

**ВПЛИВ КРІОЕКСТРАКТУ СПІНАЛЬНИХ ГАНГЛІЇВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЯЄЧНИКІВ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

<sup>1</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків)

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна (м. Харків)

nesterukhanna@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи «Властивості кріоконсервованих первинних культур клітин ендокринних залоз неонатальних тварин *in vitro* і *in vivo* при трансплантації», № державної реєстрації 0116U003494.

**Вступ.** Як відомо, активація примордіальних фолікулів яєчників відбувається спорадично і незалежно від гормональних впливів. Поглиблення знань про механізми, що регулюють вступ примордіальних фолікулів у період подальшого розвитку, можуть бути важливими для розуміння факторів, які приводять до раннього виснаження яєчників та передчасної менопаузи у жінок репродуктивного віку.

Згідно сучасних уявлень, на роль активаторів виходу примордіальних фолікулів з дормантного стану пропонується ціла низка біологічно активних речовин, однак конкретний механізм досі не виявлено. Зокрема, встановлено, що важливими для росту фолікулів є фактор росту ендотелію судин (VEGF), BMP4, BMP7, BMP15, основний фактор росту фібробластів (bFGF), фактор росту кератиноцитів (KGF), представники сімейств інсуліно-подібних факторів (IGF) та трансформуючих факторів росту (TGF), епідермальний фактор росту (EGF) [1,2,3].

Особлива роль у розвитку та функціонуванні жіночої репродуктивної системи належить сімейству нейротрофічних факторів (НФ): фактору росту нервів (NGF), нейротропному фактору мозку (BDNF), нейротрофінам 3 та 4/5 (NT-3 та NT-4/5), гліальному нейротрофічному фактору (GDNF) [4,5,6,7]. НФ беруть участь у первинній збірці фолікулів яєчників та подальшому фолікулогенезі, сприяють овуляторному процесу та секреції стероїдних гормонів, стимулюють проліферацію клітин теки та гранульози [8]. При цьому інтраоваріальний надлишок NGF вважається однією з причин виникнення полікістозу яєчників [9,10,11].

В останні роки встановлено, що інгібування РТЕН та активація РІЗ-кінази, які є основними позитивними та негативними регуляторами внутрішньоклітинного сигнального шляху РІЗК/АКТ, приводить до виходу примордіальних фолікулів яєчників у фазу подальшого росту [12]. З іншого боку, біологічна дія НФ, зокрема NGF та BDNF, реалізується в тому числі й через активацію РІЗК/Акт-шляху [13]. З віком спостерігається трансформація рецептор-опосередкованих шляхів сигналіну, що може реалізуватися у порушенні природних механізмів регуляції проліферації/апоптозу клітин та виникненні патологій [14]. Отже, вплив НФ на фолікулогенез у яєчниках може мати вікові особливості.

**Мета дослідження** – дослідити вплив кріоекстракту спінальних гангліїв (КЕСГ) як композиції, яка

містить НФ, на структурно-функціональні характеристики яєчників щурів різного віку.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експерименти проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) при дотриманні вимог Комітету з біоетики Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (ІПКіК НАНУ), узгоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

В експериментах використовували білих безпородних щурів-самиць 6 і 14 місяців, що відповідає репродуктивному віку (РВ) та пізньому репродуктивному віку (ПРВ) у цього виду тварин [15]. Експеримент проводили у лютому та березні місяцях. Тварин утримували у віварії ІПКіК НАНУ при температурі повітря 18±2°C у приміщенні, в якому дотримувалися природного режиму освітлення.

Кріоекстракт готували із спінальних гангліїв неонатальних поросят як описано у роботі [16]. Перед використанням його розводили фізіологічним розчином (ФР) так, що концентрація білка становила 0,3 мг/мл. КЕСГ вводили внутрішньочеревно впродовж 9 днів по 0,2 мл/тварину. У якості контролю використовували щурів з введенням ФР. Введення КЕСГ або ФР починали в еструсі.

Для визначення фаз естрального циклу (ЕЦ) щоденно о 10-й годині ранку брали мазки з піхви щурів та вивчали їх цитологічним методом [17]. Моніторинг ЕЦ вели 2 тижні до введення, під час введення та протягом 20 днів після введення КЕСГ. Тривалість ЕЦ визначали як середнє арифметичне для тварин у групі. Відносну кількість фаз еструсу та дієструсу визначали як відношення сумарної кількості днів, коли фіксувалася фаза, до загальної кількості днів спостереження, та виражали у відсотках. Відносну кількість іррегулярних естральних циклів (ІЕЦ) визначали як відношення кількості циклів, в яких спостерігалось випадіння або пролонгування фаз, до загальної кількості ЕЦ, та виражали у відсотках.

Тварин забивали на 28-29 добу після початку введення КЕСГ або ФР. Для гістологічних досліджень яєчники фіксували у 10%-му нейтральному формаліні. Виготовляли 9-12 серійних гістологічних зрізів товщиною 7 мкм з одного яєчника, при цьому різали яєчник цілком, дотримуючись однакових інтервалів між зрізами. Зрізи забарвлювали гематоксиліном/еозином за загальноприйнятою методикою і досліджували за допомогою світлового мікроскопа AmScope XYL-403 (КНР) та програми AxioVision Rel. 4.8.

Як відомо, існує декілька класифікацій фолікулів яєчників в залежності від розміру, форми, кількості

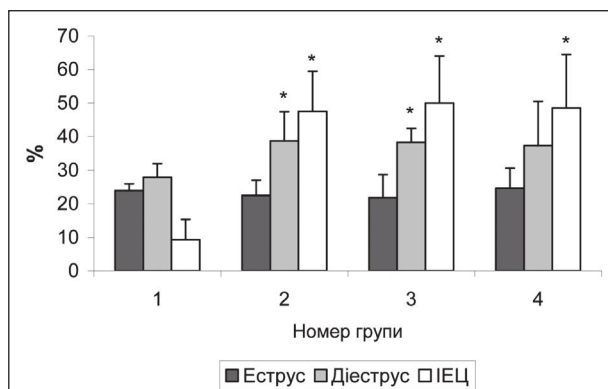


Рисунок 1 – Показники ЕЦ у щурів різного віку при введенні ФР або КЕСГ.

Примітка: \* – показник значуще відрізняється в порівнянні з показником 1-ї групи,  $p < 0,05$ .

фолікулярних клітин та наявності фолікулярної порожнини (антруму) [18,19,20,21]. Оскільки у фокусі представлені стадії розвитку фолікулів, було окремо проаналізовано кількість примордіальних фолікулів (ооцит, оточений одним шаром плоских фолікулярних клітин), та первинних фолікулів (ооцит, оточений одним або декількома шарами кубічних фолікулярних клітин). Антральні фолікули різного ступеню зрілості (від тих, що містять фолікулярну порожнину невеликих розмірів, до Граафових пухирців) підраховували разом. Для того, щоб кожний фолікул у яєчнику було підраховано лише одноразово, на гістологічному зрізі у підрахунок брали лише фолікули з ооцитом.

Ідентифікацію атретичних фолікулів здійснювали відповідно до робіт Hirshfield A. та спів., Wang W. та спів., Sharma D. та спів. [22,23,24,25].

В експерименті були використані наступні групи тварин: 1 – РВ з введенням ФР ( $n = 8$ ); 2 – РВ з вве-

денням КЕСГ ( $n = 8$ ); 3 – РВ з введенням ФР ( $n = 8$ ); 4 – РВ з введенням КЕСГ ( $n = 8$ ).

Для статистичного аналізу даних використовували програму Statistica 10 («StatSoft», США). Результати представляли у вигляді  $Me \pm IP$  ( $Me$  – медіана,  $IP$  – інтерквартильний розмах). Статистичну значущість відмінностей між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Введення КЕСГ щурам РВ супроводжувалося збільшенням тривалості ЕЦ з  $4,0 \pm 0$  діб у щурів 1-ї групи до  $5,0 \pm 1,0$  діб у щурів 2-ї групи. Спостерігалось підвищення кількості ІЕЦ за рахунок дієструсу (рис. 1). На відміну від щурів РВ, у щурів РВ 3-ї та 4-ї груп не встановлено істотного пролонгування ЕЦ в залежності від введення КЕСГ:  $4,0 \pm 1,0$  та  $4,0 \pm 2,0$ , відповідно. Зростання кількості ІЕЦ з перебільшенням фази дієструсу в їхньої структурі відбувалося у тварин РВ обох груп (рис. 1).

У щурів 1-ї групи яєчники мали нормальну гістологічну будову (рис. 2, а). Зовні яєчники вкриті одношаровим кубічним гермінативним епітелієм, під яким розміщена слабо васкуляризована, щільна сполучнотканнна білкова оболонка. У кожному яєчнику добре розрізняється периферична коркова та центральна мозкова речовина. Строма органу утворена неоформленою волокнистою сполучною тканиною з великою кількістю веретеноподібних інтерстиціальних клітин; у медулярній речовині добре помітні судини артеріального, венозного, лімфатичного типу та нерви. В органі спостерігаються фолікули округлої форми різного ступеня зрілості, атретичні фолікули та велика кількість функціональних та регресуючих жовтих тіл різного розміру (рис. 2, б).

В яєчниках тварин виявлялися фолікули на різних стадіях атрезії. Атретичні фолікули характеризувалися пікнозом гранульозних клітин, мереживоподібною структурою гранульозного шару внаслідок втрати міжклітинних контактів, наявністю апоптичних тіл, розірваним і нечітким контуром антрума, присутністю апоптичних тіл, сплюсненням шару гранульозних клітин та утворенням «бісерної строки» (string of beads), стоншенням або руйнуванням гранульозних клітин яйценосного бугорка, дегенеративними змінами в ооциті (зморщення, втрата ядерної оболонки та ооплазми) або його фрагментацією (рис. 2, в). Маленькі атретичні фолікули мали неправильну форму, гранульозні клітини в них були відсутні, гіпертрофовані клітини теки заміщувалися стромальною інтерстиціальною тканиною.

Гістологічна будова яєчників щурів 2-ї, 3-ї та 4-ї груп мала риси, характерні для яєчників тварин 1-ї групи. Однак у тварин, яким вводили КЕСГ (2-а та 4-а групи), серед атретичних фолікулів переважали фолікули на стадії швидкої дегенерації та елімінації гранульозних клітин, тоді як у групах з введенням ФР (1-а та 3-я група) більшість фолікулів знаходилася на пізній стадії атрезії з утворенням маленьких

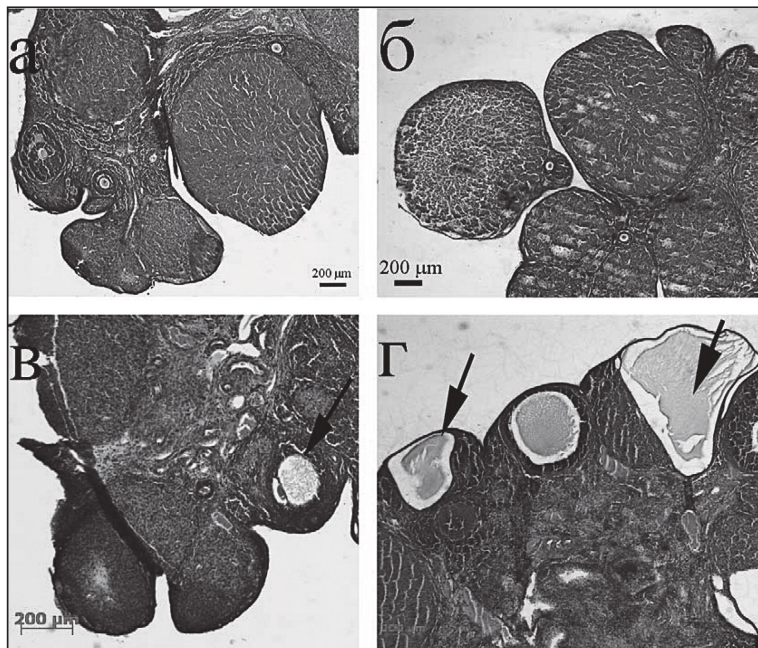


Рисунок 2 – Мікрофотографії гістологічних препаратів яєчників щурів різного віку після введення ФР або КЕСГ: А – фолікули різного ступеня зрілості та жовті тіла в яєчнику щура 1-ї групи; Б – функціональні та регресуючі жовті тіла в яєчнику щура 3-ї групи; В – атретичний фолікул зі сплюсненням та руйнуванням шару гранульозних клітин, дегенеративними змінами ооциту (стрілка); Г – фолікулярні кісти (стрілки) та добре розвинені кровоносні судини в яєчнику щура 4-ї групи.

фолікулів та заміщенням інтерстиціальною тканиною.

У тварин ПРВ з введенням ФР (3-я група) та з введенням КЕСГ (2-а та 4-а групи) спостерігалися фолікулярні кісти різного розміру з тонкою стінкою, зовні вкритою тонким фіброзним шаром, а з внутрішньої сторони – плоскими фолікулярними клітинами, заповнені фолікулярною рідиною (рис. 2, г). У тварин 4-ї групи (ПРВ з введенням КЕСГ) рідко зустрічалися кісти жовтого тіла, стінка яких була сформована декількома шарами гранульозних клітин полігональної форми з пінистою, вакуолізованою, оксифільною цитоплазмою, заповнені рідиною або кров'ю. Крім того, яєчники тварин 2-ї та 4-ї груп після введення КЕСГ характеризувалися підвищеною кількістю кровоносних судин, переважно вен, які у просвіті були заповнені еритроцитами.

Кількісний аналіз гістологічних показники яєчників не показав статистично значущих відмінностей у загальній кількості фолікулів між тваринами усіх груп (таблиця).

Введення КЕСГ не приводило до статистично значущих змін у кількості первинних фолікулів, функціональних і регресуючих жовтих тіл та кіст у яєчниках.

Однак у тварин 2-ї та 4-ї груп після введення КЕСГ спостерігалось статистично значуще зменшення пулу примордіальних фолікулів на 29,1 та 22,2% в порівнянні з групами тварин відповідного віку, яким вводили ФР. Також у щурів РВ після введення КЕСГ (група 2) відбувалося зменшення кількості антральних фолікулів в порівнянні з тваринами 1-ї групи.

Введення КЕСГ індукувало статистично значуще збільшення кількості атретичних фолікулів на 45% (група 2) та 40% (група 4) в порівнянні з групами тварин того ж віку, яким вводили ФР (групи 1 та 3).

Таким чином, зміна у інтраоваріальному фолікулярному пулі після застосування КЕСГ викликала порушення ЕЦ у щурів РВ. Підвищена кількість ІЕЦ також спостерігалася у щурів ПРВ й без введення КЕСГ, що узгоджується з попередніми даними про вікові змінення ЕЦ у цих тварин [26]. Цікаво, що спрямованість КЕСГ-індукованих змін ЕЦ збігалася з тими, які відбуваються з віком.

Застосування КЕСГ зменшувало кількість примордіальних фолікулів у яєчниках, що свідчить про його стимулюючий ефект на вихід фолікулів з дормантного стану. Цей ефект не залежав від віку досліджуваних тварин. Разом з цим, КЕСГ підвищував кількість атретичних фолікулів. Це може бути пов'язано з вста-

Таблиця – Кількісні гістологічні показники яєчників щурів різного віку після введення ФР або КЕСГ

Показник	РВ		ПРВ	
	ФР (1-а група)	КЕСГ (2-а група)	ФР (3-я група)	КЕСГ (4-а група)
Кількість фолікулів/яєчник	50,0±	43,5±	44,5±	43,0±
Примордіальні фолікули	27,5±	19,5±	22,5±	17,5±
Первинні фолікули	4,5±	3,0±	3,5±	3,0±
Антральні фолікули	9,5±	8,2±	8,5±	8,0±
Атретичні фолікули	9,0±	14,0±	10±	16,0±
Функціональні жовті тіла	15,0±	14,0±	14,0±	13,0±
Регресуючі жовті тіла	13,5±	14,0±	14,0±	8,5±
Кісти	-	1,5±	3,0±	2,0±

Примітка: \* – показник тварин групи з введенням КЕСГ значуще відрізняється по відношенню до показника групи тварин з введенням ФР,  $p < 0,05$ .

новленим раніше фактом про те, що надлишок NGF індукує «арест» антральних фолікулів на проміжних стадіях росту та приводить до накопичення у яєчниках антральних фолікулів середнього розміру, більшість з яких пізніше піддається атрезії [9]. Ймовірно з цим, в наших дослідженнях встановлено зменшення пулу антральних фолікулів у тварин РВ після введення КЕСГ.

Відомо, що кісти у яєчниках щурів виникають внаслідок порушення овуляції в ході старіння та гормонального дисбалансу [27,28]. В наших дослідженнях вікові зміни у щурів ПРВ в порівнянні з тваринами РВ виражалися у тенденції до підвищенні кількості кіст. Однак, незважаючи на раніше отримані дані про те, що підвищення інтраоваріального рівню NGF приводить до кістоутворення [9,10,11], у тварин з введенням КЕСГ статистично значущих відмінностей цього показника не було виявлено.

**Висновок.** Застосування КЕСГ у щурів репродуктивного (6 місяців) та пізнього репродуктивного (14 місяців) віку стимулює примордіальні фолікули яєчників до подальшого розвитку, однак у той же час приводить до підвищення процесів фолікулярної атрезії, особливо на антральній стадії. Отриманий ефект не залежить від віку досліджуваних тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** Оскільки використаний у роботі КЕСГ є складною композицією, необхідні подальші дослідження для встановлення біологічно активних компонентів, які відповідають за встановлені ефекти.

## Література

1. Hsueh AJ, Kawamura K, Cheng Y, Fauser BC. Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr Rev.* 2015;36(1):1-24. DOI: 10.1210/er.2014-1020
2. Oropeza A, Wrenzycki C, Herrmann D. Improvement of the developmental capacity of oocytes from prepubertal cattle by intraovarian insulin-like growth factor-I application. *BiolReprod.* 2004;70(6):1634-43.
3. Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *Am J Hum Genet.* 2004;75(1):106-11.
4. Dissen GA, Romero C, Hirshfield AN, Ojeda SR. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology.* 2001;142(5):2078-86. DOI: 10.1210/endo.142.5.8126
5. Kerr B, Garcia-Rudaz C, Dorfman M, Paredes A, Ojeda SR. NTRK1 and NTRK2 receptors facilitate follicle assembly and early follicular development in the mouse ovary. *Reproduction.* 2009;138(1):131-40. DOI: 10.1530/REP-08-0474
6. Nilsson E, Dole G, Skinner MK. Neurotrophin NT3 promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Reproduction.* 2009;138(4):697-707. DOI: 10.1530/REP-09-0179
7. Dole G, Nilsson EE, Skinner MK. Glial-derived neurotrophic factor promotes ovarian primordial follicle development and cell-cell interactions during folliculogenesis. *Reproduction.* 2008;135(5):671-82. DOI: 10.1530/REP-07-0405

8. Streiter S, Fisch B, Sabbah B, Ao A, Abir R. The importance of neuronal growth factors in the ovary. *Mol Hum Reprod.* 2016;22(1):3-17. DOI: 10.1093/molehr/gav057
9. Disson GA, Garcia-Rudaz C, Paredes A, Mayer C, Mayerhofer A, Ojeda SR. Excessive ovarian production of nerve growth factor facilitates development of cystic ovarian morphology in mice and is a feature of polycystic ovarian syndrome in humans. *Endocrinology.* 2009;150(6):2906-14. DOI: 10.1210/en.2008-1575
10. Disson GA, Lara HE, Leyton V, Paredes A, Hill DF, Costa ME, et al. Intraovarian excess of nerve growth factor increases androgen secretion and disrupts estrous cyclicity in the rat. *Endocrinology.* 2000;141(3):1073-82. DOI: 10.1210/endo.141.3.7396
11. Lara HE, Disson GA, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler JL, Ojeda SR. An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. *Endocrinology.* 2000;141(3):1059-72. DOI: 10.1210/endo.141.3.7395
12. Li J, Kawamura K, Cheng Y, Liu S, Klein C, Liu S, et al. Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107(22):10280-4. DOI: 10.1073/pnas.1001198107
13. Marlin MC, Li G. Biogenesis and function of the NGF/TrkA signaling endosome. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2015;314:239-57. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2014.10.002
14. Jackson TC, Rani A, Kumar A, Foster TC. Regional hippocampal differences in AKT survival signaling across the lifespan: Implications for CA1 vulnerability with aging. *Cell Death and Differentiation.* 2009;16(3):439-48. DOI: 10.1038/cdd.2008.171
15. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med.* 2013;4(6):624-30.
16. Globa VYu, Bondarenko TP, Ali SG, Bozhok GA, Legach EI. Sokratitel'naya aktivnost' detruzora krysa s infravezikal'noy obstruktsiyey posle vvedeniya kriоекстракта spinal'nykh gangliyev i biologicheskii aktivnykh produktov kul'tury mantiynykh gliotsitov. *Problemy kriobiologii i kriomeditsyny.* 2019;29(2):164. DOI: org/10.15407/cryo29.02.164 [in Russian].
17. Kotelnikov AV, Kotelnikova SV. Kharakteristika estral'nogo tsikla belykh krysa na raznykh etapakh ontogeneza pri vvedenii vitamina E. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta.* 2005;3(26):215-8. [in Russian].
18. Zeleznik AJ. The physiology of follicle selection. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;2:31. DOI: 10.1186/1477-7827-2-31
19. Pedersen T, Peters H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J Reprod Fertil.* 1968;17(3):555-7. DOI: 10.1530/jrf.0.0170555
20. Emori C, Sugiura K. Role of oocyte-derived paracrine factors in follicular development. *Anim Sci J.* 2014;85(6):627-33. DOI: 10.1111/asj.12200
21. Ross MH, Pawlina W. *Histology A text and atlas with correlated cell and molecular biology*, 6th Edition. Philadelphia Lip pincott Williams & Wilkins. 2010: 974 p.
22. Hirshfield AN. Size-frequency analyses of atresia in cycling rats. *Biology of Reproduction.* 1988;38:1181-8.
23. Hirshfield AN, Rees Midgley A. Morphometric analysis of follicular developments of rats. *Biology of Reproduction.* 1978;19:597-605.
24. Sharma D, Sangha GK, Khera KS. Triazophos-induced oxidative stress and histomorphological changes in ovary of female Wistar rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 2015;117:9-18.
25. Wang W, Liu H, Tian W, Zhang F, Gong Y, Chen J, et al. Morphologic observation and classification criteria of atretic follicles in guinea pig. *J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol).* 2010;11(5):307-14.
26. LeFevre J, McClintock MK. Reproductive senescence in female rats: a longitudinal study of individual differences in estrous cycles and behavior. *Biol Reprod.* 1988;38(4):780-9.
27. Acuna E, Fornes R, Fernandois D, Garrido MP, Greiner M, Lara HE, Paredes AH. Increases in norepinephrine release and ovarian cyst formation during ageing in the rat. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:64.
28. Dixon D, Alison R, Bach U, Colman K, Foley GL, Harleman JH, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse female reproductive system. *J Toxicol Pathol.* 2014;27(3-4):1-107.

### **ВПЛИВ КРІОЕКСТРАКТУ СПІНАЛЬНИХ ГАНГЛІВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЯЄЧНИКІВ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

**Нестерук Г. В., Колот Н. В., Проценко О. С., Падалко В. І., Легач Є. І.**

**Резюме.** Метою дослідження було вивчення впливу кріоекстракту спінальних гангліїв (КЕСГ) як композиції, що містить нейротрофічні фактори, на структурно-функціональні характеристики яєчників щурів різного віку.

Експерименти проводилися на білих щурах-самках 6 та 14 місяців, що відповідає репродуктивному та пізньому репродуктивному віку у тварин цього виду. КЕСГ отримували з спінальних гангліїв неонатальних поросят. Перед використанням КЕСГ розводили фізіологічним розчином (ФР) так, щоб концентрація білка становила 0,3 мг/мл. КЕСГ вводили тваринам внутрішньочеревно протягом 9 днів (0,2 мл/щура). У контрольній групі замість КЕСГ використовували ФР. Введення КЕСГ/ФР починали у фазі еструсу. Для оцінки естрального циклу мазки з піхви брали щодня о 10 годині ранку протягом двох тижнів перед введенням, під час введення та протягом 20 днів після введення КЕСГ/ФР. Вивчали тривалість естрального циклу, відносну кількість фаз еструсу та дієструсу, а також кількість іррегулярних естральних циклів. Через 28-29 днів після початку введення КЕСГ/ФР тварин забивали і проводили гістологічний аналіз яєчників, визначаючи кількість фолікулів різних стадій розвитку.

Введення КЕСГ щурам репродуктивного віку (6 міс) статистично значуще збільшувало тривалість естрального циклу за рахунок фази дієструсу, а також підвищувало кількість іррегулярних естральних циклів. Подібні зміни естрального циклу у тварин пізнього репродуктивного віку (14 міс) спостерігалися незалежно від введення КЕСГ. Кількісний аналіз не виявив статистично значущих відмінностей між загальною кількістю фолікулів в усіх групах тварин. Однак введення КЕСГ приводило до зменшення кількості примордіальних фолікулів і збільшення кількості атретичних фолікулів в яєчниках тварин обох вікових груп. У щурів репродуктивного віку (6 міс) після застосування КЕСГ виявлено статистично значуще зменшення кількості антральних фолікулів.

**Висновки.** Введення КЕСГ стимулює зростання та розвиток примордіальних фолікулів, але у той же час активує процеси атрезії фолікулів, особливо на антральній стадії. Цей ефект не залежить від віку щурів, використаних в експерименті.

**Ключові слова:** кріоекстракт спінальних гангліїв, яєчник, фолікули, естральний цикл, репродуктивний вік.

### **ВЛИЯНИЕ КРИОЭКСТРАКТА СПИНАЛЬНЫХ ГАНГЛИЕВ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЯИЧНИКОВ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

**Нестерук А. В., Колот Н. В., Проценко О. С., Падалко В. И., Легач Е. И.**

**Резюме.** Целью исследования было изучение влияния криоекстракта спинальных ганглиев (КЭСГ) как композиции, содержащей нейротрофические факторы, на структурно-функциональные характеристики яичников крыс разного возраста.

Эксперименты проводились на белых крысах-самках 6 и 14 месяцев, что соответствует репродуктивному и позднему репродуктивному возрасту у животных данного вида. КЭСГ получали из спинальных ганглиев неонатальных поросят. Перед использованием КЭСГ разводили физиологическим раствором (ФР) так, чтобы концентрация белка составляла 0,3 мг/мл. КЭСГ вводили животным внутривентриально в течение 9 дней (0,2 мл/крысу). В контрольной группе вместо КЭСГ использовали ФР. Введение КЭСГ/ФР начинали в фазе эструса. Для оценки эстрального цикла мазки из влагалища брали ежедневно в 10 часов утра в течение двух недель перед введением, во время введения и в течение 20 дней после введения КЭСГ/ФР. Изучали продолжительность эстрального цикла, относительное количество фаз эструса и диэструса, а также количество иррегулярных эстральных циклов. Через 28-29 дней после начала введения КЭСГ/ФР животных забивали и проводили гистологический анализ яичников, определяя количество фолликулов разных стадий развития.

Введение КЭСГ крысам репродуктивного возраста (6 мес) статистически значимо увеличивало продолжительность эстрального цикла за счет фазы диэструса, а также повышало количество иррегулярных эстральных циклов. Подобные изменения эстрального цикла у животных позднего репродуктивного возраста (14 мес) наблюдались независимо от введения КЭСГ. Количественный анализ не выявил статистически значимых различий между общим количеством фолликулов во всех группах животных. Однако введение КЭСГ приводило к уменьшению количества примордиальных фолликулов и увеличению количества атретических фолликулов в яичниках животных обоих возрастов. У крыс репродуктивного возраста (6 мес) после применения КЭСГ обнаружено статистически значимое уменьшение количества антральных фолликулов.

*Выводы.* Введение КЭСГ стимулирует рост и развитие примордиальных фолликулов, но в то же время активизирует процессы атрезии фолликулов, особенно на антральной стадии. Этот эффект не зависит от возраста крыс, использованных в эксперименте.

**Ключевые слова:** криоэкстракт спинальных ганглиев, яичник, фолликулы, эстральный цикл, репродуктивный возраст.

### EFFECT OF DORSAL ROOT GANGLIA CRYOEXTRACT ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF OVARIES IN RATS OF DIFFERENT AGES

Nesteruk H. V., Kolot N. V., Protsenko O. S., Padalko V. I., Legach E. I.

**Abstract.** *Goal.* The goal was to study the effect of the dorsal root ganglia cryoextract (DRGCE) as a composition containing neurotrophic factors on the structural and functional characteristics of rat ovaries of different ages.

*Methods.* The experiments were performed on female white rats of 6 and 14 months of age that corresponds to the reproductive and late reproductive age of this species of animals. DRGCE was made from dorsal root ganglia of neonatal piglets. Before the DRGCE was used, it was mixed with the physiological saline (PS) so that the concentration of the protein was 0.3 mg/ml. DRGCE was intraperitoneally injected for 9 days (0.2 ml/animal). In the control group, PS was used instead of DRGCE. The injection of DRGCE and PS started in the estrous. To assess the progression of the estrous cycle, vaginal smears were taken daily at 10 a.m. for two weeks before administration, during administration, and for 20 days after administration of DRGCE. The duration of the estrous cycle, relative number of estrous and diestrus phases as well as irregular estrous cycles were studied. 28-29 days after the start of DRGCE administration, animals were killed. Histological analyse of ovarian follicles of different stages of development were carried out.

*Results.* DRGCE administration in rats of reproductive age increased the duration of estrous cycle due to diestrus phase and the number of irregular estrous cycles. Similar changes in the estrous cycle of late reproductive age animals were observed regardless of the administration of DRGCE. The quantitative analysis did not show statistically significant differences between the total numbers of follicles in all animal groups. DRGCE administration led to a decrease the number of primordial follicles and an increase the number of atretic follicles in the ovaries of animals of both reproductive ages. In rats of reproductive age, the number of antral follicles decreased after application of DRGCE.

*Conclusions.* Administration of DRGCE stimulates the growth and development of primordial follicles, but at the same time increases process of follicular atresia, especially at the antral stage. This effect does not depend on the age of the experimental animals.

**Key words:** dorsal root ganglia, cryoextract, ovary, follicles, estrous cycle, reproductive age.

*Рецензент – проф. Небесна З. М.*

*Статья надійшла 04.10.2020 року*