

УДК 616.33-002-003.93-085.243

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СТЕНКЕ ЖЕЛУДКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ ПЕПТИЧЕСКИХ ЯЗВАХ

Катеренчук І.П., Кострікова Ю.А., Гуцаленко О.О., Циганенко І.В., Овчаренко Л.К.

Резюме. Анализ морфологического субстрата зоны язвенного дефекта при длительно незаживающей пептической язве желудка свидетельствует, что морфологическая перестройка клеточных структур в зоне язвенного дефекта отражает процесс его заживления и может служить маркером эффективности проведенной терапии. Регенерация слизистой оболочки имеет свои особенности, которые не зависят от вида терапии.

Ключевые слова: пептическая язва, морфологическая картина, регенерация.

UDC 616.33-002-003.93-085.243

CLINICAL EVALUATION OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE WALL OF THE STOMACH IN PROLONGED NON-HEALING PEPTIC ULCERS

Katerenchuk I.P., Kostrikova Y.A., Gutsalenko O.O., Tsyganenko I.V., Ovcharenko L.K.

Summary. The analysis of the morphological substrate of ulcer defect zone in patients on long-term un-healing peptic gastric ulcer shows that morphological reconstruction of cellular structures in the zone of ulcer defect reflects the process of its healing and should be used as a marker of treatment effectiveness. The process of gastric mucosa regeneration has specific features that depend on the type of therapy.

Key words: peptic ulcer, morphological substrate, regeneration.

Стаття надійшла 29.03.2011 р.

УДК 611.81+612.8+616.8-001]:575.1

Т.Ю. Квітницька-Рижова, С.А. Михальський, В.В. Білошицький*

РЕАКЦІЯ МІКРОГЛІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ ТА ГЕННІЙ ТЕРАПІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ ГЕНУ апоЕ3

ДУ “Інститут геронтології ім. акад. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України” (м. Київ)

*ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України (м. Київ)

Робота виконана в рамках наукової теми “Морфофункціональні зміни різних мозку при старінні та експериментальній черепно-мозковій травмі, а також при корекції за допомогою генної терапії” № держ.реєстрації 0106U001522.

Вступ. Однією з універсальних реакцій центральної нервової системи (ЦНС) на пошкодження є активація мікроглії – клітинної популяції, вивчення якої дає ключове розуміння сутності багатьох патологічних процесів, що вражають ЦНС, включаючи інсульти, черепно-мозкову травму (ЧМТ), хворобу Альцгеймера, розсіяний склероз та інші. Активація мікроглії може мати протилежні ефекти [4, 7, 10, 11, 12]. З одного боку, це участь в обмеженні осередку ураження, регуляція імунно-запальної відповіді, підтримка нейронів трофічними факторами, санація тканинного середовища шляхом фагоцитозу уламків клітин. З іншого боку, надмірна й неконтрольована активація мікрогліоцитів може мати наслідком ескалацію локальної нейротоксичності та прогресування вторинних уражень мозку при ЧМТ.

Вивчення мікрогліальної реакції при ЧМТ може стати одним з кроків у пошуку ефективних методів лікування цієї патології.

Метою роботи було світлооптичне та електронномікроскопічне дослідження мікроглії при ураженні гіпокампа внаслідок тяжкої дифузної експериментальної ЧМТ, а також можливостей впливу на мікрогліальну реакцію генної терапії, направленої на індукцію синтезу в нервовій тканині ізоформи ε3 аполіпопротеїну Е (АпоЕ3 означає білок; апоЕ3 означає ген).

Об’єкт і методи дослідження. Дослідження виконано на дорослих (6–8 місяців) щурах-самцях лінії Wistar (масою від 350 до 400 г), які були розподілені на 4 групи:

- *Контроль* — група інтактних тварин (5 щурів).
- *Пл* — тваринам встановлювали в лівій боковий шлуночок мозку канюлю, яку з’єднували з встановленим під шкіру резервуаром (осмотичною помпою ALZET), для внутрішньошлуночкової інфузії протягом доби катіонних ліпосом з плазмідним вектором, який ніс ген апоЕ3 (5 щурів).
- *ЧМТ* – група тварин з тяжкою дифузною ЧМТ, яка досягалась у результаті вільного падіння вантажу вагою 450 г з висоти 1,5 м (5 щурів).

- *ЧМТ+Пл* – тваринам завдавали ЧМТ таким же чином, як і в групі “ЧМТ”, і встановлювали канюлю таким же чином, як і в групі “Пл” (6 щурів).

Завдавання експериментальної ЧМТ і всі хірургічні маніпуляції виконували під загальним наркозом, який забезпечувався внутрішньом’язовою ін’єкцією розчину каліпсолу в дозі 0,7 мг/кг. У якості лікувального препарату досліджувався комплекс катіонних ліпосом DOTAP Methosulfate (“Sigma”) і 25 мкг плазмідного вектору pCMV·SPORT6 (“Invitrogen”), що містив ген апоЕ3 під контролем цитомегаловірусного промотора.

Для морфологічного дослідження через 10 діб після завдавання травми та/або введення плазмідного вектору тварин умертвляли шляхом внутрішньочеревної ін’єкції розчину тіопентал-натрію (200 мг/кг). Для електронномікроскопічного дослідження вирізали тонкі (завтовшки 0,5 мм) зрізи гіпокампа й фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду впродовж 6 годин при 4°C. Після цього шматочки промивали в фосфатному буфері (pH 7,4) протягом 2 годин і дофіксували в 1% розчині OsO₄ на фосфатному буфері (pH 7,4) впродовж 2 годин. Подальше зневоднення в спиртах та ацетоні, а також заливку в смолу (епон-аралдитна суміш) виконували за загальнозживаним методом. Далі на ультратомі LKB-III (Швеція) виготовляли фронтальні напівтонкі зрізи (завтовшки 1 мкм) гіпокампальної ділянки, які поміщали на предметне скло в краплю 5% водного розчину ацетону, висушували й фарбували толудіновим синім. Ультратонкі зрізи товщиною 60–70 нм контрастували 2% розчином уранілацетату та цитрату свинцю, потім досліджували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-125К (“Selmi”, Україна) при прискорювальній напрузі 60 кВ.

На напівтонких зрізах виконували морфометрію – підрахунок лінійної щільності мікроглії (ЛЩМ) зони CA1 гіпокампа (на 100 полях зору), тобто кількості клітин на одиницю довжини. Статистична обробка отриманих результатів проведена в пакеті “Statistica 5.5” з використанням параметричних методів оцінки даних. Вірогідність відмінностей між середніми значеннями оцінювали за t-критерієм Ст’юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Морфологічний аналіз на світлооптичному рівні показав, що ЧМТ викликала порушення цитоархітекtonіки CA1 зони гіпокампа щурів з

ділянками деструкції та випадіння нейронів. Крім того, була виявлена виражена мікрогліальна реакція – деструктивні зміни в гіпокампі викликали гіперплазію та гіпертрофію мікрогліоцитів. На ультраструктурному ж рівні відзначалася наявність крупних макрофагоподібних клітин з численними великими електроннощільними везикулами (рис. 1).

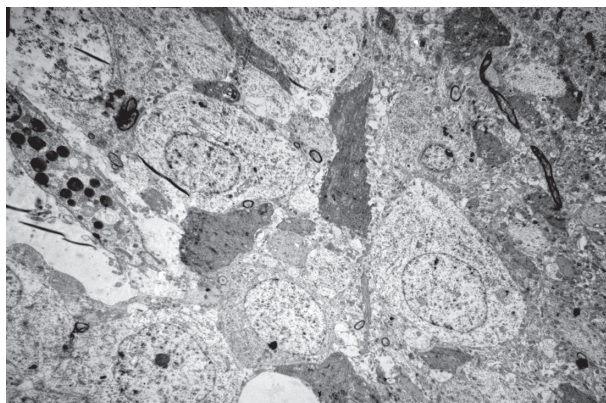


Рис. 1. Ділянка СА1 зони гіпокампа щура після ЧМТ: відросток активованої мікрогліальної макрофагоподібної клітини (зліва) в зоні uszkodження (x 4000).

Морфометричний аналіз мікроглії з визначенням ЛЩМ продемонстрував ознаки активації мікроглії у гіпокампі травмованих тварин. Значне зростання ЛЩМ, у всіх експериментальних групах, що достовірно відрізнялась від показників контрольних тварин відображає проліферацію мікроглії та міграцію її клітин до осередку пошкодження. Реакція мікроглії виявилася подібною до реакції макроглії, що було описано у наших попередніх роботах [3], але при цьому була значно більш вираженою. ЛЩМ була найвищою при ЧМТ, а в групі Пл – найнижчою, але на відміну від лінійної щільності гліоцитів (ЛЩГ) зростання показника ЛЩМ відбувалось значно інтенсивніше: у групі Пл – у 2,0 рази, у групі ЧМТ – у 4,5 рази (рис. 2). В той же час ЛЩГ зростала в групі Пл в 1,16 рази, а при ЧМТ – в 1,41 рази. При ліпосомальній трансфекції тканини головного мозку плазмідним вектором, що несе ген АпоЕ3 (група ЧМТ+Пл), спостерігалася чітка тенденція до гальмування зростання ЛЩМ. У тварин групи ЧМТ+Пл вона зростала у 3,7 рази порівняно з контролем, в той час як вираженість гліозу (ЛЩГ) знижувалась на 8 %.

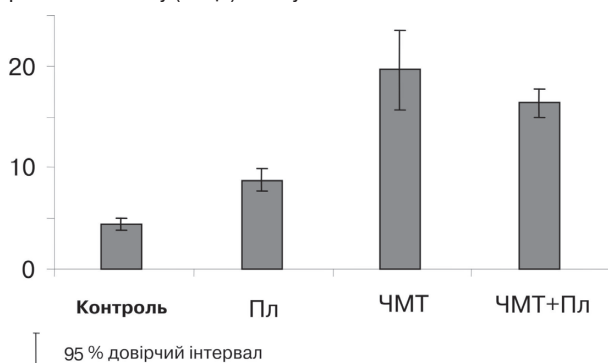


Рис. 2. Лінійна щільність мікрогліоцитів СА1 зони гіпокампа щурів.

Мікроглія являє собою популяцію резидентних імунних клітин у ЦНС. Це макрофагальні клітини, які забезпечують захист нервової тканини від інфекцій і uszkodжень за допомогою механізмів фагоцитозу, презентації антигенів і секреції цитокінів [4]. Пошкодження ЦНС запускає швидку активацію мікрогліальних клітин. Активована мікроглія бере участь у патогенезі розладів ЦНС через секрецію нею

багатьох прозапальних сполук, таких як цитокіни та оксид азоту (NO) [7]. Основною ознакою активації мікроглії є клітинна гіпертрофія, що характеризується перетворенням тонко-розгалужених клітин у збільшені активовані мікрогліоцити з короткими й широкими відростками [12]. У разі настання загибелі нервових клітин, мікроглія набуває рис фагоцитів, що легко ідентифікуються за їхньою округлою формою та наявністю фагоцитарних включень [10].

Мікрогліоцити експресують велику кількість поверхнево-клітинних та ядерних рецепторів, що необхідні для ініціації та модуляції їхньої реакції. Це рецептори до комплекменту, імуноглобулінів, молекул клітинної адгезії, стероїдів, бактеріальних антигенів, патологічних білків, цитокінів та хемокінів [7, 13]. До основних ефектів активованої мікроглії належать міграція, проліферація, продукція NO і продуктів перекисного окислення ліпідів, фагоцитоз, презентація антигенів, а також секреція розчинних факторів для навколишніх клітин і лейкоцитів, які мігрують з кров'яного русла, з метою регуляції нейрозапальної відповіді. Виділяють 4 класи молекул, які є доведеними сигналами комунікації мікроглії: цитокіни, хемокіни, трофічні фактори і простагландини [6, 7, 8, 9].

Результати нашого дослідження показали, що тяжка дифузна ЧМТ у щурів на 10 добу після травми характеризується наявністю ураження такого чутливого до травми відділу головного мозку, як гіпокамп. Як повідомлялося нами раніше [3], ЧМТ викликає порушення цитоархітекτονіки гіпокампа з розвитком деструктивно-дистрофічних змін усіх елементів мозку (нейронів, глії, капілярів). Морфометричний аналіз показав значне зниження кількості нейронів (нейрональна депопуляція гіпокампа) і зміну якісного складу популяції нейронів – наростання кількості деструктивних форм за рахунок зниження кількості незмінених, а також значний ріст кількості макроглії. Нами також було доведено, що ураження гіпокампа корелює з наявністю виразного когнітивного дефіциту, що характеризується стійкою антероградною амнезією, а саме зниженням в посттравматичному періоді просторової пам'яті й здатності до навчання, і розвитком виразних порушень дослідницької поведінки й емоційного стану тварин, що відображає наявність у них підвищеного рівня стресу й тривожності [1, 2].

Отримані дані демонструють, що характерною рисою зазначених змін гіпокампа при ЧМТ є ознаки активації мікроглії, такі як гіпертрофія клітин, збільшення в них кількості секреторних гранул, а також значне підвищення ЛЩМ (у 4,5 рази), що відображає проліферацію мікроглії і, можливо, її міграцію до осередків дегенерації нейронів. Запропонована нами методика генної терапії, а саме внутрішньошлуночкове введення катіонних ліпосом, що несуть плазмідний вектор з геном апоЕ3, викликала чітку тенденцію до зниження виразності ознак мікрогліальної активації та запальних явищ. Ріст показника ЛЩМ гальмувався, його зростання відбувалось лише у 3,7 рази. Згідно з нашими даними [3], генна терапія також позитивно впливає на структуру й ультраструктуру гіпокампа – скорочує ЧМТ-індуковану загибель нейронів та поліпшує їх якісний склад, зменшує аксональне uszkodження та деструкцію мієліну, гліоз, перикапілярний набряк і накопичення ліпофусцину.

Результати нашого дослідження показали, що АпоЕ3, додатковий синтез якого в нервовій тканині індуковано шляхом генної терапії, може справляти позитивний лікувальний ефект, у тому числі й за рахунок модуляції гліальної відповіді на травматичне ураження головного мозку. Ми вважаємо, що така модуляція може реалізовуватись як через обмеження виразності сигналів мікросередовища (нейронів, макроглії), що активують цитотоксичні ефекти, так і через регуляцію чутливості мікроглії (рівнем експресії відповідних рецепторів) до надмірної активації. Точні механізми, за допомогою яких АпоЕ викликає обмеження структурних проявів і функціональних наслідків ЧМТ, досліджені

недостатньо, хоча можливими поясненнями можуть бути впливи на нейрогенез, запальну відповідь, процесінг Аβ і метаболізм нейронів [5].

Висновки.

1. Тяжка дифузна ЧМТ в експерименті характеризується порушенням цитоархітекτονіки гіпокампа з розвитком деструктивно-дистрофічних змін усіх елементів мозку (нейронів, глії, капілярів). Характерною рисою такого ураження є ознаки активації мікроглії, такі як гіпертрофія клітин, збільшення в них кількості секреторних гранул, а також значне підвищення лінійної щільності мікрогліоцитів (у 4,5 рази), що відображає проліферацію мікроглії і, можливо, її міграцію до осередків дегенерації нейронів.

2. Ліпосомальна трансфекція клітин головного мозку плазмідним вектором, що несе ген ізоформи ε3 апоЕ людини, викликає при експериментальній ЧМТ чітку тенденцію до гальмування росту лінійної щільності мікрогліоцитів гіпокампа

і виразності ознак мікрогліальної активації. Це корелює з позитивним впливом на структуру й ультраструктуру гіпокампа, зниженням запальних явищ, зменшенням аксонального ушкодження та деструкції мієліну, гліозу та перикапілярного набряку, накопичення ліпофусцину.

3. Аполіпопротеїн Е, додатковий синтез якого в нервовій тканині індуковано шляхом генної терапії, може справляти позитивний лікувальний ефект, у тому числі й за рахунок модуляції гліальної відповіді на травматичне ураження головного мозку.

Перспективи подальших досліджень. Очікується, що одержані результати сприятимуть детальнішому розкриттю значення вторинних ушкоджень головного мозку в розвитку неврологічного й когнітивного дефіциту після ЧМТ, а також розробці нових методів лікування цієї патології, ефективність яких ще й досі часто залишається не досить високою.

Список літератури

1. Белошицкий В.В. Влияние липосомальной трансфекции гена аполипопротеина Е3 на динамику неврологического и когнитивного дефицита при черепно-мозговой травме в эксперименте / В.В. Белошицкий, Н.Я. Гридина, Л.А. Цыба, О.Н. Величко // Укр. нейрохірург. журн. – 2009. – №2. – С. 59-60.
2. Білошицький В. В. Вплив ліпосомальної трансфекції в клітини головного мозку гену апоЕ3 на дослідницьку поведінку та емоційний стан щурів після експериментальної черепно-мозкової травми / Білошицький В. В., Величко О. М., Гридіна Н. Я. [та ін.]. // Укр. нейрохірург. журн. – 2010. – № 2. – С. 55-62.
3. Михальский С. А. Влияние трансфекции гена аполипопротеина Е человека на структуру гиппокампа и когнитивные нарушения после черепно-мозговой травмы у крыс разного возраста / С.А. Михальский, В.В. Белошицкий, Л.А. Цыба [и др.] // Пробл. старения и долголетия. – 2008. – Т. 17, № 2. – С. 240-258.
4. Bessis A. Microglial control of neuronal death and synaptic properties / A. Bessis, C.B. Echade, D. Bernard, A. Roumier // Glia. – 2007. – V. 55. – P. 233–238.
5. Crawford F. Apolipoprotein E-gnotype dependent hippocampal and cortical responses to traumatic brain injury / F. Crawford, M. Wood, S. Ferguson [et al.] // Neuroscience. – 2009. – V. 159. – P. 1349–1362.
6. Garden G.A. Microglia Biology in Health and Disease / G.A. Garden, T. Moller // J. Neuroimmune Pharmacol. – 2006. – V. 1. – P. 127–137.
7. Hanisch U. K. Microglia as a source and target of cytokines / U. K. Hanisch // Glia. – 2002. – V. 40. – P. 140–155.
8. Kim S. U. Microglia in health and disease / S.U. Kim, de Vellis J. // J. Neurosci. Res. – 2005. – V. 81. – P. 302–313.
9. Nimmerjahn A. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo / A. Nimmerjahn, F. Kirchhoff, F. Helmchen // Science. – 2005. – V. 308. – P. 1314–1318.
10. Streit W. G. Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS / W.G. Streit // Glia. – 2002. – V. 40. – P. 133–139.
11. Streit W. G. Microglial response to brain injury: a brief synopsis / W.G. Streit // Toxicologic Pathology. – 2000. – V. 28, № 1. – P. 28-30.
12. Streit W. G. The role of microglia in brain injury / W.G. Streit // Neurotoxicology. – 1996. – V. 17. – P. 663–670.
13. Van Rossum D. Microglia / D. Van Rossum, U.K. Hanisch // Metab. Brain Dis. – 2004. – V. 19. – P. 393–411.

УДК 611.81+612.8+616.8-001]:575.1

РЕАКЦІЯ МІКРОГЛІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ ТА ГЕННІЙ ТЕРАПІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ ГЕНУ апоЕ3

Квітницька-Рижова Т.Ю., Михальський С.А., Білошицький В.В.

Резюме. Тяжка дифузна експериментальна ЧМТ характеризується порушенням цитоархітекτονіки гіпокампа з розвитком деструктивно-дистрофічних змін нейронів, глії та капілярів. При цьому відбувається активація мікроглії з гіперплазією та гіпертрофією клітин, збільшення в них кількості гранул. Продемонстроване значне підвищення (у 4,5 рази) лінійної щільності мікрогліоцитів (ЛЩМ). Генна терапія плазмідом, що несе ген ізоформи ε3 апоЕ людини, викликає при ЧМТ зниження стрімкого росту ЛЩМ гіпокампа – основної ознаки мікрогліальної активації, що корелює з позитивним впливом на структуру й ультраструктуру нейронів і макроглії. Аполіпопротеїн Е, додатковий синтез якого в нервовій тканині індуковано шляхом генної терапії, може справляти позитивний лікувальний ефект, у тому числі й за рахунок модуляції гліальної відповіді на травматичне ураження головного мозку.

Ключові слова: ЧМТ, генна терапія, мікроглія, ультраструктура, морфометрія.

УДК 611.81+612.8+616.8-001]:575.1

РЕАКЦИЯ МИКРОГЛИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНА апоЕ3

Квитницкая-Рижова Т.Ю., Михальский С.А., Белошицкий В.В.

Резюме. Тяжелая диффузная экспериментальная ЧМТ характеризуется нарушением цитоархитектоники гиппокампа с развитием деструктивно-дистрофических изменений нейронов, глии и капилляров. При этом происходит активация микроглии с гиперплазией и гипертрофией клеток, увеличение в них количества гранул. Показано значительное повышение (в 4,5 раза) линейной плотности микроглиоцитов (ЛПМ). Генная терапия плазмидой, несущей ген изоформы ε3 апоЕ человека, вызывает при ЧМТ снижение стремительного роста ЛПМ гиппокампа – основного признака микроглиальной активации, что коррелирует с положительным влиянием на структуру и ультраструктуру нейронов и макроглии. Аполипопротеин Е, дополнительный синтез которого в нервной ткани индуцировано генной терапией, может оказывать положительный лечебный эффект, в том числе и за счет модуляции глиального ответа на травматическое поражение головного мозга.

Ключевые слова: ЧМТ, генная терапия, микроглия, ультраструктура, морфометрия.

UDC 611.81+612.8+616.8-001]:575.1

MICROGLIAL REACTION AFTER EXPERIMENTAL TRAUMATIC BRAIN INJURY AND APOE3 GENE THERAPY

Kvitnitskaya-Ryzhova T.Yu., Mikhalsky S.A., Biloshitsky V.V.

Summary. Severe diffuse experimental traumatic brain injury (TBI) is characterized by the damage to hippocampal cytoarchitectonics with the evolution of destructive and dystrophic changes in neurons, glia and capillaries. It is accompanied by microglial activation with cellular hyperplasia and hypertrophy, as well as increase of intracellular granules. The linear density of microglia (LDM), the main characteristic of microglial activation, in rats with TBI was 4,5 times as high as in controls. Cationic liposome-mediated APOE3 gene therapy resulted in decrease of elevated LDM in hippocampus after TBI, which correlated with positive influence on neuronal and macroglial structure and ultrastructure. Apolipoprotein E, additional synthesis of which is induced by gene therapy, may have therapeutic potential, in particular by modulation of glial response to TBI.

Key words: TBI, gene therapy, microglia, ultrastructure, morphometry.

Стаття надійшла 28.03.2011 р.

УДК 616.681 – 005.98 – 089: 576.7 – 092.9

Т.О. Квятковська, А.О. Фролов

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ СКЛЕРОТЕРАПІЇ ТА МОДЕЛЮВАННЯ ОПЕРАЦІЙ З ПРИВОДУ ГІДРОЦЕЛЕ Дніпропетровська державна медична академія(м. Дніпропетровськ)

Представлена робота є фрагментом науково-дослідної роботи за № державної реєстрації 0104U010388.

Вступ. Альтернативою оперативного лікування водянки оболонки яєчка є склеротерапія – малоінвазивний метод, який легко застосовувати в амбулаторних умовах [1]. За даними клінічних спостережень одні автори вважають, що склерозування оболонки яєчка не призводить до зниження фертильності, інші не рекомендують цей метод застосовувати чоловікам, молодшим 40 років [2]. Одним з найбільш ефективних склерозантів вважають етоксисклерол. Відносно порівняльної характеристики різних методів оперативного лікування також немає однозначної думки [2, 3]. Морфологічні зміни чоловічої статеві залози після склеротерапії та оперативних втручань з приводу водянки оболонки яєчка вивчені вкрай недостатньо. Разом з тим, відомо, що низькоінтенсивне лазерне опромінення зменшує набряк тканин яєчка і може застосовуватися при лікуванні орхоепідидиміту та після променевого ураження. Вплив лазеротерапії на чоловічу статеву залозу після склеротерапії не досліджувався. Не досліджені зміни клітин Сертолі (сустентоцитів) після оперативних втручань з приводу гідроцеле та склеротерапії.

Мета дослідження. Порівняльна гістоморфометрична характеристика впливу різних методів оперативних втручань, що знаходять застосування при лікуванні гідроцеле, та склеротерапії з наступною лазеротерапією на стан сім'яників в експерименті на щурах.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 54 статевозрілих білих щурах-самцях вагою 150-170 г, що були поділені на 9 груп по 6 щурів у кожній групі. Перші 2 групи були контрольними: I групу склали інтактні щури, II – щури, яким була нанесена операційна травма у вигляді розсічення оболонки сім'яника до серозної порожнини з наступним їх зашиванням. Експериментальні групи склали щури, яким була виконана фенестрація піхвової оболонки сім'яника, моделювання операції Лорда з розсіченням та плікацією парієтального листка серозної оболонки сім'яника без виділення з навколишніх тканин, Вінкельмана з розсіченням оболонки та ушиванням її позаду сім'яника після вивороту, Бергманна з майже повним відсіченням та ушиванням парієтального листка серозної оболонки (III-VI групи відповідно). До VII-IX груп увійшли щури, яким у порожнину піхвової оболонки сім'яника вводили 0,5 мл 1% (VII група) та 0,2 мл 3% (VIII і IX групи) розчину етоксисклеролу. Щурам IX групи, починаючи з другої доби, проводили лазерне опромінення лівої половини калитки з довжиною хвилі 650 нм протягом 7 діб тривалістю сеансу 10 хвилин. Через 1 місяць після втручання після етаназії тварин статеву залозу з оболонками фіксували у 10% нейтральному формаліні. Парафінові зрізи офарбовували гематоксиліном-еозином. Морфометричний аналіз гістологічних зрізів сім'яників проводили із застосуванням

стандартної сітки з 25 вузлами при збільшенні 748. Визначали відсоткове відношення сперматогенного епітелію покручених сім'яних каналців, просвіту каналців та інтерстиціальної тканини (СЕ/ ПК/ ІТ). На поперечних зрізах 30 звивистих сім'яних каналців підраховували середню кількість підтримуючих клітин у каналці, а також у 100 поперечних зрізах звивистих каналців визначали відсоток каналців, у яких були відсутні зрілі сперматозоїди. Статистичний аналіз одержаних даних проводили за програмою Excel.

Результати досліджень та їх обговорення. Через 1 місяць після фенестрації оболонки сім'яників щурів (III група) відношення СЕ/ ПК/ ІТ складало 74,50±1,49%/ 13,47±1,65%/ 12,87±0,97%, для порівняння у групі контролю – 75,17±0,59%/ 15,57±0,50%/ 9,27±0,40%. Через 1 місяць після моделювання операції Лорда відношення СЕ/ ПК/ ІТ дорівнювало 76,10±1,07%/ 11,67±0,58%/ 12,23±0,68%, після моделювання операції Вінкельмана – 65,90±1,59%/ 19,18±2,14%/ 14,92±2,01%, операції Бергманна – 70,20±2,22%/ 14,37±2,16%/ 15,43±2,31%. Після операцій Вінкельмана і Бергманна спостерігалось вірогідне зменшення площі СЕ відносно контрольних груп (p<0,05), та збільшення площі ІТ (p<0,001). Після операції Бергманна відбувалось також відносно збільшення просвіту каналців (p<0,05). Кількість сім'яних каналців, не заповнених зрілими сперматозоїдами, у III-VI групах була такою: 12,83±0,91%; 13,67±1,31%; 13,83±1,22%; 14,67±0,10% відповідно, та лише в останній групі після операції Бергманна спостерігалось їх вірогідне збільшення у порівнянні з інтактною групою. Після операції Лорда спостерігалось вірогідне зменшення відносно площі просвіту каналців за рахунок збільшення площі інтерстицію (p<0,001). Отже, операція Лорда, що вважається більш ощадливою, ніж операції Вінкельмана і Бергманна, також приводить до морфологічних змін у сім'янику. Через 1 місяць після склерозування оболонки сім'яників у VII, VIII та IX експериментальних групах відношення СЕ/ ПК/ ІТ дорівнювало 75,40±1,01%/ 14,07±1,29%/ 10,50±0,77%; 74,31±0,74%/ 15,33±0,58%/ 10,36±0,50%; 73,23±0,73%/ 16,90±0,46%/ 9,83±0,39% відповідно. Кількість сім'яних каналців, не заповнених зрілими сперматозоїдами, у VII-IX групах була наступною: 16,17±1,08%; 20,33±2,04%; 9,17±1,14%. Хоча відношення СЕ/ ПК/ ІТ не порушувалось, відсоток сім'яних каналців, не заповнених зрілими сперматозоїдами, у VII групі був вірогідно більший відносно контролю при p<0,05, у VIII групі – при p<0,001, це пояснювалось тим, що частина підоболонкових звивистих сім'яних каналців були деформовані. Різниця між VIII та IX групами була вірогідною при p<0,001, що свідчило про позитивний вплив лазеротерапії на сперматогенез.

Морфометричне дослідження кількості сустентоцитів на поперечних зрізах звивистих каналців у I