

О.М. Шарапова

ДЗ «Дніпропетровська
медична академія МОЗ
України»

Надійшла: 19.04.2018
Прийнята: 05.06.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.72-76>

УДК 616.6-007.1-06: 613.168:615.37

НАСЛІДКИ ДІЇ 7% СПИРТОВОЇ НАСТОЯН- КИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ НА МОРФО- ЛОГІЧНУ БУДОВУ ЯЄЧОК ЩУРІВ

Дана робота є фрагментом науково-дослідної теми: «Морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх і внутрішніх чинників» (номер державної реєстрації 0117U003181).

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 72-76.

© О.М. Шарапова, 2018

✉ esharapova@ukr.net

Sharapova O.M. The effects of 7% alcohol tinctures of echinacea purpurea on the morphological structure of rat testes.

ABSTRACT. Background. The search of drugs that improve the morphological condition of the testicles of humans and animals that have been subjected to the action of harmful factors of the external environment, in particular the electromagnetic field is the actual problem of modern morphology today. The authors in this study tried to investigate the effects of 7% alcohol tincture of Echinacea purpurea by identifying morphological changes in testicles of rats. **Objective.** The aim of the study was to determine the morphological changes in testicles of rats after using them immunomodulator - 7% alcohol tincture of Echinacea purpurea. **Methods.** Experimental group consisted of 35 white rats-males weighing 180-200g, control group - 6 males. Animals of the experimental group was administered intragastrically 7% alcohol tincture of Echinacea purpurea based 0,0018 mg/kg weight of the animals for five days. After the experiment the animals were euthanized by cervical dislocation, the animals were removed from the testes. Methylene blue and sodium tetraborate used during the manufacture of histological preparations for coloring the slices. **Results.** It was ascertained during the investigation that the morphological changes were taking place in the animals' testes injected immunomodulator. Those changes slightly differed from the structure of the control animals' testes. Tunica albuginea of testicles was of the same structure as in the testes of the animals of the control group, the cell dissemination was not observed. Convoluted seminiferous tubules are closely adjoined to each other, have rounded or oval forms. The layers of basal membrane retained its orientation, edematous effects were not observed, there was not a delamination of basal membrane. 4-5 spermatogenic epithelial layers, where germ cells at all stages of the spermatogenic cycle: spermatozoon, spermatocytes, spermatids 1, 2 order and spermatozoa are determined on the basal membrane. The gametes at all stages development were present in greater numbers comparing with the control animals' testicles in sight of the microscope. The large diameter average values of the rats' tests convoluted seminiferous tubules consumed the immunomodulator increased in comparison with the animals' control group to 0.252 ± 0.036 mm ($p < 0.005$). It attested the improvement in the testicles' spermatogenic function. **Conclusion.** Moderate venostasis in the arterial and venous link of the testicular ovarian blood stream was observed in rats after application of Echinacea purple tincture. Mild arterial edema was manifested more than in the venous bed in the structure of the rats' microcirculatory bed of testicles after their using of immunomodulator.

Key words: tincture of Echinacea purpurea, rat, testicle, convoluted seminiferous tubules.

Citation:

Sharapova O.M. [The effects of 7% alcohol tinctures of echinacea purpurea on the morphological structure of rat testes]. Morphologia. 2018;12(2):72-6. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.72-76>.

Вступ

До теперішнього часу триває пошук лікарських засобів, що можуть використовуватися в терапії та хірургії чоловічих статевих органів, які б покращували імунний статус взагалі і кровопостачання органів зокрема. Одним із таких препаратів є Гінкго білоба, ефекти якого на яєчка щурів, що знаходилися в умовах гіпотермії, простежувалися у роботах Пастухової В.А. [1]. Буланкін

Д.Г. відзначав позитивні ефекти Гінкго білоба на кровопостачання органів [2]. Також подібними ефектами володіють препарати, у склад яких входить екстракт з листя хмелю звичайного та гарбузове насіння, що мають репаративні, спазмолітичні, антимікробні та антиандрогенні властивості [3]. Музика Н.Я. також вважає перспективною групою для лікування чоловічих статевих органів препарати на основі рослинної сировини

вини [4]. Автор приділила увагу вивченню природним сполукам, а саме комплексу біологічно активних речовин (БАР), вилучених з суцвітть вільхи, берези – «Альтабор». Субстанція "Альтабору" має такі позитивні ефекти дії на чоловічі статеві органи, як репаративні, протизапальні та антиоксидантні. За даними Крутських Т.В. субстанція "Альтабору" не чинить алергізуючої, імунотоксичної, місцево подразнювальної і гонадотоксичної дії [5, 6], що має суттєве значення для підвищення ефективності терапії захворювань чоловічих статевих органів. Гриценко В. І. довів доцільність використання порошків рослинних екстрактів з метою створення супозиторіїв для лікування захворювань передміхурової залози [7].

До препаратів, що мають імуномодельючі властивості, відноситься 7% спиртова настоянка ехінацеї пурпурової. Цей препарат регулює стан імунної системи живих організмів, тобто належить до імуномодуляторів. Також цей препарат володіє ранозагоючими, радіопротекторними, імунорегулюючими, антиоксидантними властивостями [8, 9]. Одним із важливих складових цього препарату є те, що він впливає на структуру епітеліоцитів кровоносних судин органів, тобто має епітеліопозитивний ефект.

Мета – встановлення морфологічних змін у структурі ячок щурів, що вживали імуномодулятор – 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової.

Матеріали та методи

У дослідженні використано 35 щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г, із них контрольна група складала 6 самців. Тваринам дослідної групи внутрішньошлунково вводили 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової з розрахунку 0,0018 мл/г маси тварини протягом одного, двох і п'яти днів (із понеділка по п'ятницю). Вивід тварин з експерименту проводився шляхом дислокації шийних хребців за умов глибокого наркозу, із тварин вилучали ячка.

З епоксидних блоків ячок виготовляли напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм. Під час виготовлення гістологічних препаратів для забарвлення зрізів ячок використовували метиленовий синій і тетраборнокислий натрій. На зрізи ячок наносили однакове число крапель 1% водного розчину метиленового синього і 1% водного розчину бури. Декілька разів проводили скельце над полум'ям газового пальника, не допускаючи закипання рідини. Промивали під тонким струменем теплої водопровідної води, висушували, покривали бальзамом [10]. Проводили опис гістологічних препаратів під біокулярним мікроскопом. Препарати фотографували за допомогою цифрової фотокамери та мікроскопу "LEICA CME" (об'єктив Plan 4^x∞/-, 10^xх/0.25, 40^x х/0.65 ∞/0.17). Мікроморфометричне дослідження об'єктів здійснювали на комплексі, до складу якого входили

мікроскоп "LEICA CME", цифровий фотоапарат Olympus (модель NO.E – 300DC 9V, № Я625517820) із п'ятимегапіксельною матрицею, що з'єднаний з мікроскопом системою адаптерів виробництва цієї ж фірми. Вимірювали довжину великого діаметра звивистих сім'яних каналців ячок із наступною статистичною обробкою одержаних результатів [11].

Результати та їх обговорення

Ячка щурів контрольної групи мали наступний вигляд: білкова оболонка не змінена, звивисті сім'яні каналці щільно прилягали один до одного. Великий діаметр звивистих сім'яних каналців дорівнював $0,226 \pm 0,030$ мм ($p < 0,005$). На базальній мембрані розташовувалися світлі і темні сперматогонії, які мали округлу форму, укомплектовані по всій периферичній окружності мембрани, з ядрами овальної форми. Підтримуючі клітини Сертолі розташовувалися між сперматогоніями на базальній мембрані. Існували світлі і темні клітини. Суспендоцити досягали верхівками просвіту каналця. Клітини мали пірамідальну форму, з ядрами неправильної форми. У просвіті сім'яних каналців простежувалися всі клітини сперматогенезу, починаючи з сперматогоній до зрілих сперматозоїдів, що виходили з верхівок суспендоцитів хвостиками вперед. Між сусідніми суспендоцитами існували зони щільних контактів.

На різних ділянках каналців сперматогенез мав різну стадію, спостерігалось диференціювання сперматид на шийку і хвіст. Ендокриноцити розташовувалися між сім'яними каналцями в інтерстиційній тканині близько до кровоносних судин. Форма однієї частини клітин округла або овальна, інші мали багатокутну форму. Ядра округлої, овальної або неправильної форми (рис.1). У кровоносній системі ячок дослідної групи капіляри утворювали судинну мережу, що розгалужувалася в міжканалцевих проміжках ячок. Спазмованих і спустошених ділянок у судинній мережі не спостерігалось. Ендотеліоцити та їх базальні мембрани були помірно набряклими. Дистрофічних змін ядер не спостерігалось. Люмінальна поверхня клітин залишалася гладкою. Відзначалось помірне повнокров'я артерій і вен. У венозній ланці судини не були набряклими, морфологічних змін ендотеліоцитів і їх ядер не відзначалось.

У результаті дослідження встановлено, що в ячках щурів, що одержували імуномодулятор – 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової в перший день відбувалися наступні зміни.

Ячка мали такі ж розміри, як і ячка контрольних тварин. Білкова оболонка ячок залишалася незмінною у порівнянні з ячками тварин контрольної групи, клітинної інфільтрації не відзначалось. Звивисті сім'яні каналці щільно прилягали один до одного, мали округлу або овальну форму. Шари базальної мембрани сім'яних кана-

льців зберігали свою орієнтацію, набрякових явищ не спостерігалось. На базальній мембрані були присутні 4-5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини були представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу. На бічних поверхнях клітин Сертолі знаходилися бухтоподібні заглиблення, до яких примикали сперматоцити і сперматиди, що диференціювалися. Великий діаметр сім'яних канальців збільшувався до $0,252 \pm 0,036$ мм ($p < 0,005$). Цитоплазма сперматогенних клітин була гіпохромна (рис.2).

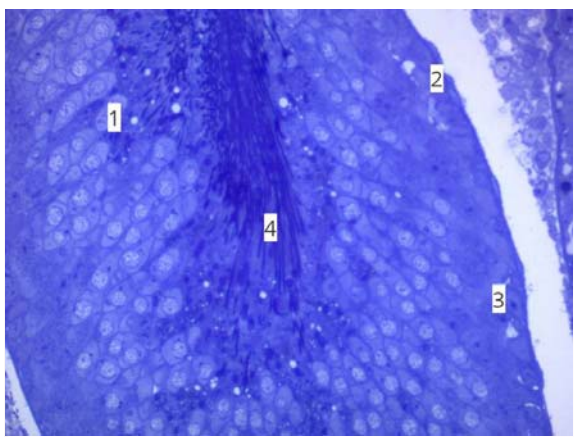


Рис. 1. Яечко контрольного щура. Забарвлення метиленовим синім. 1 - звивистий сім'яний каналець; 2 - базальна мембрана; 3 - сперматогонії; 4 - зрілі сперматозоїди. $\times 400$.

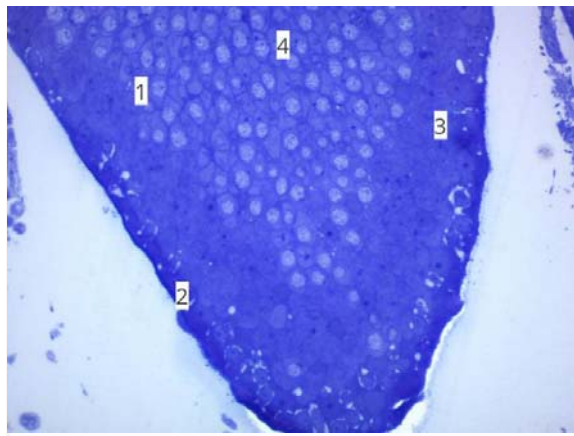


Рис.2. Яечко щура після вживання настоянки ехінацеї пурпурової. Забарвлення метиленовим синім. 1 - звивистий сім'яний каналець; 2 - базальна мембрана; 3 - сперматогенний епітелій; 4 - сперматиди. Помірний набряк інтерстиційної тканини. $\times 400$.

Яечка щурів, що отримували 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової, на другий день її вживання набували наступних змін. Білкова оболонка яєчок залишалася такою ж, як і в яєчках тварин попередньої групи, клітинної інфільтрації не відзначалося. Звивисті сім'яні канальці щільно прилягали один до одного, мали округлу, овальну або повздожню форми. Зберігалася пошаровість базальної мембрани сім'яних канальців, явищ набряку не простежувалося. На базальній мембрані були присутні 5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу. Сперматозоїди в вигляді великих скупчень надходили у просвіт канальця.

льну або повздожню форми. Між сім'яними канальцями набрякової рідини у вигляді скупчень вакуолей не спостерігалось. Шари базальної мембрани сім'яних канальців зберігали свою орієнтацію, набрякових явищ не простежувалося. На базальній мембрані були присутні 4-5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини були представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу: від сперматогоній до сперматозоїдів, які у великій кількості скупчувалися у просвіті канальців. Клітини Сертолі виразно диференціювалися на базальній мембрані канальців у вигляді клітин з гіпохромною цитоплазмою і пікнотичним ядром. На верхівках люмінальних частин клітин Сертолі знаходилися бухтоподібні заглиблення, до яких примикали сперматоцити і сперматиди, що диференціювалися. Виразно позначалися зрілі сперматозоїди з гіпохромною цитоплазмою, що виходили у просвіт канальців хвостиками вперед. Великий діаметр сім'яних канальців був більшим, ніж у щурів у перший день вживання тваринами імуномодулятора, і досягав значення $0,262 \pm 0,037$ мм ($p < 0,005$) (рис.3).

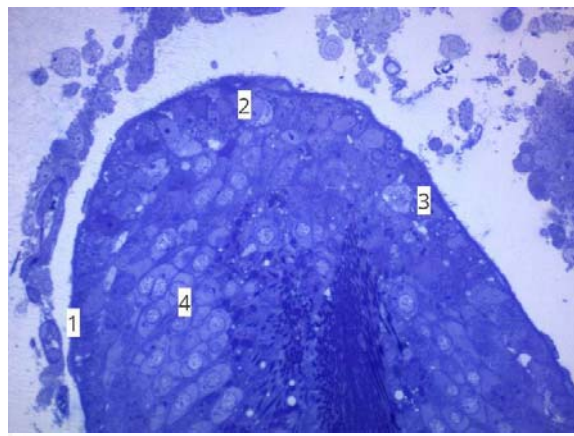


Рис. 3. Яечко щура на другий день вживання настоянки ехінацеї пурпурової. Забарвлення метиленовим синім. 1 - базальна мембрана сім'яного канальця; 2, 3 - клітини Сертолі; 4 - сперматоцити. Пікноз ядер клітин Сертолі з помірною зернистістю цитоплазми. $\times 400$.

В яєчках щурів, що отримували 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової, на п'ятий день її вживання відбувалися наступні зміни. Білкова оболонка яєчок залишалася без суттєвих змін, клітинної інфільтрації не відзначалося. Звивисті сім'яні канальці щільно прилягали один до одного, мали округлу, овальну або повздожню форми. В міжканальцевих просторах набрякової рідини не було. Зберігалася пошаровість базальної мембрани сім'яних канальців, явищ набряку не простежувалося. На базальній мембрані були присутні 5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу. Сперматозоїди в вигляді великих скупчень надходили у просвіт канальця.

Клітини Сертолі виразно диференціювалися на базальній мембрані каналців у вигляді клітин з 2-3 пікнотичними ядрами. До заглиблень на люмінальній поверхні клітин Сертолі примикали сперматоцити і сперматиди, що диференціювалися в зрілі сперматозоїди. Великий діаметр сім'яних каналців був більшим, ніж у щурів у другий день вживання тваринами імуномодулятора, і досягав середнього значення $0,265 \pm 0,034$ мм ($p < 0,005$) (рис.4).

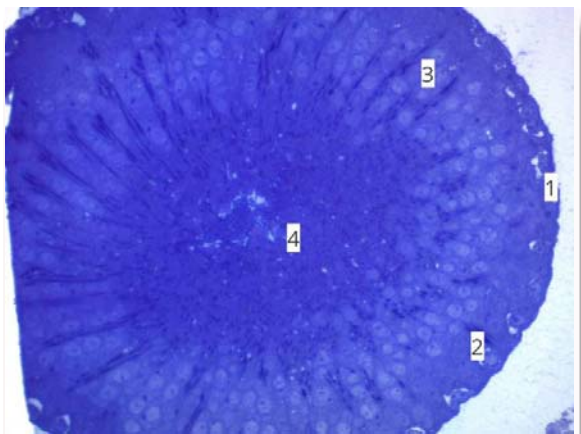


Рис. 4. Яечко щура на п'ятий день вживання настоянки ехінацеї пурпурової. Забарвлення метиленовим синім. 1 – базальна мембрана сім'яного каналця; 2 – клітина Сертолі; 3 - сперматогонії; 4 - сперматозоїди. Активна продукції клітинами Сертолі сперматозоїдів. $\times 400$.

Висновки

1. У порівнянні з яєчками контрольних щурів у структурах яєчок щурів, що одержували 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової протягом п'яти днів, відбувалися незначні зміни у вигляді змін форми сім'яних каналців, діаметр яких досягав значення $0,226 \pm 0,030$ мм ($p < 0,005$), збільшення кількості клітин сперматогенного ряду, відсутності розшарування базальної мембрани.

2. Показники середнього значення великого діаметра звивистих сім'яних каналців яєчок щурів, що вживали імуномодулятор, збільшувалися на другий день вживання імуномодулятора до $0,262 \pm 0,037$ мм ($p < 0,005$) і на п'ятий день до $0,265 \pm 0,034$ мм ($p < 0,005$) у порівнянні з тваринами контрольної групи, що свідчило про покращення сперматогенної функції яєчок.

Перспектива подальших досліджень полягає у визначенні морфологічних змін в яєчках щурів у більш пізні терміни дії 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової.

Літературні джерела References

- Pastukhova VA. [Damage to the testicular spermatic epithelium caused by the action of chronic hyperthermia]. *Morphologia*. 2009;3(4):51-4. Ukrainian.
- Bulankin DG, Kurkin VA. [Definition of flavonoids in raw materials and preparations of ginkgo double-lipped]. *Pharmacy*. 2011;59(2):12-4. Russian.
- Ruban OA, Malinovska SA, Al-Tovitti. Definition of physico-chemical and pharmacological properties of dry extract of hops of common cones. *Pharmaceutical Journal*. 2012;4:67-70.
- Musica NYa, Kostenyan MS, Palamar AO [Analysis of the pharmaceutical market of Ukraine for the treatment of prostatitis]. In: [Proceedings of the III scientific-practical conference: Pharmacoeconomics in Ukraine. Status and prospects of development; 2010; February 25-26; Kharkiv, Ukraine]. Nauka; 2010: 244-5. Ukrainian.
- Krutskih TV, Dathaev UM. [Substantiation of the choice of suppository basis for Altabbor suppositories]. *Pharmacy of Kazakhstan*. 2015;5:56-60. Russian.
- Krutskih TV [Study of the pharmacological and technological properties of the substance altabbor]. *Odesskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2015;4:11-13. Ukrainian.
- Gritsenko VI, Ruban OA [Research of powders of plant extracts for the purpose of creation of suppositories for the treatment of diseases of the prostate gland]. *Pharmaceutical magazine*. 2013;4:92-5. Ukrainian.
- Klishch IM, Drogovoz SM [Investigation of the Effects of Combined Pills and Echinacea Extract Substance on Immune System Indicators]. *Pharmaceutical magazine*. 2012;2:112-6. Ukrainian.
- Koval VM, Groshovy TA. [Research on the choice of excipients to obtain zinc tablets of asparaginate with ascorbic acid and Echinacea extract]. *Pharmaceutical magazine*. 2013;1:74-8. Ukrainian.
- Bagriy MM, Dibrova VA, Popadinets OG, Grischuk MI. [Methods of morphological research]. Vinnitsa: Nova Knyga; 2016. 295 p. Ukrainian.
- Avtandilov GG. [Medical morphometry]. Moscow: Meditsina; 1990. 356 p. Russian.

Шарапова О.М. Наслідки дії 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової на морфологічну будову яєчок щурів.

РЕФЕРАТ. До теперішнього часу триває пошук лікарських засобів, що можуть використовуватися в терапії та хірургії чоловічих статевих органів, які б покращували імунний статус взагалі і кровопостачання органів зокрема. До препаратів, що мають імуномодельючі властивості, відноситься 7% спиртова настоянка ехінацеї пурпурової. Цей препарат регулює стан імунної системи, тобто належить до імуномодуляторів. Також цей препарат володіє ранозагоючими, радіопротекторними, імунорегулюючими, антиоксидантними властивостями. Мета – встановлення морфологічних змін у структурі яєчок щурів, що вживали імуномодулятор – 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової. У дослідженні використано 35 щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г. Тваринам дослідної групи внутрішньошлунково вводили 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової з розрахунку 0,0018 мл/г маси тварини протягом одного, двох і п'яти днів. З епоксидних блоків яєчок виготовляли напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм із подальшим забарвленням метиленовим синім і тетраборнокислим натрієм. У результаті проведеного дослідження встановлено, що 7% спиртова настоянка ехінацеї пурпурової в яєчках щурів дослідної групи викликає незначні морфологічні зміни у вигляді збільшення кількості епітеліальних шарів до 4-5, появи більшої кількості клітин на всіх стадіях сперматогенного циклу, починаючи від сперматозоонів до сперматозоїдів. Також встановлено, що після вживання тваринами 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової поміж прошарками базальної мембрани кількості рідини не збільшилося. Проміж клітинами Сертолі, міоїдними клітинами відновлювалися десмосомні контакти. Після введення тваринам 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової морфологічні зміни в яєчках визначалися у розширенні площі сперматогенної тканини, що позначилося у збільшенні середнього значення великого діаметра звивистих сім'яних каналців до $0,265 \pm 0,034$ мм. Встановлено, що ендокриноцити розташовувалися між звивистими сім'яними каналцями в інтерстиційній тканині близько до кровеносних судин.

Ключові слова: настоянка ехінацеї пурпурової, щур, яєчко, звивисті сім'яні каналці.

Шарапова Е.Н. Последствия действия 7% спиртовой настойки эхинацеи пурпурной на морфологическое строение яичек крыс.

РЕФЕРАТ. К настоящему времени продолжается поиск лекарственных средств, которые могут использоваться в терапии и хирургии мужских половых органов, улучшая иммунный статус в целом и кровоснабжение органов в частности. К препаратам, имеют иммуномодулирующие свойства, относится 7% спиртовая настойка эхинацеи пурпурной. Этот препарат регулирует состояние иммунной системы, то есть относится к иммуномодуляторам. Также этот препарат обладает ранозаживляющими, радиопротекторными, иммунорегулирующими, антиоксидантными свойствами. Цель – установление морфологических изменений в структуре яичек крыс, употребивших 7% спиртовую настойку эхинацеи пурпурной. В исследовании использованы 35 крыс-самцов линии Вистар массой 180-200 г. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили 7% спиртовую настойку эхинацеи пурпурной из расчета 0,0018 мл/г массы животного в течение одного, двух и пяти дней. Из эпоксидных блоков яичек изготавливали полутонкие срезы толщиной 1 мкм с последующим окрашиванием метиленовым синим и тетраборнокислым натрием. В результате проведенного исследования установлено, что иммуномодулятор 7% спиртовая настойка эхинацеи пурпурной в яичках крыс опытной группы вызывает незначительные морфологические изменения в виде увеличения количества эпителиальных слоев до 4-5, появлении большого количества клеток на всех стадиях сперматогенного цикла. Также установлено, что после употребления животными 7% спиртовой настойки эхинацеи пурпурной между прослойками базальной мембраны количество жидкости не увеличилось. Между клетками Сертолли, миоидными клетками восстанавливались десмосомные контакты. После введения животным 7% спиртовой настойки эхинацеи пурпурной морфологические изменения в яичках определялись в расширении площади сперматогенной ткани, что проявилось в увеличении среднего значения большого диаметра извитых семенных каналцев до $0,265 \pm 0,034$ мм. Определено, что эндокриноциты располагались между семенными каналцами в интерстициальной ткани близко к кровеносным сосудам.

Ключевые слова: настойка эхинацеи пурпурной, крыса, яичко, извитые семенные каналцы.