

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ТА НАНОСИСТЕМ ЗОЛОТА НА ФУНКЦІОНУВАННЯ КЛІТИН СІМ'ЯНИКІВ

С. І. Українська, О. М. Калейнікова, Т. Ю. Вознесенська, Т. В. Блашків

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (м. Київ, Україна)

Вступ. Сьогодні хронічна хвороба нирок (ХХН) одна з проблем XXI століття, що впливає на захворюваність та смертність населення, виходить за межі нефрології та вимагає спільних зусиль лікарів багатьох спеціальностей [1, 2]. Нещодавно було доведено, що полімери з ядром декстрану та прищепленими поліакриламідними ланцюгами декстран-поліакриламід (D-PAA) ефективні у фотодинамічній хіміотерапії, що дає впевненість у перспективі наносистем ліків [3]. Є дані про дію кверцетину (КВР) на якість сперми та репродуктивні органи у дорослих самців щурів і, зокрема, показано, що КВР може впливати на якість сперми шляхом стимуляції статевих органів, як на клітинному, так і на рівні органів, залежно від дози та тривалості введення [4]. Також активно вивчають вплив введення різних доз КВР на сперматозоїди, морфологію та функції сперми за умов експериментального цукрового діабету, спричиненого стрептозотоцином-нікотинамідом [5, 6]. Актуальною на сьогодні є оцінка впливу КВР на статеву дисфункцію при експериментальній хронічній хворобі нирок (ЕХХН), оскільки в опрацьованій нами літературі станом на сьогодні такі дані – відсутні.

Мета роботи – оцінка змін функціонального стану клітин сім'яників за умов експериментальної хронічної хвороби нирок, а також введення кверцетину і наносистем золота, що раніше не було вивчено.

Основна частина. Досліди проведено з використанням 60 самців білих лабораторних мишей лінії Альба (вагою 25-30 г) з дотриманням усіх вимог до роботи з лабораторними тваринами. *Модель експериментальної хронічної хвороби нирок (ЕХХН)* відтворено шляхом імунізації тварин гомогенатом нирки, чотириохратно внутрішньочеревно раз на день 10 мкл суспензії на 10 грам миші на 1, 3, 5 та 26 день від початку експерименту. Видільну функцію нирок оцінювали за кількістю спонтанних сечовиділень за добу у разовій порції сечі, визначали білок (діагностичні тест-смужки Citolab для швидкого виявлення білку, «Фармаско», Україна). Так, у сечі тварин із ЕХХН реєстрували підвищений вміст білка $0,32 \pm 0,02$ мг/мл порівняно із $0,02 \pm 0,01$ мг/мл у мишей контрольної групи. *Введення речовин проводили таким чином:* D-g-PAA(PE) (2,00 мг/кг), D-g-PAA(PE)/AuNPs (1,96 мг/кг), фізіологічний розчин вводили внутрішньовенно (у хвостову вену по 0,3 мл) один раз на день, п'ять разів на 22-26 день експерименту, перед останньою імунізацією. Кверцетин (КВР, Quercetin, Sigma, USA) (50 мг/кг) вводили внутрішньочеревинно один раз на день, п'ять разів на 22-26 день експерименту, перед останньою імунізацією і після введення золота у групі де їх вводили разом. Тварин вилучали з експерименту, перерізаючи спинний мозок, дотримуючись правил евтаназії. Тварини розділені на групи, яким вводили: Іфізіологічний розчин контроль (N=5);

II – D-g-PAA(PE) (N=5); III – D-g-PAA(PE)/AuNPs (N=5); IV – КВР (N=5); V – D-g-PAA(PE)+КВР; VI – D-g-PAA(PE)/AuNP+КВР; VII – ЕХХН (N=5); VIII – ЕХХН+КВР (N=5); IX – ЕХХН+D-g-PAA(PE) (N=5); X – ЕХХН+D-g-PAA(PE)/AuNPs (N=5); XI – ЕХХН+D-g-PAA(PE)+КВР (N=5); XII – ЕХХН+D-g-PAA(PE)/AuNPs+КВР (N=5); Нкількість тварин у групі. На третій день після останньої (п'ятої) ін'єкції речовин під ефірною анестезією забирали експериментальний матеріал (сім'яники і їх придатки). Проведено оцінку: 1) *життєздатності сперматозоїдів* (тест виключення барвника Trypan blue); 2) *кількості сперматозоїдів* (концентрація сперматозоїдів (млн/мл)) і *кількості аномальних форм спермій* (%). Сперматозоїди розділяли на три групи: нормальні (без деформацій структурних елементів клітин), з дефектом головки (включаючи деформацію акросоми), з дефектом хвоста (різні варіанти петель і шпичок). Аномалії сперматозоїдів оцінювали відповідно до класифікацій ряду авторів і узагальненої нами. У кожній тварини досліджено по 200 клітин: в 15–30 випадкових полях зору визначатися відношення нормальних і аномальних клітин; 3) *співвідношення клітин різних генерацій сперматогенного епітелію* (%) цитологічний аналіз забарвлених мазків гомогенатів тканини сім'яників: процентне співвідношення клітин різних генерацій сперматогенного епітелію (сперматогонії, сперматоцитів, сперматид), кількість клітин Сертолі. 4) *шляхів клітинної загибелі клітин сім'яників* (сперматоцитів (первинні)) та *клітин придатків сім'яників* (епідідіміса) *сперматозоїдів* за допомогою методу прижиттєвого подвійного забарвлення флуоресцентними барвниками нуклеїнових кислот Хехст 33342 та йодид пропідіума. Зв'язані з хроматином барвники дають змогу оцінити морфологічні особливості ядерного матеріалу. Оцінку проведено не менш як 400 клітин за допомогою люмінесцентного мікроскопу Люмам І-1" (ЛОМО, Росія) з водно-імерсійним об'єктивом х85 та з відео системою передачі зображення на комп'ютер. *Статистична обробка даних.* Статистичну обробку результатів проведено з використанням критерію t Ст'юдента за допомогою програми GraphPadPrism version 5.00 for Windows (GraphPadSoftware, США); $p < 0.05$ вважалось статистично вірогідним, пкількість незалежних повторів.

Використовувані в роботі речовини (D-g-PAA(PE), D-g-PAA(PE)/AuNPs і КВР) не викликали зміни кількості: 1) сперматозоїдів; 2) сперматогенних клітин і клітин Сертолі у сім'яниках; 3) живих та загиблих шляхами апоптозу та некрозу клітин сім'яників (первинних сперматоцитів); 4) живих та загиблих шляхами апоптозу та некрозу клітин придатків сім'яників (епідідіміса) сперматозоїдів порівнянні з такими величинами в контролі.

За умов ЕХХН встановлено: 1) збільшення (у 2,24 рази) кількості аномальних сперматозоїдів і таких з первинними аномаліями (%) (у 3,07 рази); 2) зменшення (у 1,31 рази) кількості сперматид в сім'яниках; 3) зменшення (у 1,22 рази) кількості живих клітин і зростання (у 1,74 рази) кількості апоптотичних і (у 4,08 рази) некротичних клітин сім'яників (первинних сперматоцитів); 4) зменшення (у 1,23 рази) кількість живих клітин і збільшення (у 2,34 рази) кількості апоптотичних, а також збільшення (у 2,55 рази) некротичних клітин придатків сім'яників (сперматозоїдів) у порівнянні з такими величинами в контролі.

За умов ЕХХН введення D-g-PAA(PE)/AuNPs призводить до зменшення кількості: 1) аномальних сперматозоїдів; 2) некротичних клітин сім'яника (первинних сперматоцитів); 3) некротичних клітин придатків сім'яників (епідідіміса) сперматозоїдів.

За умов ЕХХН введення КВР призводить до: 1) зменшення кількості аномальних сперматозоїдів; 2) збільшення кількості сперматид у сім'яниках.

За умов ЕХХН введення D-g-PAA(PE)/AuNPs+КВР призводить до: 1) зменшення (у 1,88 рази) кількості аномальних сперматозоїдів (%); 2) збільшення (у 1,17 рази) кількості сперматид у сім'яниках; 3) збільшення (у 1,18 рази) кількості живих клітин і зменшення (у 2,43 рази) некротичних клітин придатків сім'яників (сперматозоїдів) у порівнянні з такими величинами за умов ЕХХН.

Висновки. Використовувані в роботі речовини: 1) кверцетин може бути рекомендованим для корекції порушення сперматогенезу, а 2) D-g-PAA(PE)/AuNPs потребує подальшого вивчення як перспективна для корекції порушення сперматогенезу за умов експериментальної хронічної хвороби нирок і для уточнення нових стратегій її лікування.

Література

1. Palmer B, Clegg D. Gonadal dysfunction in chronic kidney disease. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010;18(1):117-130. DOI: 10.1007/s11154-016-9385-9.
2. Yeo J, Koo H, Yu J, Park M. Effects of testosterone treatment on quality of life in patients with chronic kidney disease. *Am J Mens Health*. 2020;14(3):1557988320917258. DOI: 10.1177/1557988320917258.
3. Kutsevol N, Naumenko A, Harahuts Yu, Chumachenko V, Shton I, Shishko E, et al. New hybrid composites for photodynamic therapy: synthesis, characterization and biological study. *Appl Nanosci*. 2019;9(5):881-888. DOI: 10.1007/s13204-018-0768-y.
4. Winn E, Whitaker B. Quercetin supplementation to the thawing and incubation media of boar sperm improves post-thaw sperm characteristics and the in vitro production of pig embryos. *Reprod Biol*. 2020;20(3):315-320. DOI: 10.1016/j.repbio.2020.06.002.
5. Dokumacioglu E, Iskender H, Sen T, Ince I, Dokumacioglu A, Kanbay Y, et al. The effects of hesperidin and quercetin on serum tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 levels in streptozotocin-induced diabetes model. *Pharmacogn Mag*. 2018;14(54):167-173. DOI: 10.4103/pm.pm_41_17.
6. Yelumalai S, Giribabu N, Karim K, Omar S, Salleh N. In vivo administration of quercetin ameliorates sperm oxidative stress, inflammation, preserves sperm morphology and functions in streptozotocin-nicotinamide induced adult male diabetic rats. *Arch Med Sci*. 2019;15(1):240-249. DOI: 10.5114/aoms.2018. 81038.