві системи самців мишей ХХІІ групи показало, що на тлі отримання 0,3 % розчину нітриту натрія з наступним введенням Гр-КСФ на 21-ий день після ін'єкції відносна маса яєчок не відрізняється від такої у контрольній групі, але цей показник на 25,0 % вищий за дані тварин VI групи, які отримували 0,3 % розчин нітриту натрію без наступної корекції цитокином (рис. 5.1.13). При макроскопічному дослідженні зовнішніх уражень яєчок та їх придатків не виявлено.

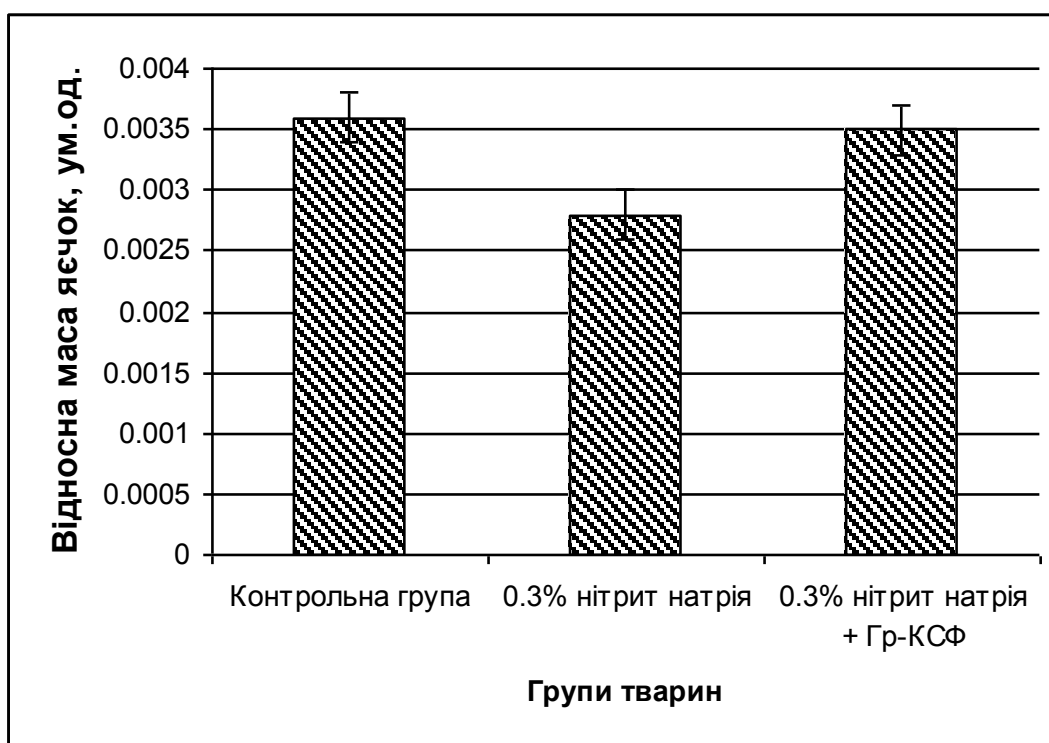


Рис. 5.1.13. Відносна маса яєчок самців до і після корекції Гр-КСФ на тлі отримання нітриту натрія.

Товщина сперматогенного епітелія в V стадії була 8,41 мкм, що вірогідно не відрізнялося від цього показника в контрольній групі та на 9,65 % перевищує цей показник у VI групі (табл. 5.1.14). Кількість каналців зі злущеним епітелієм підвищена у 3,31 рази порівняно з

контрольною групою. Співставлення цього показника з даними тварин VI групи показує його зниження до 38,26 %.

Таблиця 5.1.14

Товщина сперматогенного епітелія самців до і після корекції МПК та Гр-КСФ на тлі отримання нітриту натрія ($M \pm m$, мкм)

Показник	Контрольна група	VI група (нітрит натрія)	XX група (нітрит натрія+МПК)	XXII група (нітрит натрія+Гр-КСФ)
Товщина СЕ	8,73 ± 0,08	5,43±0,34*	8,05±0,64	8,41±0,35

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Питома площа окремих компонентів тканини яєчка була такою: сперматогоній – 5,9 (майже на 10 % менше ніж у контрольних тварин та на 12,60 % більше ніж у VI групі); клітин Сертолі – 1,37 (менше за показники контрольної групи на 5,52 % та вдвічі вище за VI групу тварин); клітин Лейдига – 0,78 (на 16,42 % перевищує контрольну групу і практично не відрізняється від показника VI групи); інтерстицію – 6,9 (на 10,93 % більше за контрольну групу та на 21,14 % нижче за VI групу); товщини базальної мембрани – 1,5 (на 7,14 % більше, ніж у контрольної групи, і не відрізняється від даних VI групи) (табл. 5.1.15). Просвіт каналців зменшувався як у порівнянні з контрольною групою, так і у порівнянні з VI групою – на 44,01 % та 27,18 % відповідно. Індекс сперматогенезу становив для V стадії 6,0, що на 6,95 % перевищує показник контрольної групи та виявляється на 17,81 % нижчим за VI групу; I_c в VII стадії на 7,22 % перевищував дані контрольних тварин та був нижчий за показник VI групи на 9,93 % (рис. 5.1.14).

Морфометричні показники сім'яних каналців самців до і після корекції Гр-КСФ ні тлі вживання нітриту натрія (M±m)

№ п/п	Показник	Контрольна група	VI група	XXII група
1.	Питома площа сперматогоній	6,49 ± 0,18	5,24±0,10*	5,9±0,12*
2.	Питома площа клітин Сертолі	1,45 ± 0,18	0,65±0,05*	1,37±0,08
3.	Питома площа клітин Лейдига	0,67 ± 0,05	0,80±0,06	0,78±0,02
4.	Питома площа інтерстицію	6,22 ± 0,49	8,75±0,49*	6,9±0,67*
5.	Питома площа базальної мембрани	1,40 ± 0,13	1,50±0,19	1,5±0,14
6.	Простір між клітинами сперматогенного	4,78 ± 0,23	7,54±0,9*	6,32±0,29*
7.	Просвіт каналців	14,06±1,14	8,50±0,86*	6,19±0,92*

Примітка: * - $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

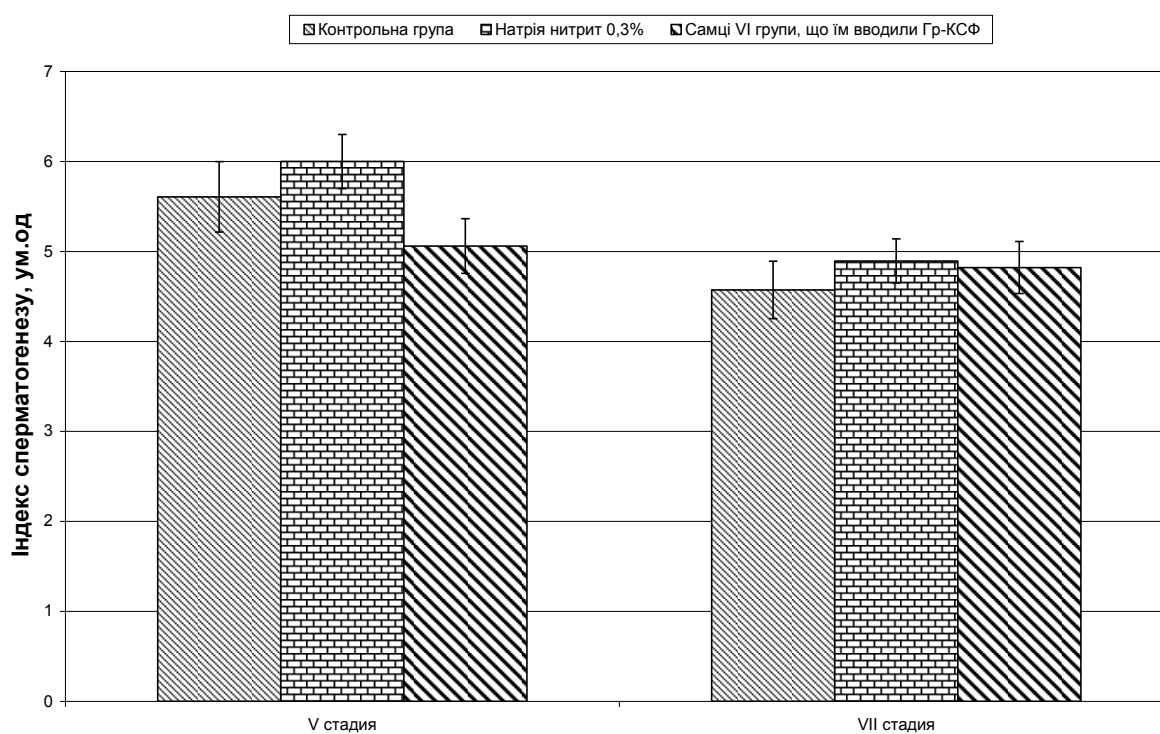


Рис. 5.1.14. Індекс сперматогенезу самців до і після корекції Гр-КСФ на тлі вживання нітриту натрія.

Індекс плодючості становив 0,86, що статистично не відрізняється від показників контрольної та VI груп.

Кількість плодів у самок після спарювання з самцями даної групи збільшувалась на 6,7 % у порівнянні з контрольною групою, і становила в середньому 11,8, що на 65,73 % вище за цей показник в VI групі. Макроскопічне обстеження плодів природжених аномалій розвитку не виявило.

Морфометричне дослідження супраоптичного і аркуатного ядер гіпоталамуса виявило переважну більшість нейронів II типу в їх складі (табл. 5.1.16). Отримані дані дозволили обчислити індекс активності нейронів, який становив для супраоптичного ядра 1,4, що становить 67,96 % від показника контрольної групи і на 5,26 % перевищує цей показник VI групи; і для аркуатного ядра – 1,7, що становить лише 25,37 % від показника контрольної групи і на 21,43 % перевищує показник VI групи.

Таблиця 5.1.16

Середній вміст нейросекреторних клітин у супраоптичному та аркуатному ядрах переднього гіпоталамуса самців мишей до і після корекції Гр-КСФ на тлі вживання нітриту натрія (M±m, %)

Ядро	Тип нейрону	Контрольна група	VI група (нітрит натрія)	XXII група (нітрит натрія+Гр-КСФ)
СОЯ	I	27,79±0,46	36,83±0,97*	37,42±0,56*
	II	48,76±0,70	37,92±0,87*	39,51±0,65*
	III	13,42±0,75	8,32±0,41*	6,89±0,45*
	IV	5,24±0,36	10,92±0,39*	11,91±0,27*
	V	4,91±0,48	6,12±0,23*	4,31±0,36
АЯ	I	7,70±0,46	16,63±0,76*	17,18±0,35*
	II	54,20±0,99	32,31±0,95*	36,22±0,55*
	III	18,30±0,98	19,91±0,65	18,70±0,44
	IV	14,51±0,86	6,83±0,54*	7,88±0,64*
	V	5,30±0,44	24,40±0,90*	20,08±0,46*

Примітка: *- p<0,05, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Обчислення ІПМФСРС показало (табл. 5.1.17), що ані введення МПК, ані введення Гр-КСФ не оказує істотного впливу на стан репродуктивної системи самок мишей за умов ураження доксорубоміцину гідрохлоридом.

Таблиця 5.1.17

Інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи самок до і після корекції МПК та Гр-КСФ після введення доксорубоміцину гідрохлорида (в балах)

№ п/п	Показник	Контрольна група	III група (ДГ)	XV група (ДГ+МПК)	XVII група (ДГ+Гр-КСФ)
1.	$I_{п}$	10	10	10	10
2.	Відносна маса матки та яєчників	5	4	5	5
3.	Тривалість ЕЦ	5	5,5	5	4,5
4.	ІПМФСРС	20	19,5	20	19,5

Таблиця 5.1.18

Індекс активності нейронів самок до і після корекції МПК та Гр-КСФ після введення доксорубоміцину гідрохлорида (в балах)

Показник	Контрольна група	III група (ДГ)	XV група (ДГ+МПК)	XVII група (ДГ+Гр-КСФ)
$I_{ан}$	5	1,5	1,5	1,5

В цей самий час у самок, що підлягали впливові надлишкової кількості екзогенного донатору NO, введення МСК або Гр-КСФ майже на 40 % підвищувало ІПМФСРС по відношенню до цього показника у V групи тварин, які не підлягали корекції (табл. 5.1.19). Слід зауважити, що досліджені речовини не призводили до повного відновлення морфофункціонального стану репродуктивної системи.

Інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи самок до і після корекції МПК та Гр-КСФ після вживання нітриту натрія (в балах)

№ п/п	Показник	Контрольна група	V група (нітрит натрія)	XIX група (нітрит натрія+МПК)	XXI група (нітрит натрія+Гр-КСФ)
1.	I _п	10	3	10	10
2.	Відносна маса матки та яєчників	5	3	4,5	4,5
3.	Тривалість ЕЦ	5	7	4,5	5
4.	ІПМФСРС	20	13	19	19,5

Таблиця 5.1.20

Індекс активності нейронів самок до і після корекції МПК та Гр-КСФ після вживання нітриту натрія (в балах)

Показник	Контрольна група	V група (нітрит натрія)	XIX група (нітрит натрія+МПК)	XXI група (нітрит натрія+Гр-КСФ)
I _{ан}	5	2	3	2,5

При обчисленні ІПМФСРС у самців XVI та XVIII груп було виявлено, що на тлі ураження доксорубоміцину гідрохлоридом введення МСК на 36 %, а Гр-КСФ – на 24 % підвищує ІПМФСРС (табл. 5.1.21). Тем не менш повного відновлення морфофункціонального стану репродуктивної системи не відбулося.

Інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи самців до і після корекції МПК та Гр-КСФ впливу доксорубоміцину гідрохлорида (в балах)

№ п/п	Показник	Контрольна група	IV група (ДГ)	XVI група (ДГ+МПК)	XVIII група (ДГ+Гр-КСФ)
1.	$I_{\text{п}}$	10	7	9	8
2.	Відносна маса яєчок	5	3,5	4	5
3.	Питома площа СЕ	5	3,5	4,5	4,5
4.	$I_{\text{сг}}$	5	3,5	4,5	4
5.	Питома площа сперматогоній	5	0	3	2,5
6.	ІПМФСРС	30	17,5	25	24

Таблиця 5.1.22

Індекс активності нейронів самців до і після корекції МПК та Гр-КСФ впливу доксорубоміцину гідрохлорида (в балах)

Показник	Контрольна група	IV група (ДГ)	XVI група (ДГ+МПК)	XVIII група (ДГ+Гр-КСФ)
$I_{\text{ан}}$	5	3,5	2,5	2

Дослідження ІПМФСРС у самців XX та XXII груп показало, що введення МСК або Гр-КСФ самцям на тлі надходження надлишкової кількості нітриту натрію призводить до покращання морфофункціонального стану репродуктивної системи, хоча й не відновлюючи його повністю (табл. 5.1.23).

Інтегральний показник морфофункціонального стану репродуктивної системи самців до і після корекції МПК та Гр-КСФ після вживання нітриту натрія (в балах)

№ п/п	Показник	Контрольна група	VI група (нітрит натрія)	XX група (нітрит натрія+МПК)	XXII група (нітрит натрія+Гр-КСФ)
1.	$I_{\text{п}}$	10	10	9	10
2.	Відносна маса яєчок	5	4	4	4
3.	Питома площаСЕ	5	4	4,5	5
4.	$I_{\text{сг}}$	5	5	4	4
5.	Питома площа сперматогоній	5	4,5	4,5	4,5
6.	ІІМФСРС	30	27,5	26	27,5

Таблиця 5.1.24

Індекс активності нейронів самців до і після корекції МПК та Гр-КСФ після вживання нітриту натрія (в балах)

Показник	Контрольна група	VI група (нітрит натрія)	XX група (нітрит натрія+МПК)	XXII група (нітрит натрія+Гр-КСФ)
$I_{\text{ан}}$	5	1,5	2,5	2,5

Таким чином, можна зробити висновок про те, що як при ураженні нітритом, так і при ураженні доксорубоміцину гідрохлоридом, застосування у якості терапевтичного агенту Гр-КСФ або МПК призводить до покращання морфологічних показників гонад та функціонального стану репродуктивної системи у тварин обох статей. Крім того, у групах тварин обох статей, що вживали нітрит натрія, після корекції відбувається також

підсилення активності досліджених ядер гіпоталамуса. Тобто, застосування цитокінової або клітинної експериментальної терапії було більш ефективним на тлі нітритної інтоксикації. Найкращі результати були отримані у самців за умов введення Гр-КСФ.

5.2. Дослідження ефективності ЕКСО, гранулоцитарного колонієстимулювального фактору та мезенхімальних прогеніторних клітин за умов оваріоектомії

Суттєву роль в генерації ефектів гормонів чи їх антагоністів відіграють ксеноестрогени – сполуки, які мають естрогеноподібні властивості. Дякуючи структурній подібності до гормонів, ксеноестрогени можуть пов'язуватися з білками стероїдних гормонів – рецепторами, транспортними білками чи ферментами їх метаболізму, і викликати порушення гормонального балансу [79, 80]. Відомо, також, що в продуктах рослинного походження присутні сполуки, що проявляють в організмі ссавців естрогенні властивості – фітоестрогени. Показано, що фітоестрогени здатні компенсувати наслідки гормональних порушень різної етіології, а також виконувати антиоксидантну і ферментативну функції [296].

Низка публікацій присвячена дослідженню впливу фітоестрогенів на репродуктивну систему людини. Препарат ЕКСО містить водорозчинні сполуки (білки, пептиди, амінокислоти, вітаміни, мікроелементи). Основні компоненти, що забезпечують естрогенну дію ЕКСО, – ізофлавіони – геністеїн та даїдзеїн [314, 316]. Оскільки до основних механізмів дії ЕКСО відносять остеотропний, антиоксидантний і естрогенний ефекти, на моделі гіпоестрогенного стану після операції оваріоектомії, був відпрацьований вплив компонентів ЕКСО на стан слизової та м'язової оболонки матки щурів.

У самок щурів XXIII групи (контрольні тварини) матка була побудована за звичайним планом. Ендометрій складався з епітелію циліндричної форми з характерними війчастими і секреторними клітинами і строми. Окремі епітеліальні клітини ділилися мітозом. Ядра епітеліоцитів характеризувалися вертикальною орієнтацією і добре вираженим рисунком хроматину, зустрічалися також клітини з щільними ядрами.

Строма ендометрія була представлена дрібними веретеноподібними сполучнотканинними клітинами. Залози ендометрія мали трубчасту форму і склалися з циліндричного епітелія. Гістохімічне дослідження показало, що нуклеїнові кислоти виявляються в ядрах, ядерцях і цитоплазмі покривних епітеліоцитів, залозистих і стромальних клітин. Міометрій складався з міоцитів, що мають звичайну форму і будову. Маса матки та яєчників становила 0,0021 г, маса матки – 0,0016 г.

У XXIV групі щурів після оваріоектомії середня товщина стінки матки зменшилася на 18, 04 %, $p < 0,01$. У покривному епітелії ендометрія спостерігалися порушення структури у вигляді атипового розташування клітин, зменшення їх висоти і поліморфізму ядер. Форма клітин варіювала від низькоциліндричної до кубічної, ядра були порівняно щільними, деякі піддалися пікнозу. Разом з тим, частина епітеліоцитів зберегла форму і риси будови клітин ендометрія контрольних щурів. Клітини, що діляться мітозом, зустрічалися украй рідко. МІ став менше майже в 3 рази (табл. 5.2.1). При гістохімічному дослідженні, навіть візуально, чітко простежувалися тенденції до ослаблення забарвлення НК і зміни їх топографії в цитоплазмі покривних епітеліоцитів. Весь комплекс перерахованих ознак свідчить про атрофічні зміни епітелія. Залози характеризувалися ознаками сплюснення клітин і ущільнення ядер, частина ядер піддалася пікнозу. Проте, разом з описаними, зустрічалися залози, клітини яких брали участь в секреції (містили світлі ядра і вакуолі в цитоплазмі). Мітотичного поділу клітин практично не спостерігалось.

Строма ендометрія була набряклого, клітини в ній характеризувалися щільними подовженими ядрами. В результаті морфометричного аналізу з'ясувалося, що середній об'єм клітин покривного епітелія ендометрія став менше на 19 %, $p < 0,001$, а їх ядер – на 47 %, $p < 0,001$. Ядерно-цитоплазматичне відношення (Я/Ц), що відбиває зміни рівня диференціювання клітин, зменшилося на 45 %.

Таблиця 5.2.1

Мітотичний індекс і ядерно-цитоплазматичне співвідношення клітин покривного епітелію ендометрія щурів ($M \pm m$)

Група тварин	Мітотичний індекс, %	Порівняно з контролем	я/ц	Порівняно з контролем, %
Контрольні щури	9,8±1,83	100	0,47	100
Оваріоектомія	3,4±1,06	35 ($p < 0,01$)	0,26	55
Оваріоектомія+ЕКСО	4,5±1,25	46 ($p < 0,05$)	0,41	87

У залозистому епітелії величини зазначених параметрів клітин були схожі з такими покривного епітелію, але достовірно відрізнялися тільки показники ядерного об'єму (табл. 5.2.2). Значення середньої площі профілю поперечного перетину міоцитів міометрія, їх цитоплазми і ядер зменшилися на 37,14, 40,26 і 25,08 % відповідно, $p < 0,001$. Маса матки зменшувалася на 25,21 %, і становила 0,0012 г. Результати кореляційного аналізу показали відсутність значущого кореляційного зв'язку між товщиною стінки матки і площею поперечного перетину міоцитів ($r = + 0,62$, при $p > 0,05$). У той же час в контрольній групі показник $r = + 0,82$, а значення $p > 0,001$.

Морфометричні дослідження епітелія залоз ендометрія щурів (M±m)

Група тварин	Досліджена структура	Середня площа, ум.од.
Контрольні щури	Клітина	7,9±0,5
	Цитоплазма	4,60±0,38
	ядро	3,3±0,3
Оваріоектомія	Клітина	7,10±0,47
	Цитоплазма	4,60±0,38
	ядро	2,50±0,28*
Оваріоектомія+ЕКСО	Клітина	8,21±0,50
	Цитоплазма	5,24±0,40*
	ядро	2,97±0,27

Примітка: *- $p < 0,05$, різниця вірогідна по відношенню до контролю

Проведені дослідження показали, що після оваріоектомії виникали атрофічні процеси в тканинах ендометрія, що призводило до стоншування стінки матки. Атрофія тканин ендометрія супроводжувалася компактизацією строми, сплюсненням покривного епітелію, зміною рівня диференціювання і вмісту нуклеїнових кислот в цитоплазмі клітин. Близькими до описаних були і зміни в клітинах залоз. Перераховані ознаки в поєднанні з істотним зменшенням клітин, що діляться мітозом, і атрофічними змінами міоцитів міометрія є частиною комплексу морфологічних порушень органів репродуктивної системи, що виникають при оваріоектомії в експерименті і клініці [338, 339].

У XXV групі тварин, які після оваріоектомії отримували ЕКСО, середня товщина стінки матки збільшилася і наблизилася до рівня контролю. Покривний епітелій ендометрія характеризувався більш різноманітною морфологічною картиною порівняно з XXIV групою

щурів. У ньому, разом із скупченням низьких циліндричних клітин, виявлялися в значній кількості епітеліоцити високої циліндричної форми з подовженими щільними і округлими світлими ядрами. Клітини з світлими ядрами забарвлювалися менш базofilно, іноді містили вакуолі. У деяких ділянках епітелій перетворився на багаторядний. Описані зміни покривного епітелію свідчать, мабуть, про багатогранну функціональну діяльність його клітин. Реєструвалося також збільшення вмісту НК у цитоплазмі епітеліоцитів вищеописаної групи щурів. Залози ендометрія були побудовані, переважно, з високого циліндрового епітелію, в деяких ділянках - багаторядного. Мітозів, як і в покривному епітелії, було порівняно мало. Строма ендометрія виглядала менш компактною порівняно зі стромою щурів XXIV групи. Морфометрія показала, що об'ємні величини клітин покривного епітелію і їх структурних частин достовірно не відрізнялися від відповідних величин контрольної групи щурів. Показник відношення Я/Ц наблизився до рівня контролю (табл. 5.2.1). Величина МІ була практично на рівні такої щурів після оваріоектомії – 4,51 %. Нормалізація цитологічних показників спостерігалася і в клітинах залоз (табл. 5.2.1, рис.5.2.1).

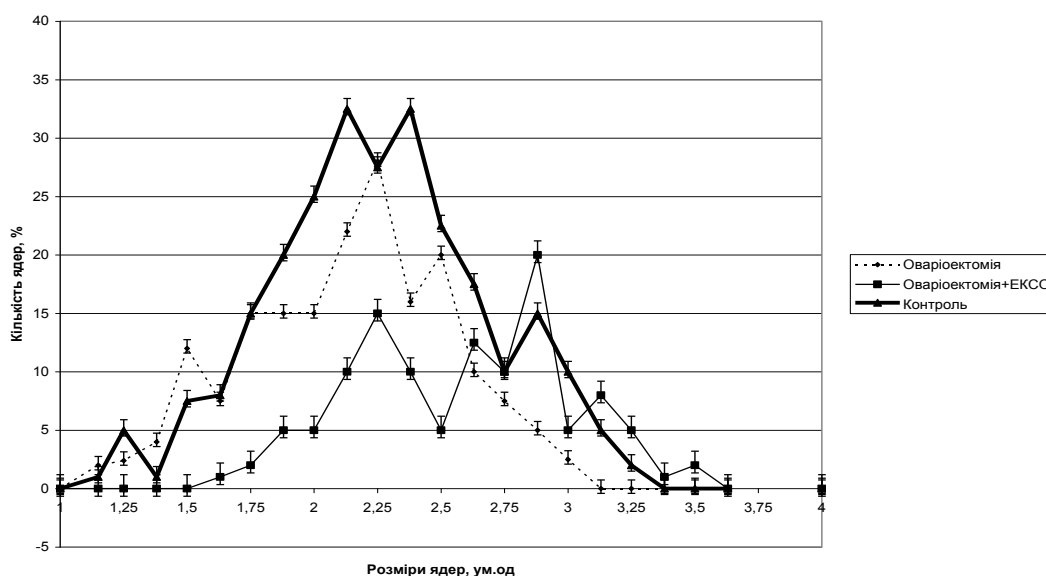


Рис. 5.2.1. Вплив ЕКСО на каріограму епітеліоцитів ендометрія щурів після оваріоектомії.

Величини середньої площі поперечного перетину міоцитів і їх структурних компонентів практично нормалізувалися (табл. 5.2.2). Як і в контрольній групі щурів, виявився значущий сильний кореляційний зв'язок між товщиною стінки матки і розмірами міоцитів / $r = + 0,76$ при $p < 0,05$ /. Маса матки зростала на 8,30 % у порівнянні з XXIV групою після оваріоектомії без корекції ЕКСО, становлячи 0,0013 г.

У щурів XXVI групи, які після оваріоектомії отримували корекцію Гр-КСФ, середня товщина стінки матки залишалася на 16,82 % нижчою за показник контрольної групи, майже не відрізняючись від показника XXIV групи. В покривному епітелії виявлявся значний поліморфізм епітеліоцитів та їх ядер. Спостерігалися базофільні клітини з світлими ядрами, які іноді містили вакуолі. В деяких ділянках виявлявся багаторядний епітелій. Подекуди зустрічалися клітини, що діляться. Вміст НК в цитоплазмі епітеліоцитів залишався низьким. Залози ендометрія містили епітеліоцити, частина яких була сплющеною, ядра піддалися пікнозу. В окремих місцях спостерігалися залози в стадії секреції. Виявлялися клітини, що діляться. Строма ендометрія була розпушеною, ядра клітин виглядали щільними. Об'ємні величини клітин покривного епітелія і їх структурних частин достовірно не відрізнялися від відповідних величин XXIV групи щурів. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення перевищував на 7,81 % значення групи без корекції, але залишався на 37,04 % нижчим за показник контрольної групи. Величина МІ була на 72, 61 % нижчою у порівнянні з контролем. Показники середньої площі поперечного перетину міоцитів і їх структурних компонентів практично не змінилися відносно XXIV групи. Як і в XXIV групі щурів, виявлялася відсутність скільки-небудь значного кореляційного зв'язку між товщиною стінки матки і розмірами міоцитів / $r = + 0,63$ при $P > 0,05$ /. Маса матки зростала порівняно з групою після оваріоектомії без корекції на 2,42 % (відмінність не є вірогідною), і була майже на 23 % нижчою за контрольну групу.

У щурів XXVII групи, яким після оваріоектомії вводили МПК, середня товщина стінки матки сягала рівня контрольної групи. В покривному епітелії виявлялися в значній кількості епітеліоцити високої циліндричної форми з подовженими щільними і округлими світлими ядрами. Спостерігалися базофільні клітини з світлими ядрами, які іноді містили вакуолі. В деяких ділянках виявлявся багаторядний епітелій. Зростав вміст НК в цитоплазмі епітеліоцитів. Залози ендометрію були побудовані з високого циліндричного епітелію, в деяких ділянках – багаторядного. Спостерігалася невелика кількість клітин, що діляться. Строма ендометрія була пухкою. Об'ємні величини клітин покривного епітелія і їх структурних частин достовірно не відрізнялися від відповідних величин контрольної групи щурів. Показник ядерно-цитоплазматичного відношення наближався до рівня контролю. Величина МІ була 4,52 %. Показники середньої площі поперечного перетину міоцитів і їх структурних компонентів практично нормалізувалися. Як і в контрольній групі щурів, виявлявся значущий сильний кореляційний зв'язок між товщиною стінки матки і розмірами міоцитів / $r=+0,76$ при $p<0,05$ /. Маса матки зростала порівняно з групою після оваріоектомії майже на 17, 24 %, і становила 0, 0014 г.

Таким чином, у наших дослідженнях встановлено, що ЕКСО має суттєву протекторну дію на тканини матки щурів за умов гіпоестрогенного стану внаслідок оваріоектомії. Разом з тим, враховуючи результати морфометрії, необхідно наголосити, що ознак гіпертрофії та гіперплазії клітин ендометрію не спостерігалось, що свідчить про м'яку естрогеноподібну дію ЕКСО. Ефективною також виявилася дія МПК, в той час, як Гр-КСФ суттєво не впливав на стан ендометрія.

Результати розділу опубліковані в наступних статтях, надрукованих в фахових виданнях.

1. Холодкова О. Л. До питання про біобезпечність використання генних та клітинних технологій / В. М. Запорожан, О. Л. Холодкова // Трансплантологія. – 2004. – № 3. – С. 97 – 103.
2. Холодкова О. Л. Морфологічні зміни ендо- і міометрія щурів після оваріектомії і введення ЕКСО / І. М. Мойсєєв, А. П. Левицький, О. Л. Холодкова, О. Б. Македон, Д. М. Пихтєєв // Досягнення біології та медицини. – 2005. – № 2(6). – С. 19 – 22.
3. Холодкова Е. Л. Возможности использования цитокинов при токсических поражениях яичек / Е. Л. Холодкова, Д. М. Пыхтеев, А. Л. Щербатюк, А. И. Пономаренко // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип. 2. – С. 154 – 157.
4. Холодкова О. Л. Вплив ЕКСО на стан епітеліїв із різною чутливістю до естрогену за умов експериментальної оваріоектомії / О. Л. Холодкова, І. М. Мойсєєв, А. П. Левицький, Д. М. Пихтєєв, О. Б. Македон // Одеський медичний журнал. - 2006. – № 4(96). – С. 29 – 32.
5. Холодкова О. Л. Сучасні біотехнології в регенеративній медицині (огляд літератури та власних досліджень) / В. М. Запорожан, О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв, М. М. Перепелюк // Журнал академії АМН України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 65 – 77.
6. Холодкова О. Л. Сучасні біотехнологічні підходи в регенерації репродуктивної системи / О. Л. Холодкова // Патологія. – 2008. – Т.5, № 3. – С. 107.
7. Холодкова О. Л. Застосування мезенхімальних прогеніторних клітин для корекції морфофункціонального стану репродуктивної системи самок мишей за умов впливу нітриту натрію / О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв, А. Л. Щербатюк, О. Г. Попов, О. Л. Кошельник, Т. М. Ославська // Вісник морфології. – 2009. – № 1. – С. 40 – 44.

Отримано патенти України на корисну модель.

1. Пат. 19093 Україна, МПК (2006) А61К 35/48 (2006.1) А61К 31/568 (2006.1) А61К 47/00 (2006.1) Спосіб лікування гіпогонадізму /

Запорожан В. М., Холодкова О. Л., Пихтєєв Д. М., Перепелюк М. ; заявник та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № а 200608482 ; заявл. 28.07.06 ; опубл. 15.12.2006, Бюл. № 12. – 2 с.

Результати, які містяться в розділі, доповідалися на наукових форумах.

1. Kholodkova O. L. Influence of G-CSF on the state of visceral organs in acute toxic affection / V. N. Zaporozhan, E. L. Kholodkova, D. M. Pykhteyev, N. N. Perepelyuk // The international journal of artificial organs. – 2005. – Vol. 28. – № 9. – P. 935 (2nd World Congress on Regenerative Medicine, 18-20 May, 2005, Leipzig, Germany : abstracts).

2. Kholodkova O. L. The regeneration of spermatogenic epithelium after cytokine therapy of toxic affections of the testicles / V. Zaporozhan, O. Kholodkova, D. Pykhteyev, A. Shcherbatiuk, N. Perepelyuk, O. Kozanenko // Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, suppl. 2. – P. 10 (2nd International Conference “Strategies in Tissue Engineering”, May 31-June 2, 2006, Wurzburg, Germany : abstracts).

3. Kholodkova O. L. Effects of stem cells activation by cytokines in the conditions of toxic affection of reproductive system in mice males / V. Zaporozhan, O. Kholodkova, A. Shcherbatiuk, D. Pykhteyev, N. Perepelyuk // Tissue engineering. – 2007. – Vol. 13, №. 7. – P. 1683 (XXXIV ESAO Congress, 5-8 September, 2007, Krems, Austria : abstracts).

4. Kholodkova O. L. Regenerative medicine: state in Ukraine / V. Zaporozhan, V. Kordium, O. Kholodkova, D. Pykhteyev, N. Perepelyuk // Regenerative medicine. – 2007. – Vol. 2, No. 5. – P. 715 (III World Congress on regenerative medicine. Leipzig, Germany, 18-20 October, 2007 : abstracts).

5. Холодкова О. Л. Можливості застосування цитокінів у регенеративній медицині / В. М. Запорожан, О. Л. Холодкова, Д. М. Пихтєєв, М. М. Перепелюк // II з'їзд Українського товариства клітинної біології, 23-26 жовтня, 2007 р., Київ : тези. доп. – К. : Київ. нац. ун-т ім. Т. Г. Шевченка, 2007. – С. 191.

РОЗДІЛ 6

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Останнє десятиріччя в Україні спостерігається стійка тенденція до скорочення популяції [217, 340, 341]. Безумовно, є ціла низка чинників, що обумовлюють цей стан – невпевненість у завтрашньому дні, невирішеність матеріальних проблем, складність у придбанні житла та ін. У цей самий час в країні склалася певна категорія подружніх пар, які страждають на безпліддя. За статистичними даними розлади репродуктивної функції виявляються як у жінок, так і у чоловіків з майже однаковою частотою [342]. Тільки у 15-20 % пацієнтів неплідність обумовлена ураженням власне статевих органів, в багатьох випадках безпліддя центрального генезу можуть тільки припускати у зв'язку зі складністю постановки діагнозу [293]. Отже, створення та відпрацювання моделей неплідності або стійкого пригнічення фертильності посідає одне з важливих місць у сучасній патофізіології репродукції, а пошук нових шляхів корекції даної патології стає важливішою проблемою сучасної репродуктології.

У зв'язку з наведеним в нашій роботі ми відтворили на експериментальних моделях патологію репродуктивної системи на різних рівнях її регуляції; розробили новітні методи корекції ураження репродуктивної системи, які не оказують бічного впливу на інші органи і системи організму; відпрацювали створені методи корекції.

Реальну загрозу репродуктивній функції жінок та здоров'ю дітей створює широке застосування в промисловості і сільському господарстві різних хімічних речовин. Жінки та діти як найбільш чутлива частина населення раніше й гостріше реагують на чинники довкілля. Результати взаємодії організму жінки і зовнішнього середовища виражаються двома категоріями: здоров'ям самої жінки та здоров'ям дитини, що вона народила [343].

Вплив хімічних речовин на репродуктивну систему призводить до неплідності, розвитку різноманітної патології вагітності та пологів, самовільних викиднів, порушення росту і розвитку нащадків, виникненню злякисних новоутворювань і передчасному припиненню репродуктивної функції.

Біохімічні механізми біотрансформації чужорідних сполук належать до найбільш стародавніх механізмів. Токсична дія ксенобіотиків на живі системи обумовлюється їхньою здатністю втручатися у перебіг фундаментальних біохімічних процесів і порушувати їх [193, 344]. До таких фундаментальних процесів, що становлять основу життєдіяльності, відносять синтез білків, дихання, енергетичний обмін, метаболізм, у т.ч. і ксенобіотиків. Безпосереднім місцем утилізації ксенобіотиків являється, насамперед, печінка з її мікосомальним апаратом. Окрім ксенобіотиків, мікосомні ферменти забезпечують катаболізм багатьох ендогенних сполук і, в першу чергу, стероїдних гормонів – підвищення активності мікосомальних ферментів чи їх пригнічення. Так, багато сірковміщуючих пестицидів пригнічують гідроксилування тестостерону, прогестерону, естрадіолу [345]. Навпаки, хлорвуглеводи підвищують активність оксидаз із змішаними функціями, і як наслідок, призводять до зменшення рівня подібних гормонів у організмі.

Загальнобіологічним механізмом реалізації токсичних ефектів являється також порушення біоенергетичних процесів, зазвичай, пов'язане з мітохондріальним структурно-метаболічним комплексом.

У токсикології хімічні речовини, що пошкоджують синтез білку, поділяють на дві групи [193]. Перша з них містить ксенобіотики, що оказують опосередкований вплив на синтез білку через зміну процесів біоенергетики, гормонального статусу, проникності мембран та ін. Може мати місце й інший механізм: в процесі метаболізму ксенобіотиків утворюються активні радикали і перекиси, що впливають на фосфоліпиди

мембран ендоплазматичного ретикулуму та пошкоджують їх, що й сприяє порушенню синтезу білку.

Друга група ксенобіотиків включає сполуки, що безпосередньо інгібують білковий синтез, втручаючись в процеси транскрипції або трансляції. Значна частина ксенобіотиків порушує процеси транскрипції, пошкоджуючи матрицю, тобто ДНК. Під їх впливом руйнуються ковалентні зв'язки поміж нуклеотидами і модифікуються їх функціональні групи за рахунок утворення комплексів, випадіння або розривів ділянок ланки ДНК. Саме такою речовиною є доксорубоміцину гідрохлорид.

У нормальних тканинах токсичність доксорубоміцину гідрохлорида обумовлена утворенням активних форм кисню (АФК). Зростання продукції АФК призводить до зниження вмісту в клітинах відновленого глутатіону, зниженню внутрішньоклітинного окислювально-відновного потенціалу, і, шляхом низки внутрішньоклітинних механізмів запускає програму апоптозу клітини [312].

За патологічних умов механізм впливу доксорубоміцину гідрохлорида дещо змінюється. Існують дані, що, наприклад, при кардіоміопатії, індукованої доксорубоміцину гідрохлоридом, відбуваються зміни в системі макроергічних фосфатів і нікотинамідних ферментів, розвивається різка активація ліпопероксидації в печінці експериментальних тварин [313, 346].

Як показали наші дослідження, у самок мишей на тлі ураження доксорубоміцину гідрохлоридом відбувається значне пригнічення відновлювальної активності ендометрія, дисбаланс протікання естрального циклу, різке зниження індексу активності нейронів та інтегрального показника морфофункціонального стану репродуктивної системи. Аналогічні зміни спостерігалися й у самців мишей після введення доксорубоміцину гідрохлорида, коли виявлялося майже повне виснаження сперматогенного епітелія, різке зниження індексу сперматогенезу, суттєве пригнічення індексу активності нейронів та інтегрального показника

морфофункціонального стану репродуктивної системи. При цьому у самців доксорубоміцину гідрохлорид оказав пряму токсичну дію тільки на сперматогонії та сперматоцити у стадії прелептотени. Кількість і морфологічні властивості клітин сперматогенного епітелію, що знаходилися за гематотестикулярним бар'єром [347], були незмінними, що говорить про складність проходження препарату через дану фізіологічну перешкоду. Розглядаючи регуляторні механізми на тканинному, органному та організменному рівнях, що забезпечують репродуктивну функцію, необхідно виділити гематотестикулярний бар'єр, основною функцією якого є підтримання імунологічного гомеостазу, тобто ізоляція сперматозоїдів, що мають аутоантигенну активність, від імунологічного апарату організму. Гематотестикулярний бар'єр виконує також функцію генетичного захисту найбільш уразливих сперматоцитів, що знаходяться у стадії мейотичного поділу, та сперматид, які знаходяться у фазі конденсації хроматину [195, 200].

У динаміці експерименту морфологічні зміни в сім'яниках ставали більш дифузними і охоплювали все більшу кількість каналців. І до 21-го дня експерименту, коли сперматогенний епітелій в нормі повинний був пройти більше двох циклів [197], виявлялися каналці, весь клітинний склад яких був представлений тільки сперматозоїдами і поодинокими сперматидами, розташованими біля базальної мембрани, або сперматогенний епітелій не виявлявся взагалі. Проте, у порівнянні з результатами, що ми їх отримали в іншому дослідженні [348], коли самці мишей отримували в 5 разів вищу дозу доксорубоміцину гідрохлорида, основну масу тканини яєчка все ж таки складали каналці з повною відсутністю сперматогоній, окрім стовбурових, але з повноцінним клітинним складом шарів, що знаходилися вище. Звідси витікає, що ступінь ураження сім'яних каналців залежить від стадії сперматогенезу, в якій вони знаходилися під час ураження доксорубоміцину гідрохлоридом, у той час як клітини, що знаходяться за гематотестикулярним бар'єром,

здатні продовжувати поділ і диференціювання, але, протягом циклу сперматогенного епітелія популяція їх вичерпується, оскільки з сперматогоній не утворюються нові клітини. Кількість сперматогоній типу А – стовбурових (довгоіснуючих) в каналцях мишей IV групи залишається незмінною. Морфологічні особливості цих клітин дозволяють зробити висновок про те, що токсичний агент не пройшов в клітини, які знаходяться у стадії спокою, із уповільненими обмінними процесами. Це узгоджується з відомими даними про вплив доксорубоміцину гідрохлориду на клітини, в яких відбувається активний процес синтезу РНК [312]. За звичайних умов стовбурові сперматогонії рідко діляться для того, щоб підтримувати їх кількість на незмінному рівні [292]. За умов дії доксорубоміцину гідрохлориду стовбурові сперматогонії при загрозі повного зникнення сперматогенного епітелія, починають активно ділитися і, таким чином, надалі відбувається регенерація сперматогенного епітелія. Тому на 30-ий день експерименту морфофункціональний стан сім'яних каналців самців, яким не проводили корекцію токсичного ураження, значно покращується.

Провідним механізмом хімічного ураження чоловічої статеві функції потрібно вважати безпосередній вплив на гонади, який проявляється прямим токсичним впливом, що призводить до загибелі сперматогенних клітин у стадії поділу, наступним розладом диференціації сперматогенного епітелія, пригніченням рухливості зрілих сперматозоїдів внаслідок дисфункції додаткових статевих залоз, порушенням функцій гематотестикулярного бар'єру, клітин Сертолі та Лейдига.

Порушення репродуктивної функції за умов токсичного впливу може бути наслідком змін процесу сперматогенезу (при цьому знижується кількість та якість еякуляту і розвивається неплідність), а також впливу на зрілі сперматозоїди (шляхом зміни процесу нормального запліднення). Зниження об'єму та якості еякуляту обумовлено відсутністю чи недостатньою кількістю життєздатних сперматозоїдів, виникненням

незрілих, аномальних сперматозоїдів з порушеною рухливістю. Виключення таких сперматозоїдів з функції репродукції здійснюється під час запліднення яйцеклітини: порушуються процеси проникнення сперматозоїду, імплантації, нормального перебігу ембріогенезу. Накопичення хімічних речовин в над'яечку, сім'яних пухирцях, передміхуровій залозі призводить до загибелі зрілих сперматозоїдів.

Клінічними проявами уражень репродуктивної функції у чоловіків можуть бути різні типи порушень спермоутворення, неплідність, розлади сексуальної поведінки [199, 203].

Інший механізм порушень характерний, насамперед, для самок експериментальних тварин – розлади нейроендокринної регуляції як однієї з найбільш чутливих функціональних систем організму. Найімовірнішим механізмом токсичного впливу хімічної речовини на неї необхідно вважати, скоріш за все, порушення синтезу, надходження в кров, транспорту гіпофізарних гонадотропінів та (чи) статевих гормонів. Можлива й безпосередня дія на ЦНС.

На підставі наших експериментальних даних і даних літератури можна уявити механізм розвитку нейроендокринних змін в репродуктивній системі самок експериментальних тварин при впливові хімічних речовин наступним чином.

Для дії хімічного чинника специфічним є розвиток деструктивних змін як в центральних, так і в периферичних відділах репродуктивної системи на тлі загальнотоксичних переутворень [193]. На відміну від фізичних чинників хімічний вплив супроводжується менш чіткою фазною реакцією, виразність якої дуже залежить від концентрації сполуки, що застосовується. Вплив хімічних речовин, стресове навантаження та ін. викликає зміни функціонального стану кіркової речовини головного мозку, специфічних клітин гіпоталамуса, які координують ендокринні функції. Ядра гіпоталамуса, що є особливо чутливими до будь-яких змін гомеостазу, реагують підвищеною секреторною активністю, внаслідок

чого в крові зростає вміст гонадотропних та інших гормонів, це, в свою чергу, викликає дискоординацію роботи гіпоталамо-гіпофізарної системи. Через деякий термін в органах-мішенях (матка, яєчники) розвиваються морфологічні зміни [349]. Чим вище інтенсивність впливу, тим швидше фаза збудження переходить у фазу дистрофічних змін.

Тривале збудження гіпоталамо-гіпофізарної системи сприяє підсиленню функції яєчників, при чому функціональне напруження закономірно змінюється проліферацією ендокринної тканини органу із залученням не тільки фолікулів на різних стадіях розвитку, але й всієї тканини яєчників. Підвищена гормональна активність викликає сталу проліферацію ендометрія і патологічні зміни в яєчниках, які реалізуються у вигляді зростання загальної маси матки та яєчників, розладів естрального циклу та різкого пригнічення активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса, що ми й спостерігали у самок після введення доксорубоміцину гідрохлорида.

Розглядаючи результати дослідження самців та самок мишей, що вживали розчин нітриту натрія різної концентрації, необхідно ще раз наголосити на унікальній позиції оксиду азоту серед хімічних речовин. Перш за все він є цілком фізіологічною сполукою, яка бере участь у численних метаболічних процесах, але в цей самий час може й виступати у якості токсиканта [350]. Така пластичність оксиду азоту залежить від концентрації його у певній тканині організму або від фізіологічного (чи патологічного) стану цієї тканини.

У наших дослідженнях нітрит натрія, що виступає у якості екзогенного донатору NO, показав можливість своєї двобічної дії, коли, надходячи у помірно високих дозах до організму самок та самців мишей, він оказував регулюючий вплив на взаємовідносини гіпоталамус-гіпофіз-гонади, або, при його надходженні у надвисоких дозах – викликає дисрегуляторні зміни у цих взаємовідносинах.

Оксид азоту – по-перше, впливає на центральні ланки регуляції репродуктивної системи, втручаючись в протікання циклічних процесів фолікулогенеза. Це, в свою чергу, порушує фазність надсилання сигналів у замкненому ланцюзі яєчник-гіпоталамус-яєчник. Утворюється, так зване, «порочне коло», коли незбалансовані імпульси з центральної нервової системи дискоординують взаємодію гіпофізу з периферичними ендокринними залозами (щитоподібна залоза, надниркові залози), що залучені у складний процес регуляції репродуктивної функції, та яєчників.

Надходження розчину нітриту натрію активує оксидредуктазну реакцію, через що нітрит перетворюється на оксид азоту. Оксид азоту шляхом активації гуанілатциклази стимулює утворення цГМФ, який є вторинним посередником нейромедіаторів і гормонів [100].

Морфологічна основа NO-залежної регуляції центральних ланок реакцій відповіді на зовнішні подразники забезпечується тим, що гіпофіз отримує від гіпоталамуса широко розгалужену NO-ергічну іннервацію [98, 100, 351, 352]. Оксид азоту модулює секрецію гіпофізарних гормонів, що залучені до відповіді на стрес – пролактину, лютеїнізуючого гормону, вазопресину та гормону росту [102, 353, 354]. Це дозволяє припустити важливу роль NO в регуляції функції гіпофізу і відповідно в попередженні надмірної активації центральної ланки стрес-системи. Показано, що донатор оксиду азоту значно знижує стресорні поведінкові реакції у тварин у відкритому полі [353]. У нашому дослідженні було показано, що в репродуктивній системі самців мишей, що вживали розчин нітриту натрія в концентрації 0,3 %, на 10-ий день експерименту спостерігалися морфофункціональні зміни у вигляді дистрофії сперматогенного епітелія, зниження індексу сперматогенеза. Виявлена реакція має спільні ознаки з таким типовим патофізіологічним процесом, як стрес. До 20-го дня простежується певне зростання активності патологічного процесу, але на 30-ту добу деякі показники сперматогенного епітелія починають проявляти тенденцію до нормалізації, що відображує початок розвитку

регенераторного процесу. На жаль, скоріше за всі тканини організму відновлюється сполучна тканина, тому на тлі зниження простору між клітинами СЕ спостерігається зростання товщини базальної мембрани та площі інтерстиція. Певним чином обмежуючи викид гіпофізарних стрес-гормонів, NO призводить до зниження активності периферичної ланки стрес-системи.

У самок так само, як і у самців після вживання розчину нітриту натрія в концентрації 0,3 % спочатку відбувається розвиток дистрофічних змін в органах репродуктивної системи (пригнічення мітотичної активності ендометрія, зниження відносної маси матки та яєчників, та вже на 20-ий день можна побачити високу активність регенераторного процесу, який продовжував підсилюватись до 30-го дня. Відомо, що один з захисних ефектів оксиду азоту пов'язаний з його здібністю збільшувати активність антиоксидантних ферментів [355] та експресію генів, що їх кодують [356]. Крім того, власне молекула NO має антиоксидантні властивості [353, 355]. Ці механізми можуть лежати в основі ефективного обмеження розвитку патологічних змін в репродуктивній системі самок, чий організм генетично більше пристосований до протистояннi будь-якому стрес-агенту.

Для висновку щодо впливу оксиду азоту на репродуктивну систему експериментальних тварин необхідно також розглянути його нейротропний ефект. Не викликає жодних сумнівів той факт, що монооксид азоту є нейромедіатором та (або) нейромодулятором в нервовій системі [357 – 360]. Доведено, що NO-синтезуючі нейрони широко розповсюджені в ЦНС ссавців, більшість таких нервових клітин містить мозочок, гіпоталамус та ін. [351, 352, 361]. В ЦНС NO може оказувати як нейротоксичний, так і нейропротекторний вплив [352, 354]. Дія NO залежить від його концентрації і може проявлятися в різних формах залежно від місця його генерації, реальної ситуації в клітині та

особливостей протікання процесів, що є чутливими до такого виду впливів.

NO опосередковує ефекти збуджуючих амінокислот, бере участь в процесах довготривалої синаптичної депресії та довготривалої синаптичної потенціації [109, 353, 357]. Показано, що (NO) як вільний радикал має властивості нейротоксину [98, 100]. Оскільки імуногістохімічні та гістохімічні дослідження деяких авторів [351, 354] показали, що паравентрикулярне та супраоптичне ядра гіпоталамуса містять велику кількість NO-синтезуючих клітин, то надлишкове надходження екзогенного донатору оксиду азоту, скоріш за все, стимулює його нейротоксичний потенціал, що проявляється загибеллю частини нейронів, що секретують, і зниженням індексу активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса в групах тварин, які отримували розчин нітриту натрія в концентрації 0,3 %. Наслідком такого процесу стає дискоординація дій в гіпоталамо-гіпофізарно-гонадній системі. У цей самий час можна побачити, що у тварин обох статей, які вживали розчин нітриту натрію в 10 разів нижчої концентрації, не тільки не спостерігається ознак нейротоксичних змін, а навіть зростає індекс активності нейронів, встановлюється чітка циклічність процесів фолікуло- та гаметогенезу. Цей факт можна пояснити нейромедіаторним впливом екзогенного оксиду азоту при його надходженні у помірних дозах.

Надлишок NO також може викликати ушкодження за рахунок інгібування окислювального фосфорилування в мітохондріях, розривів ДНК, інгібування ферментів циклу Кребса і утворення надзвичайно токсичних пероксинітритів [353].

Вважають, що роль NO обумовлена співвідношенням стрес-лімітуючої дії оксиду азоту в неспецифічній стрес-реакції та патогенетичній ролі зміни продукції NO в специфічному ураженні за умов дії конкретного чинника довкілля [353, 362].

Оксид азоту викликає розширення судин органів, що відповідають за адаптацію, призводячи до цілеспрямованого перерозподілу кисню та субстратів з неактивних нервових центрів, м'язових груп і внутрішніх органів в функціональну систему, яка виконує адаптаційну реакцію [363, 364].

Методи регенеративної медицини спрямовані на стимуляцію процесів відновлення втраченої функції – через мобілізацію стовбурових ресурсів хворого організму, або шляхом введення аlogenного клітинного матеріалу. Одним із методів регенеративної медицини є клітинна терапія, яку започаткували з метою, перш за все, омолодження [365 – 367].

Хоча у групах мишей, яким вводили клітини фетальної печінки, ми не ставили за мету досягнення ефекту «реювенілізації», а загальні результати, що ми їх отримали у самців, були скоріше, негативними, одним з ефектів було спостереження, коли самці «похилого віку» (старіше за 1,5 роки) почали активно покривати самок. На жаль, не довелося побачити кінцевий результат такої поведінки – настання вагітності та появу нащадків, але навіть такий результат демонструє всі підстави щодо існування омолоджуючого впливу клітинної трансплантації.

Тим не менш, введення клітин фетальної печінки призводило й до виразних патологічних змін організму самців мишей. Цей факт потребує ретельного вивчення та обговорення. Оскільки геном клітин, що вводили, співпадає з геномом реципієнта, то напевне необхідно шукати відмінності у профілі експресії генома в фетальних та дорослих клітинах. Саме ці особливості експресії генома ембріональних клітин являються причиною їх потужного впливу на дорослий організм. Зазначені особливості обумовлюють синтез та секрецію фетальними клітинами біологічно активних сполук, що є нетиповими у якісному або кількісному відношенні для здорових дорослих тварин [368, 369].

Таким чином, можна припустити, що провідну роль у розвитку патологічних змін, що ми їх спостерігаємо у самців після введення клітин

фетальної печінки, відіграє біологічно активна сполука (чи сполуки), яку синтезують фетальні клітини. Серед сигнальних молекул, які виділяють клітини зародку, найбільш дослідженими та задовольняючими всім зазначеним вище критеріям, є цитокіни [370 – 372].

За нормальних фізіологічних умов у більшості тканин продукції цитокінів не спостерігається, однак їх вміст значно зростає при патологічному впливові [279, 373]. Інша справа – зародкові тканини: тут цитокіни активно синтезуються в нормі. Їх роль особлива на ранніх етапах розвитку, коли інші регуляторні системи ще не функціонують або розвинені недостатньо [326]. Цим можна пояснити той факт, що багато ембріональних клітин продукують цитокіни у кількості, що перевищує їх продукцію клітинами дорослого організму [326, 374, 375]. На наш погляд, в цьому й є причина виникнення реакції організму у вигляді шкірних пошкоджень, дистрофічно-проліферативних змін печінки та нирок та ін. у тварин після введення клітин фетальної печінки. До речі, деякі дослідники вважають, що у низці випадків потужний лікувальний ефект при введенні стовбурових клітин обумовлений не замісним ефектом, а саме підвищеною секрецією цитокінів фетальними клітинами [376].

Багато цитокінів можуть впливати на процеси диференціації та проліферації клітин. Слід підкреслити, що існують 2 фактори, здатні викликати підвищення концентрації фактору некрозу пухлин (TNF- α) в організмі мишей-реципієнтів фетальних клітин. По-перше, – це додаткова продукція TNF- α введеними клітинами. Другий фактор пов'язаний зі здатністю гранулоцитарно-моноцитарного колонієстимулювального фактору (GM-CSF), який також продукують клітини зародку, активно стимулювати дендритні клітини організму [377]. Наслідком такої стимуляції являється утворення в організмі великої популяції активованих дендритних клітин, що мають підвищену активність, і активно секретують цитокіни TNF- α та інтерлейкін 6 (IL-6). Крім того, такі дендритні клітини активніше поглинають антигени, викликаючи потужну антиген-

специфічну та алогенну стимуляцію Т-клітин, а також підвищують літичну активність природніх кіллерів [377]. Судячи з всього, вказаний механізм лежить в основі розвитку всіх шкірних проявів реакції на введення фетальних клітин (лейкоцитарно-гістіоцитарної інфільтрації шкіри, появи виразок та інших деструктивних явищ за типом токсико-алергічних реакцій). Відомо, що TNF- α відіграє важливу роль в механізмі розвитку деяких захворювань людини, а саме – вогнищевої алопеції [378], більш того виявлено, що успіх лікування цієї хвороби корелює зі зниженням концентрації в шкірі таких цитокінів як інтерферон α та TNF- α [379, 380].

Той факт, що організм самок не відреагував на введення клітин фетальної печінки подібно до самців, можна розглядати як підтвердження етіологічної ролі TNF- α в цьому процесі: відомо, що в організмі самок за нормальних фізіологічних умов синтез TNF, як і багатьох інших цитокінів, періодично підсилюється, оскільки вони відіграють важливу роль у процесах підготовки ендометрія до імплантації та протягом вагітності [381 – 383]. Таким чином, самки пристосовані до таких зростань рівня цитокінів, наприклад, завдяки більш високій концентрації розчинних рецепторів TNF, що циркулюють в крові, або внаслідок підвищеної активності інгібітору цитокінів у тканинах.

Крім того, можна припустити, що тривала наявність в організмі популяції прогеніторних клітин з аномальним для дорослого організму профілем експресії геному викликає підсилену секрецію цими клітинами цитокінів і, можливо, деяких інших біологічно активних сполук. За даними літератури підвищені концентрації трансформувального фактору росту (TGF- β 1) призводять до розвитку дистрофічних змін епітелія дистальних каналців нирок та появи колагену IV типу [384, 385], що й було винайдено в наших експериментах у мишей після введення фетальних клітин. Було доведено, що TGF- β 1здатний індукувати апоптоз епітеліальних клітин каналців нирків і викликати їх перетворення у

мезенхімальні клітини, що у кінцевому підсумку призводить до атрофії каналців [386, 387].

Ті зміни, що ми їх спостерігали у печінці самців мишей після введення клітин фетальної печінки, скоріш за все, були наслідком підвищення концентрації TNF в тканині печінки, оскільки встановлено, що він викликає апоптоз деяких нетрансформованих клітин, у тому числі – гепатоцитів [388 – 390]. При цьому активуються різні білки, які індукують конденсацію та деградацію хроматину – характерні ознаки апоптозу [391, 392]. Цілком вірогідно, певну роль у розвитку апоптозу в частини гепатоцитів при введенні фетальних клітин відіграє й інший цитокін – TGF- β , здатний викликати припинення клітинного циклу у фазі G1 та апоптоз [393].

Такий характерний для зародкових тканин цитокін, як лейкемія-інгібуючий фактор (LIF), він же – гепатоцит-стимулювальний фактор (HSF), має специфічний стимулювальний вплив на клітини печінки [394]. Навіть TNF, відомий своєю антипухлинною дією, за певних умов здатний підвищувати проліферативну активність клітин печінки та інших органів [395, 396]. Суттєві відмінності в ефекті впливу TNF на різні клітини (наприклад, стимуляція або гальмування росту) пояснюються, очевидно, різницею в експресії/регуляції специфічних рецепторів TNF та рецептор-асоційованих білків у різних тканинах та на різних клітинах.

Таким чином, цитокіни, що їх продукують введені клітини фетальної печінки, оказуючи потужний та тривалий мітогенний вплив на клітини печінки тварин-реципієнтів, здатні викликати ознаки пухлинної трансформації у самців експериментальних тварин. Не виключено також, що скупчення поліморфних клітин в перипортальній зоні печінки, являли собою овальні клітини, які при активації активно проліферують та розповсюджуються з перипортальних регіонів вглиб печінкових часточок під впливом певних стимулювальних сигналів за умов пошкодження печінкової тканини.

Можна стверджувати, що донорські стовбурові клітини виділяють цілий коктейль з різних факторів, здатних ремоделювати «внутрішнє середовище» реципієнта й активувати власні стовбурові клітини. Крім того, слід зазначити, що така суміш біологічно активно речовин призводить до так званої «цитокінової інтоксикації» [373, 397, 398]. Розвиток такої бурхливої відповіді на ведення «цитокінового коктейлю» дає підставу вважати, що слід бути обережним при використанні біологічно активних сполук у комбінаціях, які ще не досліджені. Застосування певних цитокінів з відомим властивостями може бути одним з перспективних напрямків подальшого розвитку регенеративної медицини.

Застосування гранулоцитарного колонієстимулювального фактору у самок мишей на тлі впливу доксорубоміцину гідрохлорида показало, що відбувається підсилення регенеративного процесу в ендометрії з відповідним зростанням маси матки та яєчників, нормалізація естрального циклу та, умовно кажучи, «переорієнтація» роботи супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса на уповільнення синтетичної активності нейронів. Такий стан центральної структури регуляції репродуктивної функції, скоріш за все, відображує адаптивну відповідь, що її стимулює цитокін, на токсичне ураження.

Набагато виразнішим виявився вплив Гр-КСФ на репродуктивну систему самців мишей за умов дії доксорубоміцину гідрохлорида. Відбувалася майже повна регенерація тканини яєчка з відновленням всіх клітинних елементів, притаманних цьому органу; значне підвищення індексу плодючості; суттєве зростання активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса та виразна тенденція до нормалізації інтегрального показника морфофункціонального стану репродуктивної системи .

Механізм позитивного впливу гранулоцитарного колонієстимулювального фактору можна пояснити його фізіологічними

властивостями – здатністю стимулювати проліферацію, дозрівання та диференціацію лейкоцитів нейтрофільного ряду кровотворення та викид стовбурових кровотворних клітин з кісткового мозку в периферичну кров. Стовбурові та прогеніторні клітини прямують до ураженого органу-мішені, де й реалізують свій регенераторний потенціал.

Даний ефект спостерігається і у самок та самців мишей, яким Гр-КСФ вводили на тлі вживання розчину нітриту натрія концентрацією 0,3 %. При цьому спостерігалися всі ознаки відновлення морфофункціонального стану репродуктивної системи.

Оскільки для хворого організму характерним є уповільнення багатьох метаболічних процесів, логічним буде припущення й про зниження активності синтезу цитокінів. Введення терапевтичної дози гранулоцитарного колонієстимулювального фактору тваринам, виснаженим перебігом токсичного ураження, призводило до стимуляції викиду з депо стовбурових клітин з метою підсилення відновлення пошкоджених структур в тканинах органів. Тому регенерація матки та яєчок, відновлення репродуктивної функції, що ми спостерігали у тварин відповідних експериментальних груп, цілком пояснюються тими самими механізмами, за якими діють стовбурові та прогеніторні клітини.

У цей самий час застосування Гр-КСФ у самок щурів після оваріоектомії не оказував суттєвого позитивного впливу на стан ендометрію та досліджуваних ядер гіпоталамуса. Цей факт можна пояснити особливістю функціонування репродуктивної системи, коли утворюється багатоскладове коло з прямими та зворотними зв'язками, і за відсутність одного компонента відбувається формування нових взаємних зв'язків та впливів.

Патологічний стан органів репродуктивної системи, що його обумовлює оваріоектомія у самок щурів, проявляється такими зрушеннями, як розвиток атрофічних процесів у тканинах ендометрія та міометрія, внаслідок чого відбувається стоншення стінки матки. Атрофія

тканин ендометрія супроводжувалася компактизацією строми, сплюсненням покривного епітелія, зміною рівня диференціювання і вмісту нуклеїнових кислот у цитоплазмі клітин. Близькими до описаних були і зміни в клітинах залоз. Перераховані ознаки в поєднанні з істотним зменшенням клітин, що діляться мітозом, і атрофічними змінами міоцитів міометрія є частиною комплексу морфофункціональних порушень органів репродуктивної системи, що виникають у клініці за умов гіпоестрогенних станів будь-якої етіології [338, 339].

У щурів після оваріоектомії була також відпрацьована схема корекції виявлених змін за допомогою введення мезенхімальних прогеніторних клітин, оскільки біологічний феномен регенерації органів та тканин при застосуванні клітинної терапії добре відомий [252, 258-260, 399, 400]. Відомо також, що різні тканини мають різну здатність до регенерації. Безперечно, найбільшу здатність до регенерації демонструє кров. Ця її властивість здавна ефективно використовується у практичній гематології. Також можуть регенерувати мезенхімальні органи, хоча й не так активно, як кров, при чому з віком ця здатність суттєво знижується, а серцевий м'яз та гладенька мускулатура відновлюється вкрай погано.

Не потребує доказів факт, що основним місцем знаходження стовбурових клітин є кістковий мозок, де відбувається їх трансформація в клітинні елементи крові. Однак, дослідження останнього десятиріччя показали, що стовбурові клітини являються пластичними і поліпотентними, тобто при попаданні у відповідний орган здатні трансформуватися у високо диференційовані органоспецифічні клітини – ендотелія судин, ЦНС, міоцити [401 – 403].

Протягом кількох років проводили експериментальні дослідження з виявлення механізму регенераторної дії стовбурових клітин. Однією з перших розглядалась можливість замісної дії введених СК – за рахунок їх «вбудовування» у дефекти тканин та органів за умов пошкодження [404, 405]. В результаті остаточного висновку дійти не змогли, оскільки в

органах, звісно, знаходили «мічені» СК, але у такій незначній кількості, що пояснити досягнутий терапевтичний ефект тільки заміщенням патологічно змінених клітин на «здорові» донорські було неможливо.

У якості альтернативної гіпотези висунули припущення про те, що стовбурові клітини, які потрапили в організм реципієнту ззовні, стимулюють викид з депо власних стовбурових та прогеніторних клітин, які прямують до ураженого органу, виконуючи там роль «цеглин», що діляться, таким чином сприяючи регенерації [406, 407]. Відомо, що при загибелі та руйнуванні клітини виділяють велику кількість біологічно активних речовин, до яких, у першу чергу, відносять цитокіни. Таким шляхом на хемотаксис власні стовбурові клітини потрапляють до «місця події».

Цей механізм цілком задовольняє вимозі щодо пояснення механізму регенераторної дії стовбурових клітин. Але, у разі виникнення ситуації, коли організм виснажений, і резерву власних стовбурових клітин не вистачає для потреб відновлення морфологічного та/або функціонального стану органу чи організму, донорські клітини, дійсно, можуть розпочати поділ з подальшим диференціюванням у відповідному мікрооточенні.

Тобто, результати, що ми їх отримали у групах мишей із модульованою патологією, шляхом коригування порушення репродуктивної функції введенням мезенхімальних прогеніторних клітин цілком можна пояснити координованим впливом всіх досліджуваних механізмів регенераторної дії стовбурових клітин як замісним, так і стимулюючим власний «стовбуровий резерв» [408] організму.

Вважають, що індуктори диференціювання, поряд з мезенхімальними та немезенхімальними клітинами та їх продуктами (факторами росту і молекулами позаклітинного матриксу) беруть участь у формуванні просторових та часових зв'язків у мікрооточенні стовбурових та прогеніторних клітин [409]. Локальні пошкодження тканини призводять до утворення нових ємкостей для стовбурових та прогеніторних клітин, які

якісно відрізняються від таких у контрольних тканин, де відбувається природне фізіологічне відновлення пулу цих клітин. Така різниця вкрай важлива у плані спеціалізації клітинного фенотипу в нормальному та індукваному пошкодженні мікрооточенні. Була винайдена і загальна для всіх типів стовбурових клітин дорослого організму ліганд-рецепторна система (SCF/c-kit), яка опосередковує процес ранніх стадій реактивації клітин «стовбурових просторів».

Не обов'язково, що «стовбурові простори» локалізовані в органі, якому вони відновлюють втрату клітинної маси. Для печінки, наприклад, встановлені і позапечінкові джерела стовбурових клітин, здатних трансформуватися в овальні клітини та диференційовану лінію гепатоцитів. Після летального опромінення тварин пересадження кісткового мозку самців щурів самкам призводило до хімерізації печінки з утворенням гепатоцитів, овальних клітин та епітелія жовчних проток, які містили Y-хромосому [410].

Тому не дивно, що навіть системне введення мезенхімальних прогеніторних клітин призводить до виразного позитивного ефекту у тварин на тлі індукованої патології. Цілком можливо, що при адресному доставлянні прогеніторних клітин, результат був би ще кращий, і це є перспективним напрямком регенеративної медицини.

В експериментальних дослідженнях при вивченні впливу хімічних речовин на функцію яєчників був виявлений характерний розвиток загальнотоксичних перетворень в організмі, які призводять до змін нейроендокринної регуляції статевого циклу [193]. При цьому спостерігалось два типи реакцій порушення естрального циклу: еструсовий та діеструсовий. Для еструсового типу природним є підвищення рівня естрогенів та подовження фази еструсу в циклі. За умов діеструсового типу знижується рівень естрогенів в організмі, подовжується фаза спокою – діеструсу, зберігається ритмічність чередування окремих фаз циклів.

Відомо, що функціонування гонад за типом подовження дієструсу найбільш поширена при впливові хімічних чинників [411]. Активно переходячи в стадію спокою, організм виходить на більш резистентний рівень життєдіяльності, що дозволяє йому в певних межах переносити без шкоди несприятливий вплив. При дії хімічних сполук поряд з порушенням нейроендокринного механізму регуляції процесу репродукції можливий і прямий токсичний вплив.

Безпосередня дія хімічних речовин може бути пов'язана з їх структурною подібністю з ендокринними гормонами (естрогенами) [316]. Ці речовини зв'язують естрогенні рецептори, і можуть діяти як агоністи чи антагоністи естрогенів, впливаючи на гонадотропін-регулюючий оваріальний стероїдогенез чи фолікулярне дозрівання, можуть пролонгувати фолікулярну фазу естрального (менструального) циклу і викликати атрезію тих фолікулів, що мали б овулювати.

Підсилення ступеня естрогенної активності, що призводить до зростання маси матки, спостерігають за умов дії пестицидів, фітоестрогенів та ін.

Структурна подібність ізофлавонів з естрогенами тварин та людини дозволяє їм зв'язуватись з рецепторами естрогенів [412]. Однак цей зв'язок набагато слабкіший, ніж у справжніх естрогенів. Так, наприклад, куместрол дайдзеїн та еквол в цитозольному препараті матки вівці зв'язуються з естрогеновими рецепторами з відносною афінністю 5,0:0,1:0,9 % по відношенню до естрадіолу відповідно [413]. Гінестеїн здатний також зв'язуватися з цитоплазматичними естрогеновими рецепторами гіпофіза та гіпоталамуса вівці [414]. Ці дані дають підставу вважати, що за відсутність ендогенних естрогенів ізофлавони, оказуючи повільний естрогенний ефект, можуть використовуватися з метою компенсації недостатності естрогенів у організмі. Той факт, що ми спостерігаємо у самок щурів після оваріоектомії потовщення стінки матки майже до рівня контрольних тварин, нормалізацію цитологічних показників залоз та строми ендометрія,

зростання площі поперечного перетину міометрія, демонструє можливість застосування ЕКСО у якості коректора атрофічних та дистрофічних змін в органах репродуктивної системи експериментальних тварин за умов оваріоектомії.

Щодо механізму дії ізофлавонів на репродуктивну систему слід підкреслити, що він не обмежується впливом тільки на рецепторний апарат у різних естрогенчутливих клітинах та органах. Суттєву роль у реалізації цих ефектів також приділяють білкам-транспортерам (глобулінам), які зв'язують статеві стероїди і можуть модулювати передавання гормонального сигналу всім стероїдозалежним клітинам [415].

У групі щурів, що одержували ЕКСО, товщина стінки матки достовірно не відрізнялася від контрольної величини. Мікроскопічна будова і досліджені морфометричні показники структур ендометрія і міометрія відповідали таким контрольної групи щурів. Покривні епітеліюцити і клітини залоз ендометрію характеризувалися нормальними розмірами, показником диференціювання і вмістом в них нуклеїнових кислот. Препарат не надавав значущого впливу на мітотичний поділ клітин ендометрію. Розміри міоцитів відповідали рівню таких контрольної групи і, як наслідок, кореляційний зв'язок між розмірами останніх і товщиною стінки матки у цій групі щурів залишався значущим.

Отже, в наших дослідженнях встановлено, що ЕКСО має виразну протекторну дію на тканини ендометрія та міометрія щурів, запобігаючи атрофічним змінам клітин. Разом з тим, ґрунтуючись на результатах морфометрії, вважаємо за необхідне підкреслити, що ознак гіпертрофії і гіперплазії клітин ендометрія – ускладнень, супутніх замісній терапії естрогенами [416] не спостерігалось, що говорить про м'яку естрогеноподібну дію ЕКСО.

Таким чином, фітоестрогени ЕКСО не викликають в тканинах матки щурів, підданих оваріоектомії, гіпертрофічних і гіперпластичних змін і

можуть розглядатися як ефективний засіб замісної гормонотерапії при видаленні яєчників.

Проведені дослідження показали можливість моделювання порушення репродуктивної системи застосуванням доксорубоміцину гідрохлориду та розчином нітриту натрія, а також високу ефективність нових методів корекції за допомогою гранулоцитарного колонієстимулювального фактору росту, мезенхімальних прогеніторних клітин та ЕКСО на моделях ураження органів репродуктивної системи експериментальних тварин.

Результати проведених досліджень демонструють, що, незалежно від походження патогенного чинника (антибіотик доксорубоміцину гідрохлорид та нітрит натрія), перетворення, які відбуваються у репродуктивній системі експериментальних тварин, подібні. У цей самий час, з'ясовані певні статеві відмінності у реагуванні на негативний вплив: у самок найбільш виразні зміни виявлялися в структурах центральної регуляції репродукції, а у самців – в гонадах. У самок дія хімічних чинників викликала зміни функціонального стану специфічних клітин гіпоталамуса головного мозку, які координують ендокринні функції. Зазвичай, ядра гіпоталамуса, що є особливо чутливими до будь-яких змін гомеостазу, реагують підвищеною секреторною активністю, внаслідок чого у крові зростає вміст гонадотропних та інших гормонів, це, у свою чергу, викликає дискоординацію роботи гіпоталамо-гіпофізарної системи. Через деякий термін в органах-мішенях (матка, яєчники) розвиваються морфологічні зміни, які ми й спостерігали у самок після введення доксорубоміцину гідрохлориду та спаювання розчину нітриту натрія у концентрації 0,3 %.

Тривале збудження гіпоталамо-гіпофізарної системи сприяло підсиленню функції яєчників, при чому функціональне напруження закономірно змінювалося проліферацією ендокринної тканини органу із залученням всієї тканини яєчників. Підвищена гормональна активність

викликала патологічні зміни в яєчниках, які реалізувалися у вигляді зростання загальної маси матки та яєчників, розладів естрального циклу та різкого пригнічення активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса.

Слід також зазначити універсальність ефектів при застосуванні мезенхімальних прогеніторних клітин та гранулоцитарного колонієстимулювального фактору за умов впливу різних пошкоджуючих чинників – спостерігалися виразні позитивні зміни як у самок, так і у самців, що свідчить про великий регенеративний потенціал клітинної та цитокінової корекції.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної наукової проблеми, яка полягає у розкритті особливостей патогенезу порушень репродуктивної системи самців та самок експериментальних тварин за умов впливу зовнішніх факторів різного походження, експериментальному обґрунтуванні ефективності нових методів корекції морфофункціонального стану репродуктивної системи за допомогою клітинної та цитокінової терапії.

1. У дослідах на самцях мишей з'ясовано характер гонадотоксичних ефектів та пошкоджуючого впливу на нейросекреторні ядра гіпоталамуса дворазового введення антибіотика доксорубоміцину гідрохлорида. Отримані дані стали підґрунтям для розробки нової експериментальної моделі ураження гонад у самців мишей, що дозволяє використовувати її як прототип токсичного ураження яєчок у чоловіків для дослідження патогенезу розладів репродукції та розробки нових методів терапії. У результаті дослідження впливу доксорубоміцину гідрохлорида на морфофункціональний стан репродуктивної системи самок мишей охарактеризовано розлади, що відбуваються на рівні її нейроендокринної регуляції та у периферичних органах-мишенях у різні терміни після ураження.

2. Доведено, що вживання розчину нітриту натрія в концентрації 0, 3 %, як екзогенного донатора оксиду азоту, викликає морфофункціональні зміни репродуктивної системи у самок експериментальних тварин, які проявляються виразним порушенням протіканням естрального циклу; різким зниженням індексу плодючості та кількості плодів у породіллі порівняно з інтактним контролем. У супраоптичному та аркуатному ядрах гіпоталамуса самок за даними гістологічних та морфометричних досліджень нейросекреторна активність знижується на 62,4 % та 65,4 % відповідно порівняно з контролем, що

свідчить про залучення нейросекреторних утворень головного мозку до патогенезу зазначених порушень репродуктивної системи. Одночасно, отримання розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % протягом 15 днів призводить до нормалізації протікання естрального циклу, підвищення індексу плодючості та підсилення нейросекреторної активності супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса.

3. З'ясовано, що у самців, які отримували розчин нітриту натрія в концентрації 0,3 %, спостерігається зменшення відносної маси яєчок з наступним повільним зростанням цього показника, хоча й не до рівня контрольних значень. Подібна динаміка змін обумовлена суттєвим пошкодженням сперматогенного епітелію, різким зростанням кількості каналців зі злущеним епітелієм та майже повним зникненням сперматогоній. На 30-ту добу від початку експерименту з'являються ознаки компенсаторного підсилення сперматогенезу, про що свідчить зростання індексу сперматогенезу на 30 % порівняно з контролем, однак, кількість плодів у контрольних самок, яких парували з самцями цієї групи, суттєво зменшується. Індекс активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса знижується на 35,4 % та 79,1 % відповідно порівняно з контролем. За умов отримання тваринами розчину нітриту натрія в концентрації 0,03 % відбувається підсилення сперматогенезу та зростання активності нейронів аркуатного ядра гіпоталамуса майже на 48 % порівняно з контролем.

4. Найбільш уразливими ланками в патогенезі токсичного пошкодження репродуктивної системи для самців експериментальних тварин слід вважати гонади, а для самок – центральну регуляторну ланку – гіпоталамус. Залежно від патологічного чинника порушення в сім'яниках самців можуть бути зворотними, а в яєчниках функціональні розлади не обов'язково супроводжуються суттєвими морфологічними змінами, тобто ступінь порушення репродуктивної функції не залежить повністю від ступеня ураження статевих органів.

5. При внутрішньовенному застосуванні суміші клітин фетальної печінки в організмі самців мишей відбуваються зміни, які можна охарактеризувати як «цитокінову інтоксикацію». Вона проявляється у вигляді вогнищевої алопеції на шкірі, виразного поліморфізму гепатоцитів у печінці з виникненням ділянок апоптозу, у нирках – гіперплазії парієтальних епітеліоцитів капсули клубочків, появи преципітатів у просвіті каналців та колагену IV типу в базальних мембранах. Таким чином, даний препарат слід вважати непридатним для використання у терапевтичних цілях через його небезпечність.

6. Введення здоровим мишам аутологічних мезенхімальних прогеніторних клітин, виділених з кісткового мозку, не викликає негативних змін у стані внутрішніх органів експериментальних тварин. Застосування МПК на тлі ураження репродуктивної системи доксорубоміцину гідрохлоридом сприяє нормалізації морфофункціонального стану репродуктивної системи самців. У самок на тлі введення доксорубоміцину гідрохлорида також спостерігається позитивний ефект після застосування мезенхімальних прогеніторних клітин, але виражений меншою мірою.

7. Застосування гранулоцитарного колонієстимулювального фактору з метою корекції ураження репродуктивної системи доксорубоміцину гідрохлоридом призводить до стимуляції регенераторного процесу в статевих органах тварин обох статей. У самок це проявляється підсиленням мітотичної активності у залозах ендометрія, зростанням маси репродуктивних органів, а у самців – частковою нормалізацією генеративного потенціалу яєчок та фертильності. Спостерігається активізація функціонального стану нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса. У самок під впливом гранулоцитарного колонієстимулювального фактора, навпаки, відбувається суттєве пригнічення функціональної активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса.

8. На експериментальній моделі ураження репродуктивної системи самок нітритом натрія виявлено відновлення її морфофункціонального стану під впливом мезенхімальних прогеніторних клітин. Це проявляється помітним відновленням відносної маси репродуктивних органів, індексу плодючості, зростанням функціональної активності нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса порівняно з показниками тварин без корекції. У самців за тих самих умов також відбувається суттєве підсилення регенераторного процесу в репродуктивній системі, яке супроводжується зростанням відносної маси яєчок, нормалізацією морфометричних показників сперматогенного епітелія, підсиленням сперматогенної активності, зростанням кількості плодів після спарювання з інтактними самками на 52 % порівняно з групою без корекції. При цьому індекс активності нейронів супраоптичного ядра гіпоталамуса майже не змінюється, а аркуатного ядра – на 21,4 % перевищує цей показник у самців без корекції.

9. Застосування Гр-КСФ для корекції впливу нітриту натрія у токсичній концентрації позитивно впливало на всі досліджувані показники морфофункціонального стану репродуктивної системи у самок та нейросекреторну активність супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса. У самців також відбувалися виразні позитивні зміни у вигляді зростання відносної маси яєчок на 25 %, відновлення морфометричних показників сперматогенного епітелію, зростанням кількості плодів, отриманих після спарювання з інтактними самками на 65,7 % порівняно з тваринами без корекції. Спостерігається виразна тенденція до активізації нейронів супраоптичного та аркуатного ядер гіпоталамуса.

10. Використання екстракту сої ЕКСО, збагаченого ізофлавонами, у оваріоектомованих щурів значною мірою нівелює атрофічні зміни в ендометрії, що розвиваються внаслідок гіпоестрогенного стану. Це забезпечується зв'язуванням ізофлавонів з естрогеновими рецепторами та

впливом на глобулін, який зв'язує статеві стероїди, що може модулювати передачу гормональної інформації у всіх стероїд-залежних клітинах. Позитивний ефект, що спостерігається за даних умов при використанні мезенхімальних прогеніторних клітин або гранулоцитарного колонієстимулювального фактору, виражений у значно меншому ступені, ніж при застосуванні ЕКСО.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Іванюта Л. І. Функціональний стан гіпофізарно-гонадної системи у жінок з неплідністю після аварії на ЧАЕС / Л. І. Іванюта, А. Є. Дубчак, О. О. Яковлев // *Ендокринологія*. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 4 – 9.
2. Hormonal regulation of testicular steroid and cholesterol homeostasis / S. M. Eacker, N. Agrawal, K. Qian [et al.] // *Molecular endocrinology*. – 2008. – Vol. 22 (3). – P. 623 – 635.
3. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология / А. Г. Резников, В. П. Пишак, Н. Д. Носенко [и др.] – Черновцы: Медакадемия, 2004. – 351 с.
4. Role of leptin in hypothalamic – pituitary function / W. H. Yu, M. Kimura, A. Wlczewska [et al.] // *Proceedings of the National Academy of sciences of the USA*. – 1997. – Vol. 94 (3). – P. 1023 – 1028.
5. Orexins in the regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / R. Spinazzi, P. G. Andreis, G. P. Rossi, G. G. Nussdorfer // *Pharmacological Reviews*. – 2006. – Vol. 58 (1). – P. 46 – 57.
6. Interactions of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) in birds and mammals / G. E. Bentley, L. J. Kriegsfeld, T. Osugi [et al.] // *Journal of experimental zoology. Part A. Comparative experimental biology*. – 2006. – Vol. 305 (9). – P. 807 – 814.
7. Maccarrone M. Endocannabinoids: friends and foes of reproduction // *Progress in lipid research*. – 2009. – Vol. 48 (6). – P. 344 – 354.
8. Blumenfeld Z. Gynaecologic concerns for young women exposed to gonadotoxic chemotherapy / Z. Blumenfeld // *Current Opinions in Obstetrics and Gynaecology*. – 2003. – Vol. 15 (5). – P. 359 – 370.
9. Fisher J. S. Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome // *Reproduction*. – 2004. – Vol. 127 (3). – P. 305 – 315.

10. Резніков О. Г. Морфологічні та функціональні зміни нейроендокринної системи у пренатально стресованих щурів / О. Г. Резніков, Н. Д. Носенко, Л. В. Тарасенко // Буковинський медичний вісник. – 1998. – Т. 2, № 2. – С. 47 – 51.

11. Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology / D. Caserta, L. Maranghi, A. Mantovani [et al.] // Human Reproduction Update. – 2008. – Vol. 14 (1). – P. 59 – 72.

12. Walker S.K. Long-term effects on offspring of exposure of oocytes and embryos to chemical and physical agents / S. K. Walker, K. M. Hartwich, J. S. Robinson // Human reproduction update. – 2000. – Vol. 6, No.6. – P. 564 – 577.

13. Y-chromosome deletion in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing testicular sperm extraction and ICSI / S. J. Silber, R. Alagappan, L. Brown, D. C. Page // Annual Meeting of ESHRE, 1997, Edinburgh : abstract book. – Edinburgh, 1997. – P.6 – 7.

14. Іванюта Л.І. Проблема безплідності в Україні та напрями її вирішення. // Журн. АМН України. – 1996. – Т.2, № 3. – с.436-444.

15. Araoye M. O. Epidemiology of infertility: social problems of the infertile couples // West African Journal of Medicine. – 2003. – Vol. 22. – P. 190 – 196.

16. Schmidt L. Infertility and assisted reproduction in Denmark. Epidemiology and psychosocial consequences // Danish Medical Bulletin. – 2006. – Vol. 53 (4). – P. 390 – 417.

17. Clomiphene citrate, metformin or both as first-step approach in treating anovulatory infertility in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review of head-to-head randomized controlled studies and meta-analysis / S. Palomba, R. Pasquali, F. Jr. Orio, J. E. Nestler // Clinical Endocrinology (Oxford). – 2009. – Vol. 70 (2). – P. 311 – 321.

18. Beck J. I. Oral anti-oestrogens and medical adjuncts for subfertility associated with anovulation / J. I. Beck, C. Boothroyd, M. Proctor [et al.] // *Cochrane Database Systematic Reviews*. – 2005. – Vol. 1. – CD002249.

19. Запорожан В. Н. Эмбриология, тератология и основы репродукции человека / В. Н. Запорожан, В. К. Напханюк, Е. Л. Холодкова – Одесса : Изд-во ОДМУ, 2000. – 374 с.

20. Савицкий Г. А. Перитонеальный эндометриоз и бесплодие (клинико-морфологические исследования) / Г. А. Савицкий, С. М. Горбушин. – СПб.: «ЭЛБИ-СПб», 2002. – 170 с.

21. Mechanisms of phthalate esters, individually and in combination, to induce abnormal reproductive development in male laboratory rats / K. L. Howdeshell, C. V. Rider, V. S. Wilson, L. E. Jr. Gray // *Environmental Research*. – 2008. – Vol. 108 (2). – P. 168 – 176.

22. Orlic D. Stem cells for myocardial regeneration / D. Orlic, J. M. Hill, A. E. Arai // *Circulation Research*. – 2002. – Vol. 91. – P. 1092 – 1102.

23. Atala A. Tissue engineering for the replacement of organ function in the genitourinary system / A. Atala // *American Journal for Transplantation*. – 2004. – Vol. 4. – Suppl. 6. – P. 58 – 73.

24. Свадовский А. И. Применение цитокиновой иммунотерапии в комбинированном лечении внутримозговых опухолей головного мозга / А. И. Свадовский // V междунар. симпозиум «Повреждения мозга» – СПб. : ВМА, 1999. – с. 440 – 449.

25. Грищенко В.И. Влияние трансплантации препаратов эмбриональных тканей на прооксидантно-антиоксидантное равновесие в печени и крови крыс после частичной гепатэктомии / В. И. Грищенко, Ю. В. Никитченко, О. В. Оченашко // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2001. – Т. 132. – № 10. – С. 394 – 397.

26. Смолянинов А.Б. Стволовые клетки и стратегия клеточной терапии больных инфарктом миокарда / А. Б. Смолянинов, В. А. Козлов //

Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2003. – Т. 10. – № 2. – С. 127 – 134.

27. Parsa C.J. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart / C. J. Parsa, A. Matsumoto, J. Kim / *Journal of Clinical Investigations*. – 2003. – Vol. 112. – P. 999 – 1007.

28. Медична біологія / В. П. Пішак, Ю. І. Бажора, Ш. Б. Брагін [та ін.] ; за ред. В. П. Пішака, Ю. І. Бажори. Підручник. – Вінниця : НОВА КНИГА, 2004. – 656 с.

29. Федченко С. М. Молекулярно – генетические основы онтогенеза / С. М. Федченко : учебн. пособие. – Луганск, 2003. – 336 с.

30. Філогенез систем органів / В. П. Пішак, Т. Є. Дьякова, Н. В. Черновська [та ін.]. – Чернівці: Вид-во БДМА, 2000. – 153 с.

31. Бочков Н. П. Клиническая генетика / Н. П. Бочков : Учебник. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЕОТАР – МЕД, 2002. – 864 с.

32. Репродуктивная эндокринология. В 2 томах. Том 2: Пер. с англ. / Под ред. С. С. К. Йена, Р. Б. Джаффе. – М.: Медицина. – 1998. – 432 с.

33. Репродуктивная эндокринология. В 2 томах. Том 1: Пер. с англ. / Под ред. С. С. К. Йена, Р. Б. Джаффе. – М.: Медицина. – 1998. – 703 с.

34. An autocrine axis in the testis that coordinates spermiogenesis and blood-testis barrier restructuring during spermatogenesis / H. H. Yan, D. d. Mruk, E. W. Wong [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. – 2008. – Vol. 105 (26). – P. 8950 – 8955.

35. Hormonal regulation of early follicle development in the rat ovary / A. J. Hsue, E. A. McGee, M. Hayashi, S. Y. Hsu // *Molecular Cell Endocrinology*. – 2000. – Vol. 163 (1 – 2). – P. 95 – 100.

36. Swanson H.H. The preoptic area and sexual differentiation / H. H. Swanson, E. J. Houtsmuller, R. Diaz // *Hormones, Brain and Behavior in Vertebrates*. 1. Sexual differentiation, neuroanatomical agents, neurotransmitters and neuropeptides (ed. J. Balthazart). – Vol. 8, Basel : Karger, 1990. – P. 30 – 40.

37. Ferguson A. V. The paraventricular nucleus of the hypothalamus – a potential target for integrative treatment of autonomic dysfunction / A. V. Ferguson, K. J. Latchford, W. K. Samson // *Expert Opinion on Therapeutic targets*. – 2008. – Vol. 12 (6). – P. 717 – 727.

38. Williams G. The hypothalamus and the regulation of energy homeostasis: lifting the lid on a black box / G. Williams, A. J. Harrold, D. J. Cutler // *The Proceedings of the Nutrition Society*. – 2000. – Vol. 59 (3). – P. 385 – 396.

39. Роживанов Р. В. Дегидроэпиандростерон: физиологическая роль и возможности применения в качестве медикаментозного средства / Р. В. Роживанов, В. В. Вакс // *Проблемы эндокринологии*. – 2005. – Т. 51. – № 2. – С. 46 – 51.

40. Colocalization of corticotrophin-releasing hormone and estrogen receptor- α in the paraventricular nucleus of the hypothalamus in mood disorders / A. M. Bao, A. Nestiantoro, E. J. W. Van Someren [et al.] // *Brain*. – 2005. – Vol. 128. – P. 1301 – 1313.

41. Zhang J. Q. Immunolocalization of estrogen receptor beta in the hypothalamic paraventricular nucleus of female mice during pregnancy, lactation and postnatal development / J. Q. Zhang, B. Su, W. Q. Cai // *Brain research*. – 2003. – Vol. 997. – P. 89 – 96.

42. A role for hypocretin (orexin) in male sexual behavior / J. W. Muschamp, J. M. Domoniguez, S. M. Sato [et al.] // *Journal of Neurosciences*. – 2007. – Vol. 27. – P. 2837 – 2845.

43. Анисимов В. Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В. Н. Анисимов // *Успехи физиологических наук*. – 2008. – Т. 39, № 4. – С. 40 – 65.

44. Пішак В. П. Механізми участі шишкоподібної залози в забезпеченні циркадіанної ритмічності фізіологічних функцій / В. П. Пішак, Р. Є. Булик // *Буковинський медичний вісник*. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 5 – 8.

45. Jorgensen H. S. Studies on the neuroendocrine role of serotonin / H. S. Jorgensen // Danish Medical Bulletin. – 2007. – Vol. 54 (4). – P. 266 – 288.

46. Березнев А.П. Окситоцин – стимулятор семявыделения у быков / А. П. Березнев // Вестник с.-х. наук. – 1983. – Т. 68 (4). – С. 91 – 95.

47. Гриневич В. В. Роль окситоцина и вазопрессина в регуляции репродукции млекопитающих / В. В. Гриневич, Т. А. Ишунина, Г. Г. Язева // Морфология. – 1997. – Т. 111 (2). – С. 17 – 27.

48. Oxytocin injected into the ventral tegmental area induces penile erection and increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens and paraventricular nucleus of the hypothalamus of male rats / M. R. Melis, T. Melis, C. Cocco [et al.] // European Journal of Neuroscience. – 2007. – Vol. 26 (4). – P. 1026 – 1035.

49. Oxytocin induces penile erection when injected into the ventral tegmental area of male rats: role of nitric oxide and cyclic GMP / S. Succu, F. Sanna, C. Cocco [et al.] // European Journal on Neuroscience. – 2008. – Vol. 28 (4). – P. 813 – 821.

50. Reznikov A. G. Hormone-Neurotransmitter Imprinting in the Neuroendocrine Control of Reproduction / A. G. Reznikov – Vol.7., Part 4, New York: Harwood Academic Publishers, 1994. – 50 p.

51. Резников А.Г. Половые гормоны и дифференциация мозга / А. Г. Резников. – К. : Наукова думка, 1982. – 252 с.

52. Regulation of cell death and cell survival gene expression during ovarian follicular development and atresia / J. Y. Jiang, C. K. Cheung, Y. Wang, B. K. Tsang // Frontiers in Biosciences. – 2003. – Vol. 8. – P. 222 – 237.

53. Estrogen receptor messenger RNA expression in rat hypothalamus as a function of genetic sex and estrogen dose / A. H. Lauber, C. V. Mobbs, M. Muramatsu, D. W. Pfaff // Endocrinology. – 1991. – Vol. 129. – P. 3180 – 3186.

54. Phogat P. B. Effect of adrenocorticotropic hormone (ACTH) on ovine pituitary gland responsiveness to exogenous pulsatile GnRH and estradiol-

induced LH release in vivo / P. B. Phogat, R. S. Smith, H. Dobson // *Animal reproduction science*. – 1999. – Vol. 55. – P. 193 – 203.

55. A conceptual model of the influence of stress on female reproduction / H. Dobson, S. Ghuman, S. Prabhakar, R. Smith // *Reproduction*. – 2003. – Vol. 125. – P. 151 – 163.

56. Ранние и отдаленные нейроэндокринные эффекты пренатального стресса самцов и самок крыс / А. Г. Резников, Н. Д. Носенко, Л. В. Тарасенко [и др.] // *Проблемы эндокринологии*. – 2000. - № 1. – С. 30 – 34.

57. Запорожан В.М. Акушерство і гінекологія / В. М. Запорожан : Книга 2. Гінекологія: Підручник. – К. : Здоров'я, 2000. – 312 с.

58. Denef C. Paracrinicity: The story of 30 years of cellular pituitary crosstalk / C. Denef // *Journal of Neuroendocrinology*. – 2008. – Vol. 20 (1). – P. 1 – 70.

59. Gametes: the spermatozoon. / Ed. By J.G.Grudzinskas, J.L.Yovich. – Cambridge University Press, 1995. – 316 p.

60. Baker P. J. Role of gonadotropins in regulating numbers of Leydig and Sertoli cells during fetal and postnatal development in mice / P. J. Baker, P. J. O'Shaughnessy // *Reproduction*. – 2001. – Vol. 122. – P. 227 – 234.

61. Effects of pure FSH and LH preparations on the number and function of Leydig cells in immature hypophysectomized rats / K. J. Teerfs, J. Closset, F. F. Rommerts [et al.] // *Journal of Endocrinology*. – 1989. – Vol. 120. – P. 97 – 106.

62. Holdcraft R. W. Androgen receptor function is required in Sertoli cells for the terminal differentiation of haploid spermatids / R. W. Holdcraft, R. E. Braun // *Development*. – 2004. – Vol. 131. – P. 459 – 467.

63. Failure of normal adult Leydig cell development in androgen-receptor-deficient mice / P. J. O'Shaughnessy, U. Johnston, L. Willerton, P. J. Baker // *Journal of Cell Sciences*. – 2002. – Vol. 115. – P. 3491 – 3496.

64. Feedback inhibition of steroidogenic acute regulatory protein expression in vitro and in vivo by androgens / C. P. Houk, E. J. Pearson, N. Martinelle [et al.] // *Endocrinology*. – 2004. – Vol.145. – P. 1269 – 1275.

65. Inaba K. Molecular architecture of the sperm flagella: molecules and signaling / K. Inaba // *Zoological Sciences*. – 2003. – Vol. 20 (9). – P. 1043 – 1056.

66. Lindemann C. B. Structural-functional relationships of the dynein, spokes, and central-pair projections predicted from an analysis of the forces acting within a flagellum / C. B. Lindemann // *Biophysics Journal*. – 2003. – Vol. 84 (6). – P. 4115 – 4126.

67. Central-pair-linked regulation of microtubule sliding by calcium in flagellar axonemes / I. Nakano, T. Kobayashi, M. Yoshimura, C. Shingyoji // *Journal of the Cell Science*. – 2003. – Vol. 116 (Pt 8). – P. 1627 – 1636.

68. Downing K. H. Structural insights into microtubule doublet interactions in axonemes / K. H. Downing, H. Sui // *Current Opinions in Structural Biology*. – 2007. – Vol. 17 (2). – P. 253 – 259.

69. Mechanisms of action of phthalate esters, individually and in combination, to induce abnormal reproductive development in male laboratory rats / K. L. Howdeshell, C. V. Rider, V. S. Wilson, L. E. Gray Jr. // *Environmental Research*. – 2008. – Vol. 108 (2). – P. 168 – 172.

70. Бариляк І. Р. Еколого-генетичні дослідження в Україні / І. Р. Бариляк, О. М. Дуган // *Цитологія і генетика*. – 2002. – № 5. – С. 3 – 10.

71. Здоров'я населення України: вплив генетичних процесів / А. М. Сердюк, О. І. Тимченко, О. В. Лінчак [та ін.] // *Журнал АМН України*. – 2007. – Т. 13. – № 1. – С. 78 – 92.

72. Sevcik M. L. *Comprehensive Toxicology* / M. L. Sevcik, J. F. Jarell. – Oxford: Elsevier Press, 1997. – Vol. 10. – P. 369 – 370.

73. Gore A. C. Environmental toxicant effects on neuroendocrine function / A. C. Gore // *Endocrinology*. – 2001. – Vol. 14 (2). – P. 235 – 246.

74. Guilette L. Endocrine disrupting environmental abnormalities in embryos / L. Guilette // Human Ecological Risk Assess. – 1995. – No. 1. – P. 25 – 29.

75. Brouwer A. Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanism and possible consequences for animal and human health / A. Brouwer // Toxicology and Industrial Health. – 1998. – Vol. 1 – 2. – P. 59 – 84.

76. Foster W. Endocrine disruptors and development of the reproductive system in the fetus and children: is there cause for concern? / W. Foster // Canadian Journal of Public Health. – 1998. – Vol. 89, Suppl. 1. – P. 37 – 46.

77. Левицкий А.П. Фитоэстрогены (биохимия, фармакология, применение в медицине) / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. И. Сукманский; Академия медицинских наук, Институт стоматологии. – Одесса : Моряк, 2002. – 95 с.

78. Сукманський О. І. Вплив біологічно активних добавок (лецитин, віталонг, ЕКСО та СБЖЗ) на рівень здоров'я робітниць швейного підприємства / О. І. Сукманський, А. П. Левицький, Л. І. Гридїна. // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. III, № 2, Ч. 1. – С. 217 – 218.

79. Воскресенская Е. О. Ксеноэстрогены пищи и половое развитие девочек и девушек / Е. О. Воскресенская // Медико-социальные проблемы семьи. – 2000. – Т. 5. – № 2-3. – С. 18 – 22.

80. Toppari J. Male reproductive health and environmental xenoestrogens / J. Toppari, J. Lazer // Environmental Health Perspectives. – 1996. – Vol.104, Suppl. 4. – P. 741 – 776.

81. Зелинский А. А. Экоотоксиканты и нарушение полового созревания девочек / А. А. Зелинский, Е. О. Воскресенская // Актуальные проблемы гинекологии детей и подростков : Науч. Конф., 1999 г., Харьков : тезисы докл. – Харьков, 2008. – С. 53 – 55.

82. Голубчиков М. В. Токсикологическое обоснование безопасности применения ксенобиотиков / М. В. Голубчиков // Гигиена и санитария. – 1991. – № 1. – С. 56 – 58.

83. Вельтищев Ю. Е. Экопатология детского возраста / Ю. Е. Вельтищев // Педиатрия. – 1995. – № 4. – С. 26 – 32.

84. Шепельская Н. Р. Оценка риска репродуктивной токсичности пестицидов / Н. Р. Шепельская // Современные проблемы токсикологии. – 2003. – С. 46 – 51.

85. Winter J. The hormonal response to HCG stimulation in male children and adolescent / J. Winter // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism – 1992. – Vol. 13. – No. 12. – P. 92 – 102.

86. Ankley G. Retrospective analysis of the ecological risk of contaminant mixtures in aquatic sediments / G. Ankley // Human Ecological Risk Assessments. – 1997. – No. 4. – P. 137 – 139.

87. Voskresensky O. N. Principal classes of physiologically active substances in natural system of organic compounds / O. N. Voskresensky // Pharmacological Chemistry Journal. – 1997. – Vol. 31. – No. 5. – P. 234 – 239.

88. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland / G. G. Ying, R. S. Kookana, A. Kumar, M. Mortimer // Science of Total Environment. – 2009. – Vol. 407. – P. 5147 – 5155.

89. Effect-related monitoring: estrogen-like substances in groundwater / B. Kuch, F. Kern, J. W. Metzger, K. T. von der Trenk // Environmental Scientific Pollutants Research International. – 2009. – Vol. 457. – P. 628 – 639.

90. Спиридонов А. М. Остаточные количества пестицидов в продуктах питания и их влияние на здоровье человека / А. М. Спиридонов // Информ. Бюл. «Здоровье населения и среда обитания», 2000. – Вып. 82. – № 1. – С. 17 – 20.

91. Терешкова Л. П. Организация госэпиднадзора за производством и использованием пестицидов и агрохимикатов / Л. П. Терешкова //

Информ. Бюл. «Здоровье населения и среда обитания», 2000. – Вып. 82. – № 1. – С. 6 – 10.

92. Voskresensky O. N. Problem of pharmacovigilance: the significance of xenobiotics structure – activity relationships / O. N. Voskresensky // Фармакологический Вестник. – 1997. – № 5. – С. 234 – 239.

93. Foster P. M. Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters / P. M. Foster // International Journal of Andrology. – 2006. – Vol.29 (1). – P. 181 – 185.

94. Nongenomic actions of low concentration estrogens and xenoestrogens on multiple tissues / C. S. Watson, R. A. Alyea, Y-J Jeng, M. Y. Kochukov // Molecular cell endocrinology. – 2007. – Vol. 274 (1-2). – P. 1 – 7.

95. Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals / L. E. Gray, J. Ostby, J. Furr [et al.] // Human reproduction update. – 2000. – Vol. 7 (3). – P. 248 – 264.

96. Singleton D. W. Xenoestrogens exposure and mechanisms of endocrine disruption / D. W. Singleton, S. A. Khan // Frontiers of Biosciences. – 2003. – Vol. 8 . – P. 110 – 118.

97. Горішна О. В. Зміни енергетичного метаболізму, процесів перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту в печінці білих щурів при гострій та хронічній дії нітрату натрію / О. В. Горішна // Проблеми екології та медицини. – 1998. – Т. 2. – № 3-4. – С. 41 – 52.

98. Anngard E. Nitric oxide: mediator, murderer and medicine / E. Anngard // Lancet. – 1994. – Vol. 343. – P. 1199 – 1206.

99. McCann S.M. Role of nitric oxide in the neuroendocrine response to cytokines / S. M. McCann, K. Kimura, S. Karanth // Annals of the New York Academy of Sciences. – 1998. – Vol. 840. – P. 174 – 184.

100. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Охотин В.Е., Косицын Н.С. – М. : Медицина, 1998. – 159 с.

101. Система оксиду азоту за умов хронічного дефіциту церебрального дофаміну та гіпоксії / В. Ф. Сагач, О. В. Базілюк, М. М. Олешко [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 1999. – Т. 45. – № 1-2. – С. 16 – 25.

102. Uretsky A. D. Nitric oxide produced by a novel nitric oxide synthase isoform is necessary for gonadotropin-releasing hormone-induced growth hormone secretion via a cGMP-dependent mechanism / A. D. Uretsky // *Neuroendocrinology*. – 2003. – Vol. 15. – P. 667 – 676.

103. Про роль неорганічних окислів азоту у реалізації механізмів постнатального розвитку щурів / В. М. Запорожан, А. І. Гоженко, Б. А. Насибуллін, І. В. Савицький // *Український журнал патології*. – 1999. – № 1. – С.34 – 36.

104. Шаповал Л. Н. Роль оксида азота в неравномерном контроле функции кровообращения нейронами дорсомедиального отдела продолговатого мозга крыс / Л. Н. Шаповал, В. Ф. Сагач, Л. С. Побегайло // *Архив клинической и экспериментальной медицины*. – 2000. – Т. 9. – № 1. – С. 226 – 229.

105. Van der Zander K. Nitric oxide and potassium channels are involved in brain natriuretic peptide induced vasodilatation in man / K. Van der Zander, A. J. Houben, A. A. Kroon // *Journal of Hypertension*. – 2002. – Vol. 20. – P. 493 – 499.

106. Friebe A. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase / A. Friebe // *Circulation Research*. – 2003. – Vol. 93. – P. 96 – 105.

107. Реутов В. П. NO-синтазные и нитритредуктазные компоненты оксида азота / В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина // *Биохимия*. – 1998. – Т. 63. – С. 1029 – 1040.

108. Vaisanen-Tommiska M. Cervical nitric oxide release in women postterm / M. Vaisanen-Tommiska, M. Nuutila, O. Ylikorkala // *Obstetrics and Gynecology*. – 2004. – Vol. 103. – P. 657 – 662.

109. Hanafy K. A. NO, nitrotyrosine, and cyclic GMP in signal transduction / K. A. Hanafy, J. S. Krumenacker, F. Murad // *Medical Sciences Monitoring*. – 2001. – Vol. 7. – P. 801 – 819.

110. Gookon J. L. Inducible nitric oxide synthase mediates early epithelial repair of porcine ileum / J. L. Gookon, J. M. Rhoads, R. A. Argenzio // *American Journal of Physiology of Gastrointestinal tract and Liver Physiology*. – 2002. – Vol. 283. – P. 157 – 168.

111. Evaluation of the effects of sildenafil citrate (Viagra) on vertebral artery blood flow in patients with vertebro-basilar insufficiency / Z. Bozgeyik, S. Berilgen, H. Ozdemir [et al.] // *Korean Journal of Radiology*. – 2008. – Vol. 9(6). – P. 477 – 480.

112. The effect of sildenafil on ocular blood flow / A. Harris, L. Kagemann, R. Ehrlich [et al.] // *The British Journal of Ophthalmology*. 2008. – Vol. 92(4). – P. 469 – 473.

113. Некоторые вопросы изучения связи между строением химических соединений и их действием на репродуктивную функцию и эмбриогенез / Т. Г. Зулькарнаев, Т. С. Соломинова, Л. А. Тюрина [и др.] // *Токсикологический вестник*. – 1999. – № 2. – С. 17 – 21.

114. Онкологія / За ред. Б. Т. Білінського, Ю. М. Стернака, Я. В. Шпарика. – Львів : Медицина світу, 1998. – 272 с.

115. Grignard E. In vivo effects of chronic contamination with 137 cesium on testicular and adrenal steroidogenesis / E. Grignard, Y. Guéguen, S. Grison // *Archives of Toxicology*. – 2008. – Vol. 82 (9). – P. 583 – 589.

116. Efficacy and safety of liposomal anthracyclines in phase I/II clinical trials / D.S. Alberts, F. M. Muggia, J. Carmichael [et al.] // *Seminars of Oncology*. – 2004. – Vol. 31. – P. 53 – 90.

117. Doxorubicin-loaded Fab' fragments of anti-disialoganglioside immunoliposomes selectively inhibit the growth and dissemination of human neuroblastoma in nude mice / F. Pastorino, C. Brignole, D. Marimpietri [et al.] // *Cancer Research*. – 2003. – Vol. 63. – P. 86 – 92.

118. Secondary Sex Ratio among Women Exposed to Diethylstilbestrol in Utero / L. A. Wise, J. R. Palmer, E. E. Hatch [et al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 2007. – Vol. 115 (9). – P. 1314 – 1319.

119. Male reproductive health and environmental xenoestrogens / J. Toppari, J. C. Larsen, P. Christiansen [et al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 1996. – Vol. 104 (Suppl.4). – P. 741 – 803.

120. Neonatal treatment of rats with diethylstilboestrol (DES) induces stromal-epithelial abnormalities of the vas deferens and cauda epididymis in adulthood following delayed basal cell development / N. Atanassova, C. McKinnell, J. Fisher, R. Sharpe // *Reproduction*. – 2005. – Vol. 129. – P. 589 – 601.

121. Neonatal co-administration of testosterone with diethylstilbestrol prevents diethylstilbestrol induction of most reproductive tract abnormalities in male rats / A. Ravas, C. McKinnell, J. S. Fisher [et al.] // *Journal of Andrology*. – 2003. – Vol. 24. – P. 557 – 567.

122. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes / F. Pellestor, B. Andreo, F. Arnal [et al.] // *Human Genetics*. – 2003. – Vol. 112. – P. 195 – 203.

123. Spindle formation, chromosome segregation and the spindle checkpoint in mammalian oocytes and susceptibility to meiotic error / E. Vogt, M. Kirsch-Volders, J. Parry, U. Eichenlaub-Ritter // *Mutation Results*. – 2008. – Vol. 651. – P. 14 – 29.

124. Sensitivity of mouse oocytes to nicotine-induced perturbations during oocyte meiotic maturation and aneuploidy in vivo and in vitro / J. B. Mailhes, D. Yung, G. Caldito, S. N. London // *Molecular Human Reproduction*. – 2000. – Vol. 6. – No. 3. – P. 232 – 237.

125. Talbot P. In vitro assessment of reproductive toxicity of tobacco smoke and its constituents / P. Talbot // *Birth Defects Results. Part C. Embryology Today*. – 2008. – Vol. 84 (1). – P. 61 – 72.

126. Tobacco smoke carcinogens, DNA damage and p53 mutations in smoking-associated cancers / G. P. Pfeifer, M. F. Denissenko, M. Olivier [et al.] // *Oncogene*. – 2002. – Vol. 21. – P. 7435 – 7451.

127. Wainer R. Smoking and ovarian fertility / R. Wainer // *Gynecology, Obstetrics and Fertility*. – 2001. – Vol. 29 (12). – P. 881 – 887.

128. Yoshimasu K. Genetic influences on smoking behavior and nicotine dependence: a review / K. Yoshimasu, C. Kiyohara // *Journal of Epidemiology*. – 2003. – Vol. 13. – P. 183 – 192.

129. Components of cigarette smoke inhibit expansion of oocyte-cumulus complexes from porcine follicles / S. Vrsanska, E. Nagyova, A. Mlynarcikova [et al.] // *Physiological Research*. – 2003. – Vol. 52. – P. 383 – 387.

130. Thielen A. Tobacco smoke: unraveling a controversial subject / A. Thielen, H. Klus, L. Müller // *Experimental Toxicology and Pathology*. – 2008. – Vol. 60 (2-3). – P. 141 – 156.

131. Talbot P. Smoking and reproduction: The oviduct as a target of cigarette smoke / P. Talbot, K. Riveles // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2005. – Vol. 3. – P. 52 – 70.

132. Cooper A. R. Maternal tobacco use and its preimplantation effects on fertility: more reasons to stop smoking / A. R. Cooper, K. H. Moley // *Seminars on Reproductive Medicine*. – 2008. – Vol. 26 (2). – P. 204 – 212.

133. George P. Ch. Organization and iintegration of the endocrine system / P. Ch. George // *Sleep Medicine Clinics*. – 2007. – Vol. 2(2). – P. 125 – 145.

134. Куценко С. А. Основы токсикологии / С. А. Куценко : – Санкт-Петербург. : Научная книга, 2002. – 487 с.

135. Караченцев А. Н. Выбор оптимального гестагена для комбинированной заместительной гормонотерапии в пери- и постменопаузе / А. Н. Караченцев, Г. А. Мельниченко // *Проблемы эндокринологии*. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 7 – 21.

136. Christin-Maitre S. A comparative randomized multicentric study comparing the step-up versus the step-down protocol in polycystic ovary syndrome / S. Christin-Maitre, J. N. Hugues // *Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 18. – P. 1626 – 1631.

137. Иен С.К. Репродуктивная эндокринология / С. К. Иен, Р. Б. Джаффе. – М. : Медицина, 1998. – 702 с.

138. Резніков О.Г. Пренатальні розлади гормонального гомеостазису та репродуктивне здоров'я. // *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. – 2001. – № 1. – С. 101 – 104.

139. Larsen E. C. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer / E. C. Larsen, J. Müller, K.Schmiegelow [et al.] // *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*. – 2003. – Vol. 88 (11). – P. 5307 – 5314.

140. Cohen L. E. Cancer treatment and the ovary: the effects of chemotherapy and radiation / L. E. Cohen // *Annals of New York Academy of Sciences*. – 2008. – Vol. 1135. – P. 123 – 125.

141. Chiarelli A.M. Early menopause and infertility in females after treatment for childhood cancer diagnosed in 1964-1988 in Ontario / A. M. Chiarelli, L. D. Marrett, G. Darlingron // *American Journal of Epidemiology*. – 1999. – Vol. 150. – P. 245 – 254.

142. Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood Cancer Survivor Study / D. M. Green, C. A. Sklar, J. D. Boice Jr. [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 27 (14). – P. 2374 – 2381.

143. Белоокая Т.В. Медицинские эффекты малых доз ионизирующих излучений / Т. В. Белоокая, С. С. Корытько, С. Б. Мельнов // *IV Международный Конгресс по интегративной антропологии, 23-25 мая 2002 г., Минск : тезисы докл.* – Минск : Навука, 2002. – С. 24 – 25.

144. Дедов В. И. Радиационная эндокринология / В. И. Дедов, И. И. Дедов, В. Ф. Степаненко ; М. : Медицина, 1993. – 208 с.

145. Ionizing radiations in pregnancy and teratogenesis: a review of literature / M. De Santis, E. Di Gianantonio, G. Straface [et al.] // *Reproductive Toxicology*. – 2005. – Vol. 20 (3). – P. 323 – 329.

146. Эффекты низкоинтенсивного высокочастотного облучения на репродуктивную функцию крыс Вистар / Т. И. Субботина, О. В. Терешкина, А. А. Хадарцев, А. А. Яшин // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2006. – Т. 142. – № 2. – С. 189 – 190.

147. Цвелев Ю.В. Медицинские аспекты влияния малых доз ионизирующего излучения на женский организм / Ю. В. Цвелев, Е. Ф. Кира, В. Ф. Беженарь // *Вестник Российской Ассоциации акушеров-гинекологов*. – 1996. – № 2. – С. 47 – 51.

148. Преждевременное старение организма и характеристика его проявлений в отдаленном периоде после облучения в малых дозах / Н. Б. Холодова, Л. А. Жаворонкова, Б. Н. Рыжов, Г. Д. Кузнецова // *Успехи геронтологии*. – 2007. – Т. 20, вып. 4. – С. 48 – 55.

149. Дробінська О.В. Стан симпато-адреналової системи в осіб, які постраждали від дії іонізуючого випромінювання / О. В. Дробінська, В. О. Чайка, Ю. В. Степанов // *Український біохімічний журнал*. – 2002. – Т. 74. – № 46 (додаток 2). – с. 220 – 221.

150. Резніков О.Г. Перинатальна стресова модифікація реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи (ГГНС) / О. Г. Резніков, Н. Д. Носенко // *Фізіологічний Журнал*. – 2000. – № 46. – С. 146 – 158.

151. Dobrzynska M. M. Male-mediated developmental toxicity in mice after 8 weeks' exposure to low doses of X-rays / M. M. Dobrzynska, U. Czajka // *International Journal of Radiation Biology*. – 2005. – Vol. 81 (11). – P. 793 – 799.

152. Luke G.A. Genomic instability in haemopoietic cells of F1 generation mice of irradiated male parents / G. A. Luke, A. C. Riches, P. E. Bryant // *Mutagenesis*. – 1997. – Vol. 12. – № 1. – P. 147 – 152.

153. Выявление с помощью теста «Адаптивный ответ» нестабильности генома у потомства самцов мышей, подвергнутых хроническому воздействию γ -излучения. / Заичкина С.И., Розанова О.М., Ахмадиева А.Х. [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т.42. – № 6. – С. 608 – 611.
154. Бычковская И.Б. Особые долговременные изменения клеток при воздействии радиации в малых дозах / И. Б. Бычковская, Р. П. Степанов, Р. Ф. Федорцева // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т.42. - № 1. – С. 20 – 35.
155. Воздействие хронического и острого облучения на полиморфизм RAPD-маркеров у потомства облученных мышей / А. Е. Мязин, М. Д. Померанцева, Л. К. Рамайя [и др.] // Радиобиология. Радиоэкология. – 2006. – Т. 46. - № 5. – С. 583 – 589.
156. Морфофункциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов после хронического низкоинтенсивного облучения в дозе 1,0 Гр. / Е.Ф.Конопля, Г.Г.Верещако, А.М.Ходосовская [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т.42. – № 2. – С. 136 –140.
157. Tan S. W. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife / S. W. Tan, J. C. Meiller, K. R. Mahaffey // Critical Reviews of Toxicology. – 2009. – Vol. 39 (3). – P. 228 – 269.
158. Иваницкая Н. Ф. Сочетанное действие металлов и радиации. / Тяжелые металлы во внешней среде // Минск.: Навука і тэхніка, 1994. – С. 163 –197.
159. Trakhtenberg I. The Ecologic Consequences of the Chernobyl Disaster: Radiation and Lead / I. Trakhtenberg, N. Ivanitskaya, Yu. Talakin // Fresenius Environmental Bulletin. – 1995. – Vol. 4. – P. 597 – 602.
160. Рыбалкин С. П. Экспериментальное изучение общетоксического действия препарата перфторана на неполовозрелых животных / С. П. Рыбалкин, Ю. В. Иванова, Н. Р. Дядищев // Российский биомедицинский журнал. – 2004. – Т. 5. – С. 121 – 125.

161. Trasher J. D. Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde / J. D. Trasher, K. H. Kilburn // *Archives of Environmental Health*. – 2001. – Vol. 56 (4). – P. 300 – 311.

162. Genuis S. J. Nowhere to hide: Chemical toxicants and the unborn child / S. J. Genuis // *Reproductive toxicology*. – 2009. – Vol. 28 (1). – P. 115 – 116.

163. Целкович Л.П. Репродуктивная функция у женщин, проживающих в условиях неблагоприятных факторов окружающей среды / Л. П. Целкович, В. С. Рогачева // *Акушерство и гинекология*. – 1998. – № 2. – С. 24 – 27.

164. Iavicoli I. The effects of metals as endocrine disruptors / I. Iavicoli, L. Fontana, A. Bergamaschi // *Journal of Toxicology of Environmental Health. Part B. Critical Reviews*. – 2009. – Vol. 12 (3). – P. 206 – 223.

165. Dugan A. V. Mutagenicity and benz(a)pyrene maintenance in atmosphere air in some cities of Ukraine / A. V. Dugan, I. R. Barilyak // *International Conference on Environmental and Occupational Cancer in Developing Countries, 1998, Rio de Janeiro : Abstract book – Rio de Janeiro, 1998. – P. 36.*

166. Николаев А. А. Влияние экологических факторов на репродуктивную функцию мужчин / А. А. Николаев, Д. Л. Луцкий // «Эколого-физиологические проблемы адаптации», Москва, 1998 : Сб. тез. – Москва : 1998. – С. 79 – 80.

167. Луцкий Д. Л. Влияние на фертильность хронической интоксикации с сероводородсодержащим газом / Д. Л. Луцкий, А. А. Николаев, Л. А. Гончарова, М. В. Ушакова // *Проблемы репродукции*. – 2000. – № 4. – С. 56 – 69.

168. Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals / L. E. Gray, J. Ostby, J. Furr [et al.] // *Human Reproduction Update*. – 2001. – Vol. 7. – P. 248 – 264.

169. Wolf S. J. Characterization of the period of sensitivity of fetal male sexual development to vinclozolin / S. J. Wolf., G. A. LeBlanc, J. S. Ostby, L. E. Gray jr. // *Toxicological sciences*. – 2000. – Vol. 55. – P. 152 – 161.

170. McIntyre B. S. Male rats exposed to linuron in utero exhibit permanent changes in anorectal distance, nipple retention, and epididymal malformations that result in subsequent testicular atrophy / B. S. McIntyre, N. J. Barlow, P. M. Foster // *Toxicological Sciences*. – 2002. – Vol. 65. – P. 62 – 70.

171. Effects of in utero linuron exposure on rat Wolffian duct development / B. S. McIntyre, N. J. Barlow, M. Sar [et al.] // *Reproductive Toxicology*. – 2002. – Vol. 16. – P. 131 – 139.

172. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist / W. R. Kelce, C. R. Stone, S. C. Laws [et al.] // *Nature*. – 1995. – Vol. 375. – P. 581 – 585.

173. Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long-Evans hooded rats exposed in utero and lactationally to p,p'-DDE / L. You, M. Casanova, S. Archibeque-Engle [et al.] // *Toxicological sciences*. – 1998. – Vol.45. – P. 162-173.

174. NTP center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: Phthalates Expert Panel report on the reproductive and developmental toxicity of butyl benzyl phthalate / R. Kavlock, K. Boekelheide, R. Chapin [et al.] / *Reproductive Toxicology*. – 2002. – Vol. 16. – P. 453 – 487.

175. NTP center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: Phthalates Expert Panel report on the reproductive and developmental toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate / R. Kavlock, K. Boekelheide, R. Chapin [et al.] / *Reproductive Toxicology*. – 2002. – Vol. 16. – P. 529 – 653.

176. NTP center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: Phthalates Expert Panel report on the reproductive and developmental toxicity of di-isinonyl phthalate / R. Kavlock, K. Boekelheide, R. Chapin [et al.] / *Reproductive Toxicology*. – 2002. – Vol. 16. – P. 679 – 708.

177. NTP center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction: Phthalates Expert Panel report on the reproductive and developmental toxicity of di-n-butyl phthalate / R. Kavlock, K. Boekelheide, R. Chapin [et al.] // *Reproductive Toxicology*. – 2002. – Vol. 16. – P. 489 – 527.

178. Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. / B. C. Blount, M. J. Silva, S. P. Caudill [et al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 2000. – Vol. 108. – P. 979 – 982.

179. Mylchreest E. DBP exerts its antiandrogenic activity by indirectly interfering with androgen signaling pathways / E. Mylchreest, P. M. Foster // *Toxicology and applied Pharmacology*. – 2000. – Vol. 168. – P. 174 – 175.

180. Mylchreest E. Male reproductive tract malformations in rats following gestational and lactational exposure to di(n-butyl)phthalate: an antiandrogenic mechanism? / E. Mylchreest, R. C. Cattley, P. M. Foster // *Toxicological sciences*. – 1998. – Vol. 43. – P. 47 – 60.

181. Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl)phthalate during late gestation in rats is different from flutamide / E. Mylchreest, M. Sar, R. C. Cattley [et al.] // *Toxicology and applied Pharmacology*. – 1999. – Vol. 156. – P. 81 – 95.

182. Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to di(n-butyl)phthalate during late gestation / E. Mylchreest, D. G. Wallace, R. C. Cattley, P. M. Foster // *Toxicological sciences*. – 2000. – Vol. 55. – P. 143 – 151.

183. Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di(n-butyl)phthalate / E. Mylchreest, M. Sar, D. G. Wallace, P. M. Foster // *Reproductive Toxicology*. – 2002. – Vol. 16. – P. 19 – 28.

184. The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat / L. G. Parks, J. S. Ostby, C. R. Lambright [et al.] // *Toxicological Sciences*. – 2000. – Vol. 58. – P. 339 – 349.

185. Human “testicular dysgenesis syndrome”: a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate / J. S. Fisher, S. Macpherson, N. Marchetti, R. M. Sharpe // *Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 18. – P. 1383 – 1394.

186. Association between testicular dysgenesis syndrome (TDS) and testicular neoplasia: evidence from 20 adult patients with signs of maldevelopment of the testis / N. E. Skakkebaek, M. Holm, C. Høi-Hansen [et al.] // *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*. – 2003. – Vol. 111. – P. 1 – 9.

187. Histological evidence of testicular dysgenesis in contralateral biopsies from 218 patients with testicular germ cell cancer / C. E. Høi-Hansen, M. Holm, E. Rajpert-De Meyts, N. E. Skakkebaek // *Journal of Pathology*. – 2003. – Vol. 200. – P. 370 – 374.

188. Leydig cell micronodules are a common finding in testicular biopsies from men with impaired spermatogenesis and are associated with decreased testosterone/LH ratio / M. Holm, E. Rajpert-De Meyts, A. M. Andersson, N. E. Skakkebaek // *Journal of Pathology*. – 2003. – Vol. 199. – P. 378 – 386.

189. Запорожан В. М. Акушерство і гінекологія / В. М. Запорожан, М. Р. Цегельський – К. : Здоров'я, 1996. – 240 с.

190. Carlson H. E. Human adrenal cortex hyperfunction due to LH/hCG / H. E. Carlson // *Molecular and Cellular Endocrinology*. – 2007. – Vol. 15. – P. 269(1-2). – 46 – 50.

191. Bancroft J. Impact of environmental, stress, occupational and other hazards on sexuality and sexual behavior / J. Bancroft // *Environmental Health Perspectives Supplements*. – 1993. 0 Vol. 101(Suppl.2). – P. 101 – 107.

192. Леонов Б. В. Состояние проблемы экстракорпорального оплодотворения и переноса эмбрионов (ЭКО и ПЭ) в России / Б. В. Леонов, В. И. Кулаков // *Акушерство и гинекология*. – 1998. – № 1. – С. 4 – 5.

193. Общая токсикология / Под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова. – М. : Медицина, 2002. – 608 с.

194. Sikka S. C. Endocrine disruptors and estrogenic effects on male reproductive axis / S. C. Sikka, R. Wang // *Asian Journal of Andrology*. – 2008. – Vol. 10 (1). – P. 134 – 145.

195. Hematotesticular barrier is altered from early stages of liver cirrhosis: effect of insulin-like growth factor 1 / I. Castilla-Cortazar, N. Diez, M. Garcia-Fernandez [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2004. – Vol. 10 (17). – P. 2529-2534.

196. Ogilvy-Stuart A. L., Shalet S. M. Effect of radiation on the human reproductive system / A. L. Ogilvy-Stuart, S. M. Shalet // *Environmental Health Perspectives*. – 1993. – Vol. 101(Suppl 2). – P. 109 – 116.

197. Hess R. A. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium / R. A. Hess, L. Renato de Franca // *Advance in Experimental Medical Biology*. – 2008. – Vol. 636. – P. 1 – 15.

198. Адамян Л. В. Возможность сохранения репродуктивной функции у онкологических больных (обзор литературы) / Л. В. Адамян, С. М. Белобородов // *Проблемы репродукции*. – 2003. – № 6. – С. 29 – 41.

199. Giwecman A. The human testis: an organ of risk? // *The 13th Annual Meeting of the ESHRE, June 22-25, 1997, Edinburgh : abstracts*. – Edinburgh, 1997. – P. 44.

200. Maestrich M. L. Cytotoxic drugs: gonadal toxicity and reversal of toxicity / M. L. Maestrich // *The 13th Annual Meeting of the ESHRE, June 22-25, 1997, Edinburgh : abstracts*. – Edinburgh, 1997. – P. 45.

201. Арзамасцев Е. В. Современные требования к доклиническому изучению безопасности новых лекарственных препаратов / Е. В. Арзамасцев, Б. И. Любимов // *Токсикологический вестник*. – 1994. – № 4. – С. 10 – 14.

202. Dobrzynska M. M. Reproductive effects after exposure of male mice to vincristine and to a combination of X-rays and vincristine / M. M.

Dobrzynska, U. Czajka, M. G. Slowicowska // Reproductive Fertility Developments. – 2005. – Vol. 31. – P. 236 – 245.

203. Occupational and environmental exposures to heavy metals: risk factors for male infertility in Lebanon? / M. C. Inhorn, L. King, J. O. Nriagu [et al.] // Reproductive Toxicology. – 2008. – Vol. 25(2). – P. 203 – 212.

204. Kempinas W. G. Time-dependent effects of lead on rat reproductive functions / W. G. Kempinas, A. L. V. Favaretto, V. R. Melo / Journal of applied Toxicology. – 1994. – Vol. 14. – P. 427 – 433.

205. Goyer R. A. Lead toxicity: current concepts / R. A. Goyer // Environmental Health Perspectives. – 1993. – Vol. 100. – P. 177 – 187.

206. El-Zohairy E. A. Reproductive hazards of lead exposure among urban Egyptian men / E. A. El-Zohairy, A. F. Youssef, S. M. Abul-Nasr // Reproductive Toxicology. – 1996. – No. 10. – P. 145 – 151.

207. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы как химические загрязнители производственной и окружающей среды (эколого-гигиенические аспекты) / И. М. Трахтенберг // Довкілля та здоров'я. – 1997. – № 2. – С. 48 – 51.

208. Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry / L. Ritter, K. Solomon, P. Sibley [et al.] // Journal of Toxicology of Environmental Health. Part A. – 2002. – Vol. 65 (1). – P. 1 – 142.

209. Кундиев Ю. В. Чернобыльская катастрофа / Ю. В. Кундиев, И. М. Трахтенберг. – К. : Медвидав, 1995. – С.406 – 409.

210. Trakhtenberg I. M. Hygenic data Towards the Conception of Environmental Hygiene Monitoring of Heavy Metals as Environmental Pollutants / I. M. Trakhtenberg, A. E. Podrushnyak, V. P. Lukovenko // Fresenius Environmental Bulletin. – 1993. – Vol. 2. – P. 142 – 147.

211. Гончарук Є. Г. Проблема поєднаної дії на здоров'я населення іонізуючого випромінювання і хімічних чинників навколишнього

середовища / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун, О. П. Яворівський // Довкілля та здоров'я. – 1996. – № 1. – С. 26 – 29.

212. Association of hypogonadism and type II diabetes in men attending an outpatient erectile dysfunction clinic / G. Corona, E. Mannucci, L. Petrone [et al.] // International Journal for Impotence Research. – 2006. – Vol. 18 (2). – P. 190 – 197.

213. Tamler R. Diabetes, obesity, and erectile dysfunction / R. Tamler // Gender Medicine. – 2009. – Suppl. 1. – P. 4 – 16.

214. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function / Agbaje I.M., Rogers D.A., NcVicar C.M. [et al.] // Human Reproduction. – 2007. – Vol. 22. – No. 7. – P. 1871 – 1877.

215. Van Steenberg W. Alcohol, liver cirrhosis and disorders in sex hormone metabolism / W. Van Steenberg // Acta Clinica Belgica. – 1993. – Vol. 48(4). – P. 269 – 283.

216. Rubes J. Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men / J. Rubes, X. Lowe, D. Moore // Fertility and Sterility. – 1998. – Vol. 70. – P. 715 – 723.

217. Сердюк А. М. Генофонд і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля, напрямки профілактики генетично обумовленої патології / А. М. Сердюк, О. І. Тимченко, Н. Г. Гойда. – К. : ІГМЕ АМН України, 2003. – 191 с.

218. Acute alcohol exposure markedly influences male fertility and fetal outcome in the male rat / T. J. Cicero, B. Nock, L. O'Connor [et al.] // Life Sciences. – 1994. – Vol. 55. – P. 901 – 910.

219. Delayed pubertal development of the male reproductive tract associated with chronic ethanol ingestion / R. A. Anderson, B. R. Willis, J. F. Phillips [et al.] // Biochemical Pharmacology. – 1997. – Vol. 36. – P. 2157 – 2167.

220. Kielkiewicz D. Use of a dynamic test with HCG for evaluation of endocrine function in gonads of men with chronic alcohol abuse / D.

Kielkiewicz, M. Medraś, M. Dolna // *Polski Merkuriusz Lekarski*. – 2001. – Vol. 10(56). – P. 85 – 88.

221. Structural evaluation of the effects of chronic ethanol ingestion on the testis of *Calomys callosus* / M. Martinez, S. Macera, G. F. de Assis // *Tissue Cell*. – 2009. – Vol. 41(3). – P. 199 – 205.

222. Benoff S. Molecular and other predictors for infertility in patients with varicoceles / S. Benoff, J.L. Marmar, I.R. Hurley // *Frontiers in Bioscience*. – 2009. – Vol. 14. – P. 3641 – 3672.

223. Sokol R. Z. Endocrinology of male infertility: evaluation and treatment / R.Z. Sokol // *Seminars on Reproductive Medicine*. – 2009. – Vol. 27(2). – P. 149 – 158.

224. Schlegel P. N. Causes of azoospermia and their management / P.N. Schlegel // *Reproduction, Fertility and Development*. – 2004. – Vol. 16(5). – P. 561 – 572.

225. Novel cause of hereditary obstructive azoospermia: a T2 allele in the CFTR gene / R. Radpour, E. Taherzadeh-Fard, H. Gourabi [et al.] // *Reproductive Biomedicine Online*. – 2009. – Vol. 18(3). – P. 327 – 332.

226. Wald M. Therapeutic testis biopsy for sperm retrieval / M. Wald, A. A. Makhlof, C. S. Niederberger // *Current Opinions in Urology*. – 2007. – Vol. 17(6). – P. 431 – 438.

227. Intracytoplasmic sperm injection by testicular sperm in patients with aspermia or azoospermia after cancer treatment / B. Zorn, I. Virant-Klun, M. Stanovnik // *International Journal of Andrology*. – 2006. – Vol. 29(5). – P. 521 – 527.

228. Outcomes after testicular aspiration and testicular tissue cryopreservation for obstructive azoospermia and ejaculatory dysfunction / T. Garg, C. LaRosa, E. Strawn [et al.] // *Journal of Urology*. – 2008. – Vol. 180(6). – P. 2577 – 2580.

229. Role of mesenchymal stem cells in regenerative medicine: application to bone and cartilage repair / F. Granero-Molto, J. A. Weis, L.

Longobardi, A. Spagnoli // *Exert Opinion on Biological Therapy*. – 2008. – Vol. 8(3). – P. 255 – 268.

230. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. / D. Orlic, J Kajstura, I. Saniuk [et al.] // *Nature*. – 2001. – Vol. 410. – P. 701 – 705.

231. Хусс Р. Генная инженерия и генетическая терапия. // В кн.: *Генетическая медицина*. / Под ред. Запорожана В. Н. – Одесса: Одес. Гос. Мед. Ун-т, 2008. – С. 370 – 375.

232. Зеленин А. В. Генная терапия на границе третьего тысячелетия / А. В. Зеленин // *Вестник РАН*. – 2001. – Т. 71, № 5. – С. 387 – 395.

233. Cancedda R. Bone repair by regenerative medicine and tissue engineering / R. Cancedda // *Cytotherapy*. – 2004. – Vol. 6, No.3. – P. 259.

234. Сухих Г.Т. Трансплантация фетальных клеток в медицине: настоящее и будущее. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 1998. – Т. 126. – Прилож. 1. – С. 3 – 14.

235. Moskalenko V. Bioartificial parathyroid for treatment of hypoparathyroidism – preoperative optimization of graft function / V. Moskalenko, S. Timm, E. Blind // *Cytotherapy*. – 2004. – Vol. 6, No. 3. – P. 275.

236. Pollok J. M. Tissue engineering of the endocrine pancreas / J. M. Pollok // *Cytotherapy*. – 2004. – Vol. 6, No. 3. – P. 272 – 273.

237. Абдулкадыров К. М. Получение и клиническое применение периферических гемопоэтических стволовых клеток из пуповинной крови / К. М. Абдулкадыров, Н. А. Романенко, Н. Н. Старков // *Вопросы онкологии*. – 2000. – Т. 46. – С. 513 – 520.

238. Способность человеческих мезенхимальных клеток, полученных их разных источников, дифференцироваться в ткани мезодермального происхождения / И. Г. Суздальцева, В. В. Бурунова, И. В. Яхрушов [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2007. – Т. 143(1). – С. 114 – 121.

239. Єфімов А. С. Трансплантація гемопоетичних клітин ембріональної печінки людини хворим на цукровий діабет I типу / А. С. Єфімов, О. І. Смикодуб, А. В. Новицька // Трансплантологія. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 26 – 31.

240. Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга и жировой ткани человека: получение, характеристика, возможности дифференцировки / Ю. А. Романов, А. Н. Даревская, Н. В. Мерзликина, Л. Б. Буравкова // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2005. – № 3. – С. 158 – 163.

241. Gratwohl A. Hemopoietic stem cell transplantation (HSCT) in Europe 2003: Preliminary Report from the EBMT activity survey / A. Gratwohl, H. Baldomero, A. Urbano Ispizua // EBMT News. – 2004. – Vol. 15, № 22. – P. 10 – 11.

242. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue / S. Kern, H. Eichler, J. Stoeve [et al.] // Stem Cells. – 2006. – Vol. 24(5). – P. 1294 – 1301.

243. Dissimilar differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, and adipose tissue / C. K. Rebelatto, A. M. Aguiar, M. P. Moretão [et al.] // Experimental Biology and Medicine. – 2008. – Vol. 233(7). – P. 901 – 913.

244. Esch J. S. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: A novel concept to support hepatic regeneration / J. S. Esch, W. T. Knoefel, M. Klein // Stem cells. – 2005. – Vol. 23. – P. 463 – 470.

245. Development of in vivo tissue-engineered conduit valve as the next generation of “Biovalve” / K. Hayashida, K. Kanda, H. Yaku, Y. Nakayama // International Journal of Artificial Organs. – 2006. – Vol. 29, No. 5. – P. 509.

246. Johnson L. B. The mesentery as a laminated vascular bed for hepatocyte transplantation / L. B. Johnson, J. Aiken, D. Mooney // Cell Transplantation. – 1994. – Vol. 3, No. 4. – 273 – 281.

247. Mesenchymal stem cells for bone repair and metabolic bone diseases / A. H. Undale, J. J. Westendorf, M. J. Yaszemski, S. Khosla // *Mayo Clinic Proceedings*. – 2009. – Vol. 84(10). – P. 893 – 902.

248. Tyndall A. Haemopoietic stem cells transplantation in the treatment of severe autoimmune diseases / A. Tyndall, J. Passweg, A. Gratwohl // *Annals of Rheumatic Diseases*. – 2001. – Vol. 60. – P. 702 – 707.

249. Bianco P. Bone marrow stromal cells: nature, biology and potential applications / P. Bianco, M. Riminucci, P. G. Robey // *Stem cells*. – 2001. – Vol. 19, No. 3. – P. 180 – 192.

250. Umezawa A. Cell source for regenerative medicine / A. Umezawa, H. Makino // *Japanese Journal of Clinical Medicine*. – 2008. – Vol. 66(5). – P. 865 – 872.

251. Шумаков В. И. Костный мозг как источник получения мезенхимальных клеток для восстановительной терапии поврежденных органов / В. И. Шумаков, Н. Ф. Онищенко, М. Е. Крашенинников // *Вестник трансплантации искусственных органов*. – 2002. – № 4. – С. 46 – 53.

252. Chang C. N. The clinical impact of long-term tissue engineering bone by gene medicine and stem cells – the long-term results / C. N. Chang, S. Chia-Ning Chang, Y. Ray Chen // *Cytotherapy*. – 2006. – Vol. 8, Suppl. 2. – P. 16.

253. Kassem M. Stem cells: potential therapy for age-related diseases / M. Kassem // *Annals of New York Academy of Sciences*. – 2006. – Vol. 1067. – P. 436 – 442.

254. Liu Z. J. Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells / Z. J. Liu, Y. Zhuge, O. C. Velazquez // *Journal of Cellular Biochemistry*. – 2009. – Vol. 106(6). – P. 984 – 991.

255. Beyer N. N. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization / N. N. Beyer, M. L. da Silva // *Handbook of Experimental Pharmacology*. – 2006. – Vol. 174. – P. 249 – 282 .

256. Колтунов А. Ю. Правовые и этические аспекты использования эмбриональных стволовых клеток // А. Ю. Колтунов // II Национальный Конгресс з біоетики, 29 вересня-2 жовтня 2004 р., Київ : тези доп. – К. , 2004. – С. 229 – 230.

257. Перепелюк М. М. Етико-моральні проблеми трансплантації стовбурових клітин та їх похідних / М. М. Перепелюк, В. Г. Дубиніна, С. Г. Четвериков // II Национальный Конгресс з біоетики, 29 вересня-2 жовтня 2004 р., Київ : тези доп. – К., 2004. – С. 228 – 229.

258. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells / G. Brooke, M. Cook, C. Blair [et al.] // Seminars on Cell Development and Biology. – 2007. – Vol. 18(6). – P. 846 – 858.

259. Mesenchymal stem cells: innovative therapeutic tools for rheumatic diseases / F. Djouad, C. Bouffi, S. Ghannam, D. Noël, C. Jorgensen // Nature Reviews. Rheumatology. – 2009. – Vol. 5(7). – P. 392 – 399.

260. Gage F.H. Cell therapy / F. H. Gage // Nature. – 1998. – Vol. 392, No. 30. – P. 18 – 24.

261. Nygren J. M. Bone marrow derived hematopoietic cells generate cardiomyocytes at a low frequency through cell fusion, but not transdifferentiation / J. M. Nygren, St. Jovinge, M. Breitbach // Nature. Medicine. – 2004. – Vol. 10, No.5. – P. 494 – 501

262. Sanchez-Ramos J. Adult bone-marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro / J. Sanchez-Ramos, S. Song, F. Cardozo-Pelaez // Experimental Neurology. – 2000. – Vol. 164, No.2. – P. 247 – 256.

263. Vassipoulus G. Transplanted bone-marrow regenerates liver by cell fusion / G. Vassipoulus, P. R. Wang, D. W. Russel // Nature. – 2003. – Vol. 422. – P. 901 – 904.

264. Wang X. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes / X. Wang, H. Willenbring, Y. Akkari // Nature. – 2003. – Vol. 422. – P. 897 – 901.

265. McKay R. Building animals from stem cells / R. McKay // *Annals of New York Academy of Sciences*. – 2002. – Vol. 961. – P. 44.

266. A stem cell molecular signature. / N. B. Ivanova, J. T. Dimos, C. Schaniel [et al.] // *Science*. – 2002. – Vol. 298. – P. 601 – 604.

267. Preimplantation human embryos and embryonic stem cells show comparable expression of stage-specific embryonic antigens / J. K. Henderson, J. S. Draper, H. S. Baillie [et al.] // *Stem cells*. – 2002. – Vol. 20. – P. 329 – 337.

268. Kehat I. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes / I. Kehat, D. Kenyagin-Karsenti, M. Snir // *Journal for Clinical Investigation*. – 2001. – Vol. 108. – P. 407 – 414.

269. Czys J. Embryonic stem cell differentiation: the role of extracellular factors / J. Czys, A. Wobus // *Differentiation*. – 2001. – Vol. 68. – P. 167 – 174.

270. Laflamme M. A. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts / M. A. Laflamme, D. Myerson, J. E. Saffitz // *Circulation Results*. – 2002. – Vol. 90. – P. 634 – 640.

271. Establishment of human embryonic stem cell-transfected clones carrying a marker for undifferentiated cells / R. Eiges, M. Schuldiner, M. Drukker [et al.] // *Current Biology*. – 2006. – No. 11. – P. 514 – 518.

272. Parsa C. J. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart / C. J. Parsa, A. Matsumoto, J. Kim // *Journal for Clinical Investigations*. – 2003. – Vol. 112. – P. 999 – 1007.

273. Cytokines, Growth Factors, and Adhesion Molecules / C. Emmett, K. Foster / In: Nakamura R. M., Folds J. D. eds. *Clinical Diagnostic Immunology*. Blackwell Science, 1998. – P. 110 – 123.

274. Возианов А. Ф. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак. – Киев : Наукова думка, 1998. – 320 с.

275. Ершов Ф. И. Цитокины – новое поколение биотерапевтических препаратов / Ф. И. Ершов // *Вестник РАМН*. – 2006. – № 9-10. – С. 45 – 50.

276. Aggarwal B. B. Common and uncommon features of cytokines and cytokine receptors: an overview. In: Human cytokines: their role in disease and therapy // B. B. Aggarwa, R. K. Puri. – Cambridge, MA : Blackwell Science, 1996. – P. 3 – 24.

277. Сукманський О. І. Цитокіни – нова система біорегуляторів / О. І. Сукманський // Вісник стоматології. – 2005. – № 3. – С. 69 – 74.

278. Oppenheim J. J. Chemotactic factors, neuropeptides, and other ligands for seven transmembrane receptors / J. J. Oppenheim, O. M. Z. Howard, E. Goetzl // Cytokine Reference. – 2001. – Vol. 1. – P. 985 – 1021.

279. Niwa H. Molecular mechanism to maintain stem cell renewal of ES cells / H. Niwa // Cell Structure and Function. – 2001. – Vol. 26. – P. 137 – 148.

280. Dinarello C. A. biologic basis for interleukin-2 in disease / C. A. Dinarello // Blood. – 1996. – Vol. 87(3). – P. 2095 – 2147.

281. Detection of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in human follicular luteinized granulose cells / A. Salmassi, A. G. Schmutzler, L. Huang [et al.] // Fertility & Sterility. – 2004. – Vol. 81, Suppl. 1. – P. 786 – 791.

282. Is granulocyte colony-stimulating factor level predictive for human IVF outcome? / A. Salmassi, A. G. Schmutzler, S. Schaefer [et al.] // Human reproduction. – 2005. – Vol. 9(20). – P. 2434 – 2440.

283. Ingman W. V. Transforming growth factor-beta 1 null mutation causes infertility in male mice associated with testosterone deficiency and sexual dysfunction / W. V. Ingman, S. A. Robertson // Endocrinology. – 2007. – Vol. 148(8). – P. 4032 – 4043.

284. The administration of rhG-CSF (10 mg/kg/d) results in successful peripheral blood progenitor cell (PBPC) mobilization in previously treated patients / L. d'Hondt, Ph. Dupret, M. Andre [et al.] // British Journal of Hematology. – 1996. – Vol. 93. – P. 1021.

285. Primary transplantation of allogenic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor) / N.

Schmitz, P. Dreger, M. Suttorp [et al.] // *Blood*. – 1995. – Vol. 85(6). – P. 1666 – 1672.

286. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.

287. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.

288. Barrett J. R. The science of soy. What do we really know? / J. R. Barrett // *Environmental Health Perspectives*. – 2006. – Vol. 114. – P. 353 – 358.

289. Вундер П. А. Эндокринология пола. / П. А. Вундер. – М. : Наука, 1980. – 256 с.

290. Холодкова О. Л. Новый метод морфометричної оцінки стану сперматогенезу в мишей / О. Л. Холодкова, А. Л. Щербатюк, Д. М. Пихтєєв // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 99 – 100.

291. Райцина С. С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции / С. С. Райцина. – М. : Наука, 1985. – 206 с.

292. Leblond C. P. The eleven stages of the cell cycle, with emphasis on the changes in chromosomes and nucleoli during interphase and mitosis / C. P. Leblond, M. El-Alfy // *The Anatomical Record*. – 1998. – Vol. 252(3). – P. 426 – 443.

293. Male infertility / E. Iammarrone, R. Balet, A. M. Lower [et al.] // *Best Practice and Research. Clinical Obstetrics and Gynaecology*. – 2003. – Vol. 17(2). – P. 211 – 229.

294. Пат. 17287 Україна, МПК (2006) G09B 23/02 (2006.1) G09B 23/04 (2006.1). Спосіб моделювання вторинного гіпогонадізму / Запорожан В. М., Холодкова О. Л., Пихтєєв Д. М., Перепелюк М. ; заявник

та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № U200603542 ; заявл. 03.06.06 ; опубл. 15.09.2006, Бюл. № 9. – 2 с.

295. Пат. 58471 Україна, МКИ А61К 35/78, А61Р 19/00, 1/02. Спосіб одержання біологічно активного засобу і біологічно активний засіб ЕКСО, який має остеотропну активність / Левицький А. П., Макаренко О. А., Деньга О. В., Чумакова Ю. Г. ; заявник та патентовласник Інститут стоматології АМН України. – заявл. 02.02.2000; опубл. 15.07.2000, Бюл. № 8. – 5 с.

296. Baird D. D. Dietary intervention study to assess estrogenicity of dietary soy among post menopausal women / D. D. Baird, D. M. Umbach, L. Lansdell // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. – 1995. – Vol. 80. – P. 1685 – 1690.

297. Muench M. O. Isolation, growth and identification of colony-forming cells with erythroid, myeloid, dendritic cell and NK-cell potential from human fetal liver / M. O. Muench, D. L. Suskind., A. Barcena // *Biological Procedures Online*. – 2002. – Vol. 4. – P. 10 – 23.

298. Jameie S.-B. Ovaryectomy reduces the dendritic spine density of the dorsal raphe neurons in the adult rat / S.-B. Jameie, M.-H. Noyan-Ashraf, G. Behzadl // *Archives of Iranian Medicine*. – 2004. – Vol. 7(2). – P. 122 – 127.

299. Микроскопическая техника: Руководство / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Петрова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.

300. Артишевский А. А. Гистология с техникой гистологических исследований / А. А. Артишевский, А. С Леонтьук, Б. А. Слука. – Минск. : Высшая школа, 1999. – 236 с.

301. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: Руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.

302. Серов В. В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В. В. Серов, К. Лапиш. – М. : Медицина, 1989. – 336 с.

303. Тараканов Е. И. Нейросекреция в норме и патологии / Е. И. Тараканов. – М. : Медицина, 1968. – 219 с.

304. Кнорре З. Д. Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система в различных фазах нормального астрального цикла: при постоянной течке и овариоэктомии у крыс / З. Д. Кнорре, А. Л. Поленов, М. В. Прапп // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1969. – Т. LVII, № 7. – С. 17 – 25.

305. Armstrong W. E. Phenotypic and state-dependent expression of the electrical and morphological properties of oxytocin and vasopressin neurones / W. E. Armstrong, J. E. Stern // Progress in Brain Research. 1998. – Vol. 119. – P. 101 – 113.

306. Насибуллин Б. А. Структурно-метаболическое типирование нейронов сенсомоторной коры головного мозга крыс / Б. А. Насибуллин ; АМН Украины. Институт курортологии и медицинской реабилитации. – К., 1991. – 7 с. – Деп. в УкрНИИТИ 14.03.91 г., № 346-УК.91.

307. Технології виділення клітин строми кісткового мозку людини, розмноження *in vitro* та індукції в нервові клітини та остеобласти : методичні рекомендації / уклад. : В. І. Грищенко [та ін.]. – Харків : Харківська Медична Академія післядипломної освіти, ТОВ «Вірола+», 2004. – 16 с.

308. Холодкова Е. Л. Проточная цитофлуорометрия как метод рутинного анализа содержания прогениторных клеток в периферической крови / Е. Л. Холодкова, А. И. Пономаренко, Д. М. Пыхтеев // V читання В. В. Підвисоцького: наукова конференція, Одеса, 25-26 травня 2006 р., Одеса : бюлетень матеріалів. – Одеса : Одеський державний медичний університет, 2006. – С. 99 – 100.

309. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (Caelyx/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer / M. E. R. O'Brien, N. Wigler, M. Inbar [et al.] // Annals of Oncology. – 2004. – Vol. 5(3). – P. 440 – 449.

310. Howell S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy / S. Howell, S. Shalet // *Endocrinology and Metabolic Clinics of the North America*. – 1998. – Vol. 27(4). – P. 927 – 943.

311. Howell S. J. Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery / S. J. Howell, S. M. Shalet // *Journal of the National Cancer Institute. Monographs*. – 2005. – Vol. 34. – P. 12 – 17.

312. Arola O. Acute doxorubicine cardiotoxicity involves cardiomyocyte apoptosis / O. Arola, A. Saraste, R. Pulkki // *Cancer Research*. – 2000. – Vol. 60. – P. 1789 – 1792.

313. Трофімова Т.С. Експериментальне дослідження ефективності тіотріазоліну за умов доксорубіцинової кардіоміопатії : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / Т. С. Трофімова. – Одеса, 2008. – 28 с.

314. Сукманский О. И. Изофлавоны и система обызвествленных тканей / О. И. Сукманский // *Успехи физиологических наук*. – 2002. – Т. 33, № 2. – С. 83 – 94.

315. Вплив харчових добавок ЕКСО, БІОТРИТ С, СПЛАТ і їх поєднання на рівень здоров'я осіб молодого віку / О. І. Сукманський, А. П. Левицький, Л. І. Гридїна, О. А. Макаренко // *Лікарська справа. Врачебное дело*. – 2001. - № 4. – С. 159 – 162.

316. Сукманський О. І. Біологічна дія ізофлавонів (огляд літератури та власних досліджень) / О. І. Сукманський // *Журнал АМН України*. – 2002. – Т. 8, № 1. – С. 3 – 13.

317. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц – М. : Практика, 1998. – 459 с.

318. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев: «Морион», 2000. – 320 с.

319. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии / Н. А. Плохинский. – М. : Московский государственный университет, 1989. – 150 с.

320. Влияние экологически неблагоприятных факторов на репродуктивную систему женщины / А. В. Арутюнян, М. Г. Степанов, А. В. Кореневский [и др.] // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. – 1997. – № 4. – С. 28 – 31.

321. Запорожан В. М. Антропогенно залежні стани в акушерстві та гінекології / В. М. Запорожан, В. П. Міщенко. – Одеса : Одеський державний медичний університет, 2001. – 156 с.

322. Жабченко І. А. Вплив деяких пріоритетних забруднювачів довкілля на здоров'я жінок (огляд літератури) / І. А. Жабченко, О. М. Колесник // Український медичний альманах. – 2001. – Т. 4, № 1. – С. 200 – 204.

323. Бугрова Т. И. Обоснование мероприятий по профилактике гиперпластических процессов у женщин репродуктивного возраста, работающих с особыми факторами производства на АЭС / Т. И. Бугрова, А. М. Лягинская // Акушерство и гинекология. – 2003. - № 4. – С. 59 – 62.

324. Kumar S. Occupational exposure associated with reproductive dysfunction / S. Kumar // Journal of Occupational Health. – 2004. – Vol. 46(1). – P. 1 – 19.

325. Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development / W. Reik // Nature. – 2007. – Vol. 447. – P. 425 – 432.

326. EGF, TGF- α and EGFR expression in human preimplantation embryos / Ch. M. Chia, R. M. L. Winston, A. H. Handyside // Development. – 1995. – Vol. 121. – P. 299 – 307.

327. Sun H. Expression of LIF gene during early development of mouse embryo / H. Sun, W. K. Shi // Journal of Experimental Biology. – 1998. – Vol. 31. – P. 105 – 109.

328. Pattern of cytokine expression by rat liver epithelial cells supporting long-term culture of human CD 34+ umbilical cord blood cells / M.

Rialland, A. Corlu, G. Ilyin [et al.] // *Cytokine*. – 2000. – Vol. 12(7). – P. 951 – 959.

329. Brown M. A. Leukemia inhibitory factor and interleukin 6 are expressed at very low levels in the normal adult mouse and are induced by inflammation / M. A. Brown, D. Metcalf, N. M. Gough // *Cytokine*. – 1994. – Vol. 6. – P. 300 – 309.

330. Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice / H. Song, H. Lim, S. K. Das [et al.] // *Molecular Endocrinology*. – 2000. – Vol. 14. – P. 1147 – 1161.

331. Vogiagis D. The role of leukemia inhibitory factor in the establishment of pregnancy / D. Vogiagis, L. A. Salamonsen // *Journal of Endocrinology*. – 1999. – Vol. 160. – P. 181 – 190.

332. Fukada K. Tissue-specific and ontogenetic regulation of LIF protein levels determined by quantitative enzyme immunoassay / K. Fukada, S. Korsching, M. F. Towle // *Growth Factors*. – 1997. – Vol. 14. – P. 279 – 295.

333. Secretion of IL-6, IL-11 and LIF by human cardiomyocytes in primary culture / C. Ancey, P. Corbi, J. Froger [et al.] // *Cytokine*. – 2002. – Vol. 18. – P. 199 – 205.

334. Renal synthesis of leukemia inhibitory factor (LIF), under normal nad inflammatory conditions / D. S. Morel, J. L. Lupin, M. Potier [et al.] // *Cytokine*. – 2000. – Vol.12. – P. 265 – 271.

335. Denervated Schwann cell attract macrophages by secretion of leukemia inhibitory factor (LIF) and monocyte chemoattractant protein-1 in a process regulated by interleukin-6 and LIF / G. K. Tofaris, P. H. Patterson, K. R. Jenssen [et al.] // *Journal of Neurosciences*. – 2002. – Vol. 22. – P. 6696 – 6703.

336. Spontaneous release of leukemia inhibitory factor and oncostatin-M is increased in supernatants of short-term organ cultures from lesional psoriatic

skin / C. Bonifati, A. Mussi, L. D'Auria [et al.] // Archives of Dermatological Research. – 1998. – Vol. 290. – P. 9 – 13.

337. Daley G. Q. Realistic Prospects for stem cell therapeutics / G. Q. Daley, M. A. Goodell, E. Y. Snyder // Hematology. – 2003. – Vol. 1. – P. 398.

338. Косей Н. В. Особливості трофічних змін слизової оболонки вагіни у жінок з природною та хірургічною менопаузою / Н. В. Косей, О. М. Борис, Т. А. Кваша // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2002. – № 2. – С. 93 – 98.

339. Сметник З. П. Неоперативная гинекология: Руководство для врачей / З. П. Сметник, Л. Г. Тумилович. – М. : Мед. информационное агентство, 1998. – 592 с.

340. Барияк І. Р. Генофонд населення України: сучасний стан та нові підходи до проблеми захисту і збереження / І. Р. Барияк, Г. Д. Бердішев, О. В. Бонь // Цитологія і генетика. – 2001. – Т. 35, № 3. – С. 66 – 71.

341. Резолюція XII з'їзду акушерів-гінекологів України «Репродуктивне здоров'я у XXI столітті» // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2006. – № 6. – С. 105 – 107.

342. Inhorn M. C. Global infertility and the globalization of new reproductive technologies: illustrations from Egypt / M. C. Inhorn // Soc Sci Medicine. – 2003. – Vol. 56. – P. 1837 – 1851.

343. Профілактична медицина: система заходів щодо попередження вродженої і спадкової патології серед новонароджених / О. І. Тимченко, Н. Г. Гойда, В. В. Єлагін, Т. М. Поканевич // Охорона здоров'я України. – 2003. – № 3. – С. 43 – 47.

344. Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации) / Под ред. О. В. Стефанова. – К. : Авицена, 2001. – 528 с.

345. Лужников Е. А. Клиническая токсикология / Е. А. Лужников. – М. : Медицина, 1999. – 368 с.

346. Вплив тіотриазоліну на перебіг вільнорадикальних процесів при моделюванні доксорубіцинової хронічної кардіоміопатії / Т. С. Трофімова, Н. М. Юрченко, І. С. Чекман, М. О. Авраменко // Запорозький медичинський журнал. – 2004. – № 4. – С. 141 – 143.

347. Regulation of Sertoli-germ cell adherens junction dynamics via changes in protein-protein interactions of the N-cadherin-beta-catenin protein complex which are possibly mediated by c-Src and myotubularin-related protein 2: an in vivo study using an androgen suppression model / J. Zhang, C. H. Wong, W. Xia [et al.] // *Endocrinology*. – 2005. – Vol. 146(3). – P. 1268 – 1284.

348. Холодкова О. Л. Стан репродуктивної функції самців білих мишей лінії ICR за умов адрибластинової інтоксикації / О. Л. Холодкова // Вісник наукових досліджень. – 2006. – № 3. – С. 150 – 151.

349. Димитриев Д. А. Проблемы оценки влияния окружающей среды на репродуктивное здоровье / Д. А. Димитриев // Гигиена и санитария. – 1997. – № 5. – С. 52 – 54.

350. The nitric oxide theory of aging revisited / S. M. McCann, C. Mastronardi, A. de Laurentis, V. Rettori // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2005. – Vol. 1057. – P. 64 – 84.

351. Partial coexistence of NADPH-diaphorase and somatostatin in the rat hypothalamic paraventricular nucleus / J. R. Alonso, F. Sanches, R. Arevaldo [et al.] // *Neurosciences Letters*. – 1992. – Vol. 148, # 1 – 2. – P. 101 – 104.

352. Lloyd R. V. Nitric oxide synthase in the human pituitary gland / R. V. Lloyd // *American Journal of Pathology*. – 1995. – Vol. 146. – P. 86 – 94.

353. Малышев И. Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И. Ю. Малышев, Е. Б. Манухина // *Биохимия*. – 1998. – Т. 63, вып. 7. – С. 992 – 1006.

354. Зозуля Ю. А. Мультифункциональность и метаболизм оксида азота в центральной нервной системе (обзор литературы) / Ю. А. Зозуля, Л. Н. Сенько // *Журнал АМН України*. – 2000. – Т. 6, № 1. – С. 3 – 25.

355. Вплив L-аргініну на вікові зміни процесів пероксидного окислення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту у тканинах щурів / К. Мура щук, О. Іккерт, М. Гальків, С. Гордій // Український біохімічний журнал. – 2007. – Т. 79, № 3. – С.38 – 43.

356. Alderton W. K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W. K. Alderton, C. E. Cooper, R. G. Knowles // *Biochemistry Journal*. – 2001. – Vol. 357. – P. 593 – 615.

357. Покровский В. И. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства / В. И. Покровский, Н. А. Виноградов // *Терапевтический архив*. – 2005. - № 1. – С. 82 – 87.

358. Dawson V. L. Nitric oxide. Role in neurotoxicity / V. L. Dawson // *Clinical and Experimental Pharmacology*. – 1995. – Vol. 22, # 4. – P. 305 – 308.

359. Iadecola C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury / C. Iadecola // *Trends in Neurosciences*. – 1997. – Vol. 20, # 1. – P. 132 – 139.

360. Nicotera P. Mechanisms for nitric oxide-induced cell death: Involvement of apoptosis / P. Nicotera, E. Bonfoco, B. Brune // *Advances in Neuroimmunology*. – 1995. – Vol. 5, # 4. – P. 411 – 420.

361. Interleukin-4 and interleukin-10 modulate nuclear factor kappa B activity and nitric oxide synthase-2 expression in Theiler's virus-infected brain astrocytes / E. Molina-Holgado, A. Arvalo-Martin, A. Castrillo [et al.] // *Journal of Neurochemistry*. – 2002. – Vol. 86. – P. 1242 – 1252.

362. Тэйлор Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б. С. Тэйлор, Л. Х. Аларсон, Т. Б. Биллиар // *Биохимия*. – 1998. – № 7. – С. 905 – 923.

363. Turner S. Nitric oxide synthase activity in adrenocorticotropin-induced hypertension in the rat / S. Turner, G. Mangos, J. Whitworth // *Clinical and Experimental Physiology*. – 2001. – Vol. 28. – P. 881 – 883.

364. Alterations of the nitric oxide pathway in cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats / A. Briones, M. J. Alonso, R. Hernanz // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2002. – Vol. 39. – P. 378 – 388.

365. Оленев С. Н. Клеточные технологии и современная медицина / Н. А. Онищенко // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2004. - № 1. – С. 2 – 10.

366. Anatomical perspectives on adult neural stem cells / C. Watts, H. McConcey, L. Anderson [et al.] // *Journal of Anatomy*. – 2005. – Vol. 207. – P. 197 – 208.

367. Mimeault M. Concise review: Recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapy / M. Mimeault, S. K. Batra // *Stem Cells*. – 2006. – Vol. 24. – P. 2319 – 2345.

368. Kholodkova O. L. Systemic heterochronic incompatibility: the problem that should be solved / V. M. Zaporozhan, O. L. Kholodkova, D. M. Pykhtyeyev [et al.] // *Cytherapy*. – 2004. – Vol. 6. – № 3. – P. 280 (International Conference “Strategies in Tissue Engineering”, June 17-19, 2004, Wurzburg, Germany : abstracts).

369. Kholodkova O. L. Heterochronic incompatibility can become a cause of cellular therapy inefficiency / V. Zaporozhan, E. Kholodkova, D. Pykhtyeyev, E. Deriabina, T. Titok, S. Ruban, E. Sukhorada, V. Kordyum // 5th European congress of biogerontology, 16-20 September, 2006, Istanbul, Turkey : abstracts. – Istanbul, 2006. – P.91.

370. Pattern of cytokine expression by liver epithelial cells supporting long-term culture of human CD34⁺ umbilical cord blood cells / M. Rialland, A. Corlu, G. Ilyin [et al.] // *Cytokine*. – 2000. – Vol. 12(7). – P. 951 – 959.

371. Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice / H. Song, H. Lim, S. K. Das [et al.] // *Molecular Endocrinology*. – 2000. – Vol. 14. – P. 1147 – 1161.

372. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia-inhibitory factor / C. L. Stewart, P. Kaspar, L. j. Brunet [et al.] // *Nature*. – 1992. – Vol. 359. – P. 76 – 79.

373. Feghali C. A. Cytokines in acute and chronic inflammation / C. A. Feghali, T. M. Wright // *Frontiers in bioscience*. – 1997. – Vol. 2. – P. 12 – 26.

374. Epidermal growth factor receptor mRNA and protein increase after the four –cell preimplantation stage in murine development / L. M. Wiley, J.-X. Wu, I. Harari, E. D. Adamson // *Developmental Biology*. – 1992. – Vol. 149. – P. 247 – 260.

375. Constitutive expression of TNF-alpha and beta genes in mouse embryo: roles of cytokines as regulator and effector on development / C. Kohchi, K. Noguchi, Y. Tanabe, G. Soma // *International Journal of Biochemistry*. – 1994. – Vol. 26 (1). – P. 111 – 119.

376. Human embryonic germ cell derivatives facilitate motor recovery of rats with diffuse motor neuron injury / D. A. Kerr, J. Llado, M. J. Shamblott [et al.] // *Journal of Neurosciences*. – 2003. – Vol. 23. – P. 5131 – 5140.

377. Endogenous Granulocyte-Macrophage colony-stimulating factor overexpression in vivo results in the long-term recruitment of a distinct dendritic cell population with enhanced immunostimulatory function / G. Miller, V. G. Pillarisetty, a. B. Shah [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2002. – Vol. 169. – P. 2875 – 2885.

378. Effects of interleukins, colony-stimulating factor and tumor necrosis factor on human hair follicle growth in vitro: a possible role for interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha in alopecia areata / M. P. Philpott, D. A. Sanders, J. Bowen [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 1996. – Vol. 135. – P. 942 – 948.

379. Cytokines and signal transduction pathways mediated by anthralin in alopecia areata-affected Dundee experimental balding rats / L. Tang, L. Cao, S. Pelesh [et al.] // *Journal of Investigation. Dermatology Symposia Procedures*. – 2003. – Vol. 8 (1). – P. 87 – 90.

380. Restoration of hair growth in mice with an alopecia areata-like disease using topical anthralin / L. Tang, L. Cao, J. P. Sundberg [et al.] // *Experimental dermatology*. – 2004. – Vol.13(1). – P. 5 – 10.

381. De M. Interleukin-1, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha are produced in the mouse uterus during the estrus cycle and are induced by estrogen and progesterone / M. De, T. R. Sanford, G. W. Wood // *Developmental Biology*. – 1992. – Vol. 151(1). – P. 297 – 305.

382. Roby K. F. Mouse endometrial tumor necrosis factor-alpha messenger ribonucleic acid and protein / K. F. Roby, J. S. Hunt // *Endocrinology*. – 1994. – Vol.135(6). – P. 2780 – 2789.

383. Expression and localization of messenger RNA for tumor necrosis factor receptor (TNF-R) and TNF-RII in pregnant mouse uterus and placenta // K. F. Roby, N. Laham, H. Kroning [et al.] // *Endocrinology*. – 1995. – Vol. 3(8). – P. 557 – 562.

384. Effects of transforming growth facto-beta 1 on renal extracellular matrix components and their regulating proteins / J. A. Douthwaite, T. S. Johnson, J. L. haylor [et al.] // *Journal of American Society of Nephrology*. – 1999. – Vol. 10. – P. 2109 – 2119.

385. Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome and type IV collagen / B. G. Hudson, K. Tryggvason, M. Sundaramoorthy, E. G. Neilson // *New England Journal of Medicine*. – 2003. – Vol. 348. – P. 153 – 156.

386. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis / M. Iwano, D. Plieth, T. M. Danoff [et al.] // *Journal of Clinical Investigations*. – 2002. – Vol. 110. – P. 341 – 350.

387. BMP-7 counteracts TGF-beta 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury / M. Zeisberg, J. Hanai, H. Sugimoto [et al.] // *Nature Medicine*. – 2003. – Vol. 9(7). – P. 964 – 968.

388. Beyaert R. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor-induced cytotoxicity. What we do understand and what we do not / R. Beyaert, W. Fiers // *FEBS Letters*. – 1994. – Vol. 340(1-2). – P. 9 – 16.

389. Protection against TNF-induced liver parenchymal cell apoptosis during endotoxemia by a novel caspase inhibitor in mice / H. Jaeschke, A. Farhood, S. X. Cai [et al.] // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 2000. – Vol. 169(1). – P. 77 – 83.

390. Murine hepatocyte apoptosis induced in vitro and in vivo by TNF- α requires transcriptional arrest / M. Leist, F. Gantner, I. Boldinger [et al.] // *Journal of Immunology*. – 1994. – Vol. 153(4). – P. 1778 – 1788.

391. Kroemer G. Mitochondrial control of cell death / G. Kroemer, J. C. Reed // *Nature Medicine*. – 2000. – Vol. 6. – P. 513 – 519.

392. Galun E. The role of cytokines in liver failure and regeneration: potential new molecular therapies / E. Galun, J. H. Axelrod // *Biochimistry and Biophysics Acta*. – 2002. – Vol. 1592(3). – P. 345 – 358.

393. Border W. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis / W. Border, N. A. Noble // *the New England Journal of Medicine*. – 1994. – Vol. 331. – P. 1286 – 1292.

394. Mechanisms of hepatocyte growth factor–mediated and epidermal growth factor–mediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium / P. B. Limaye, W. C. Bowen, A. V. Orr [et al.] // *Hepatology*. – 2008. – Vol. 47(5). – P. 1702 – 1713.

395. Multiple doses of erythropoietin impair liver regeneration by increasing TNF- α , the Bax to Bcl-xL ratio and apoptotic cell death / K. Klemm, Ch. Eipel, D. Cantré [et al.] // *PLoS ONE*. – 2008. – Vol. 3(12). – e3924.

396. Changes in growth factor and cytokine expression in biliary obstructed rat liver and their relationship with delayed liver regeneration after partial hepatectomy / H. Makino, H. Shimizu, H. Ito [et al.] // *World Journal of Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 12(13). – P. 2053 – 2059.

397. Wirtz S. Gene transfer approaches for the treatment of inflammatory bowel disease / S. Wirtz, M. F. Neurath // *Gene Therapy*. – 2003. – Vol. 10. – P. 854 – 860.

398. Zeisberg M. Renal fibrosis: an update / M. Zeisberg, F. Shutz, G. A. Muller // *Current Opinions on Nephrology and Hypertension*. – 2001. – Vol. 10. – P. 315 – 320.

399. Mesenchymal stromal cells can be derived from bone marrow CD133+ cells: implications for therapy / M. Pozzobon, M. Piccoli, A. Ditadi // *Stem Cells and Development*. – 2009. – Vol. 18(3). – P. 497 – 510.

400. Daley G. Q. Realistic Prospects for Stem Cell Therapeutics // G. Q. Daley, M. A. Goodell, E. Y. Snyder // *Hematology*. – 2003(1). – P. 398.

401. Song L. Transdifferentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow / L. Song, R. S. Tuan // *FASEB Journal*. – 2004. – Vol. 18(9). – P. 980 – 982.

402. Petersen B. E. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells / B. E. Petersen, W. C. Bowen, K. D. Patrene // *Science*. – 1999. – Vol. 84. – P. 1168 – 1170.

403. Porada C. D. Adult mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications / C. D. Porada, E. D. Zanjani, G. Almeida-Porad // *Current Stem Cell Research and Therapy*. – 2006. – Vol. 1(3). – P. 365 – 399.

404. Engraftment of donor-derived epithelial cells in multiple organs following bone marrow transplantation into newborn mice / E. M. Bruscia, E. C. Zeigler, J. E. Price [et al.] // *Stem Cells*. – 2006. – Vol. 24. – P. 2299 – 2308.

405. Evidence for cardiomyocyte repopulation by extracardiac progenitors in transplanted human hearts / M. A. Laflamme, D. Myerson, J. E. Saffitz [et al.] // *Circulation Results*. – 2002. – Vol. 90. – P. 634 – 640.

406. Cardiac chimerism as a mechanism for self-repair: does it happen and if so to what degree? / D. A. Taylor, R. Hurban, R. Rodriguez [et al.] // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106. – P. 2 – 4.

407. Strauer B. E. Stem cell therapy in perspective / B. E. Strauer, R. Kornowski // *Circulation*. – 2003. – Vol. 107. – P. 929 – 938.

408. Кухарчук А. Л. Регенеративная медицина: направления, достижения, проблемы и перспективы развития. Часть I: принципы и методы / А. Л. Кухарчук, В. В. Радченко, В. М. Сирман // Український медичний часопис. – 2004. - № 2 (40). – С. 70 – 77.

409. Thorgeisson S. S. Hepatic stem cells in liver regeneration / S. S. Thorgeisson // FASEB Journal. – 1996. – Vol. 10. – P. 1249 – 1256.

410. Petersen B. E. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells / B. E. Petersen, W. C. Bowen, K. D. Patrene // Science. – 1999. – Vol. 284. – P. 1168 – 1170.

411. Павленко Г. И. Актуальные вопросы оценки опасности влияния экзогенных веществ на репродуктивную функцию / Г. И. Павленко, И. В. Силантьева, В. Н. Фоменко // Токсикологический вестник. – 1997. - № 6. – С. 12 – 17.

412. Setchell K. D. R. Dietary isoflavons: biological effects and relevance to human health // Nutrition. – 1999. – Vol. 129. – P. 758 – 767.

413. Левицкий А. П. Фитоэстрогены (биохимия, фармакология, применение в медицине) / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. И. Сукманский ; АМН Украины, Институт стоматологии. – Одесса : Моряк, 2002. – 96 с.

414. Molteni A. In vitro hormonal effects of soybean isoflavons / A. Molteni, L. Brizio-Molteni, V. Persky // Nutrition. – 1995. – Vol. 125. – P. 751 – 756.

415. Interactions between phytoestrogens and human sex steroid binding protein / M. E. Martin, M. Haourigui, C. Pelissero [et al.] // Life Sciences. – 1996. – Vol. 58, # 5. – P. 429 – 436.

416. Морфологічні зміни ендо- і міометрія щурів після оваріоектомії та введення ЕКСО / І. М. Мойсєєв, А. П. Левицький, О. Л. Холодкова [та ін.] // Досягнення біології та медицини. – 2005. - № 2(6). – С. 19 – 22.