

## Вплив кріоекстракту спінальних гангліїв на естральний цикл щурів різного віку

Нестерук Г.В.<sup>\*</sup>, Устиченко В.Д., Алабедалькарім Н.М., Легач Є.І.

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Україна

<sup>\*</sup>E-mail: nesterukhanna@gmail.com

### Ключові слова:

- спінальні ганглії
- кріоекстракт
- яєчники
- естральний цикл

### Анотація

В роботі вивчали вплив кріоекстракту спінальних гангліїв (КЕСГ) як композиції, яка містить нейротрофічні фактори (НФ), на естральний цикл (ЕЦ) щурів різного віку. В експериментах використовували щурів-самиць репродуктивного віку (РВ, 6 місяців) та пізнього репродуктивного віку (ПРВ, 14 місяців). КЕСГ отримували із спінальних гангліїв неонатальних поросят та вводили щурам внутрішньочеревно впродовж 9 днів по 0,2 мл/тварину. У якості контролю використовували введення ФР. Встановлено, що введення КЕСГ щурам РВ супроводжувалося порушенням ЕЦ, яке проявлялося у збільшенні його тривалості, підвищенні кількості іррегулярних циклів за рахунок дієструсу. На відміну від щурів РВ, у щурів ПРВ не спостерігалось значущого зміння ЕЦ в залежності від введення КЕСГ, однак характерні вікові зміння репродуктивної системи також включали зростання кількості іррегулярних ЕЦ з домінуванням фази дієструсу в їхньої структури.

## Вступ

Підвищення віку жінок, які народжують вперше, є сучасною тенденцією у світовому суспільстві. У зв'язку з цим розробка підходів, спрямованих на збереження фертильності жінок, набуває важливого значення. Відомо, що активація примордіальних фолікулів яєчників і вступ їх у період росту відбувається спорадично і незалежно від гормональної регуляції. Одним з кандидатів на роль активаторів переходу фолікулів зі стадії примордіальних у стадію первинних є сімейство нейротрофічних факторів (НФ), особисто фактор росту нервів, нейротропний фактор мозку, нейротрофіни 3 та 4/5, гліальний нейротрофічний фактор [1, 2, 3, 4]. Однак вплив цих сполук на функціональні властивості яєчників досі вивчено недостатньо. Кріоекстракт спінальних гангліїв (КЕСГ) є композицією, яка містить НФ [5, 6]. Виходячи з вищесказаного, метою роботи було вивчення впливу КЕСГ на естральний цикл щурів різного віку.

## Матеріали та методи

Кріоекстракт отримували із спінальних гангліїв неонатальних поросят за методом [7]. Перед використанням КЕСГ розводили фізіологічним розчином (ФР) так, що концентрація білка в ньому становила 0,3 мг/мл. В експериментах використовували білих безпородних щурів-самиць 6 місяців, що відповідало репродуктивному віку (РВ) та 14 місяців, що відповідало пізньому репродуктивному віку (ПРВ) [8]. КЕСГ вводили щоденно внутрішньочеревно впродовж 9 днів по 0,2 мл/тварину. У якості контролю використовували щурів із введенням ФР. Для визначення фази естрального циклу (ЕЦ) щоденно брали

мазки з піхви щурів та вивчали їх цитологічним методом [9]. Експеримент проводили у лютому та березні місяцях. Тварин утримували в приміщенні при температурі повітря  $18 \pm 2^\circ\text{C}$  в клітках розміром  $40 \times 60 \times 20$  см по 6 особин у кожній. У приміщенні дотримувалися природного режиму освітлення. ЕЦ у щурів контролювали щоденно о 10-й годині ранку. Моніторинг проводили за 2 тижні до введення, під час введення та протягом місяця після введення КЕСГ. Введення КЕСГ починали в еструсі. В експерименті були використані наступні групи тварин: 1 – РВ з введенням ФР ( $n = 8$ ); 2 – РВ з введенням КЕСГ ( $n = 8$ ); 3 – ПРВ з введенням ФР ( $n = 8$ ); 4 – ПРВ з введенням КЕСГ ( $n = 8$ ). Аналізували такі параметри: тривалість ЕЦ; відносну кількість фаз еструсу та дієструсу (за 100% брали загальну кількість діб спостереження); відносну кількість іррегулярних ЕЦ (за 100% брали загальну кількість ЕЦ).

Результати представляли у вигляді  $Me (Q1; Q3)$  ( $Me$  – медіана,  $Q1$  – 1-й кuartіль;  $Q3$  – 3-й кuartіль). Статистичну значущість відмінностей між групами оцінювали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уїтні. Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

## Результати та обговорення

Середня тривалість ЕЦ у щурів РВ 1-ї (контрольної) групи складала 4 доби (таблиця), при цьому фази еструсу та дієструсу у структурі ЕЦ займали приблизно однакову частину (близько 25%), а кількість іррегулярних циклів дорівнювала 9%. Введення КЕСГ щурам РВ (2-а група) приводило до підвищення кількості іррегулярних циклів на 38% та пролонгування ЕЦ в основному за рахунок фази дієструсу. У щурів ПРВ 3-ї (контрольної) групи тривалість ЕЦ мала тенденцію до збільшення в порівнянні з щурами РВ, також спостерігалось значуще підвищення кількості фаз дієструсу та іррегулярних циклів. Такі змінення є характерними при старінні репродуктивної системи щурів [10]. У щурів ПРВ з введенням КЕСГ (4-а група) не спостерігалось значущих відмінностей показників в порівнянні з щурами того ж віку з введенням ФР (3-я група), але для них теж було встановлено тенденцію до підвищення кількості іррегулярних циклів та фаз дієструсу в порівнянні з щурами РВ 1-ї групи.

Табл. 13.1.: Показники ЕЦ у щурів різного віку при введенні ФР або КЕСГ.

Показник	РВ		ПРВ	
	ФР (1-а група)	КЕСГ (2-а група)	ФР (3-я група)	КЕСГ (4-а група)
Тривалість ЕЦ, доба	4 (4; 4)	5 (4; 5)*	4 (4; 5)	4 (4; 6)
Кількість фаз еструсу, %	24,4 (24,3; 25)	20 (20; 22,5)	20 (18,1; 22,2)	27,3 (21,1; 28,9)
Кількість фаз дієструсу, %	25,6 (25; 31,1)	41,4 (35; 42,5)*	39,3 (38,8; 40)*	31,5 (30,3; 42,4)
Кількість іррегулярних ЕЦ, %	9,3 (9; 12)	47,5 (45; 49)*	50 (47; 50)*	48,5 (47,6; 50)

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

## Висновки

Таким чином, введення КЕСГ щурам РВ супроводжувалося порушенням ЕЦ, яке проявлялося у збільшенні його тривалості, підвищенні кількості іррегулярних циклів за рахунок дієструсу. На відміну від щурів РВ, у щурів ПРВ не спостерігалось значущого зміння ЕЦ в залежності від введення КЕСГ, однак характерні вікові змінення репродуктивної системи також включали зростання кількості іррегулярних ЕЦ з домінуванням фази дієструсу в їхньої структурі.

## Література

- [1] 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): 2078-2086. DOI: <https://doi.org/10.1210/endo.142.5.8126> [PMid:11316775]

- [2] 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): 131-140. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-08-0474> [PMid:19357131 PMCID:PMC3150184]
- [3] Nilsson E, Dole G, Skinner MK. Neurotrophin NT3 promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Reproduction*. 2009; 138 (4): 697-707. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-09-0179> [PMid:19584175 PMCID:PMC5728087]
- [4] 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): 671-682. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-07-0405> [PMid:18304989 PMCID:PMC5703190]
- [5] Obata K, Tsujino H, Yamanaka H, et al. Expression of neurotrophic factors in the dorsal root ganglion in a rat model of lumbar disc herniation. *Pain*. 2002; 99 (1-2): 121-132. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(02\)00068-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00068-4)
- [6] Haberberger RV, Barry C, Dominguez N, Matusica D. Human Dorsal Root Ganglia. *Front Cell Neurosci*. 2019; 13: 271. Published 2019 Jun 19. DOI: <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00271> [PMid:31293388 PMCID:PMC6598622]
- [7] Globa VY, Bondarenko TP, Ali SG, Bozhok GA, Legach EI. Contractile Activity of Detrusor of Rats with Infravesical Obstruction After Introduced Cryoextract of Spinal Ganglia and Biologically Active Products of Mantle Gliocyte Culture. *Probl Cryobiol Cryomed [Internet]*. 2019Jun.20 [cited 2020Aug.26];29(2):164. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo29.02.164>
- [8] Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4 (6) 624-30.
- [9] Котельников АВ, Котельникова СВ. Характеристика эстрального цикла белых крыс на разных этапах онтогенеза при введении витамина Е. *Вестник Астраханского государственного технического университета*. 2005; 3 (26): 215- 218.
- [10] Жукова ОВ, Обухова ЕС, Хижкин ЕА, Тындык МЛ, Виноградова ИА. Овуляторная функция крыс в условиях блокады мелатониновых рецепторов. *Ученые записки Петрозаводского государственного университета*. 2015; 8 (153): 98-104.