

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕГИЛИРОВАННОГО ГРАНУЛОЦИТАРНОГО
КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ПРИ НАРУШЕНИЯХ СПЕРМАТОГЕНЕЗА,
ВЫЗВАННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ИСТОЧНИКОВ ЕГО ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПУЛА**

В.А. Машанова, С.И. Камалова

Научный руководитель: профессор, д.б.н. Т.Г. Боровская

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634034

E-mail: lgrig2@mail.ru

**EFFICIENCY PEG – GRANULOCYTE COLONY – STIMULATING FACTOR IN
SPERMATOGENESIS FAILURE, CAUSE DAMAGE TO THE SOURCE OF ITS PROLIFERATIVE
POOL**

V.A. Maschanova, S.I. Kamalova

Scientific Supervisor: Prof., Dr. T.G. Borovskaya

Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg

Russia, Tomsk, Lenin str., 3, 634034

E-mail: lgrig2@mail.ru

***Abstract.** In experimental studies carried out on rats of Wistar population, comparative evaluation of pharmacological efficacy of PEG - granulocyte stimulating factor and granulocyte stimulating factor with testicular failure due to damage to the spermatogonial stem cells. It was found that PEG-CSF is more effective stimulant of reparative regeneration processes of testicular tissue.*

Актуальность. Последние десятилетия характеризуются беспрецедентным возрастанием мужской инфертильности [1]. Это связывают с существенным повышением уровня токсических эндогенных воздействий. В настоящее время существует обоснование повышенной потребности средств фармакотерапии, стимулирующих процессы репаративной регенерации мужских половых желез в условиях дефицита стволовых сперматогониальных клеток (ССК) [2,3]. Повреждение ССК происходит при действии радиации и у пациентов, получающих цитостатическое лечение по поводу ревматоидных и онкологических заболеваний. Данные литературы свидетельствуют о том, что в последние годы отмечается существенное возрастание (в 2 раза) частоты заболеваемости ревматоидным артритом. Благодаря успехам лечения злокачественных новообразований, в настоящее время возросло число пациентов, излеченных от онкологической патологии, и желающих реализовать свою способность к деторождению [1].

Известно, что пролиферации ССК ограничена количеством клеток микроокружения (клетки Сертоли – КС), которые в зрелой сперматогенной ткани митотически инертны. Репаративная регенерация структурных компонентов семенника идет путем формирования новых канальцев незрелого типа из регенераторной зоны, в которой КС обладают способностью к делению, что не ограничивает размножение ССК [4]. Однако возможности собственной системы репаративной регенерации семенников при существенном повреждении ССК оказываются не состоятельными. Этот процесс можно

фармакологически стимулировать с помощью средств, обладающих способностью мобилизовать стволовые клетки костного мозга в периферическую кровь с их последующим хомингом в поврежденные ткани и активацией региональных стволовых клеток. К числу таких средств относится гранулоцитарный колониестимулирующий фактор Г–КСФ [2, 3]. Однако использование Г–КСФ ограничено из-за серьезных побочных эффектов. В НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга совместно с компанией «Саентифик Фьючер Менеджмент», для снижения токсичности Г–КСФ был иммобилизован на полиэтиленгликоль с помощью метода электронно-лучевого синтеза. В результате был получен новый препарат – пегилированный ГКСФ (ПЭГ–ГКСФ).

Цель. Целью настоящего исследования явилось проведение экспериментальной сравнительной оценки эффективности Г–КСФ и ПЭГ–ГКСФ на модели тестикулярной недостаточности, обусловленной истощением пролиферативного пула сперматогенеза.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 60 аутбредных крысах-самцах (сток CD), массой 250-300 г. Недостаточность сперматогенеза, обусловленную повреждением стволовых сперматогонимальных клеток, моделировали однократным внутривенным введением в максимально переносимой дозе цитостатического препарата паклитаксел. Животным экспериментальных групп вводили Г–КСФ и ПЭГ–ГКСФ 1 раз в день в течение 5 дней в дозе 100 мкг/кг. В эксперименте также были использованы интактные животные (фон). Через 1,5, 2 и 3 месяца (сроки проявления токсического действия на сперматогонии) проводили эвтаназию животных (в CO₂ камере), извлекали эпидидимис и семенник. Определяли общее количество половых клеток, приходящихся на придаток семенника (ОКС). На парафиновых срезах семенников, толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилин эозином, подсчитывали количество сперматогоний, КС; вычисляли степень зрелости сперматогенного пласта [4]. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты. Установлено, что через 1,5 месяца после введения паклитаксела в семенниках крыс контрольной группы выявлялись отдельные признаки обновления тестикулярной ткани, судя по достоверному снижению степени зрелости сперматогенного пласта (Рис.1,в). Однако степень выраженности этих признаков оказалась незначительной. В связи с этим, процесс репаративной регенерации ткани оказался несостоятельным: общее количество сперматогоний и половых клеток во все сроки наблюдения не возрастали по сравнению с значениями фона. Через 1,5 месяца в семенниках крыс, получавших на фоне введения паклитаксела Г–КСФ, также выявлялось снижение степени зрелости сперматогенного пласта. Однако при этом отмечалось достоверное возрастание количества КС (Рис.1,б). Стимуляция репаративных процессов в этой группе животных привела к возрастанию продуктивности сперматогенеза. В последующие сроки наблюдения отмеченные признаки репаративной регенерации были выражены в большей степени. Через 2 месяца после начала опыта продуктивность сперматогенеза достигала фоновых значений. Количество сперматогоний к концу эксперимента (3 мес) достоверно превышало контрольные значения, но не достигало фона (Рис.1,а). Через 1,5 месяца после начала опыта, в семенниках крыс, получавших на фоне введения паклитаксела ПЭГ–ГКСФ, признаки репаративной регенерации сперматогенной ткани оказались выражены в большей степени, чем после использования непегилированной молекулы. В результате этого уже в первый период наблюдения отмечалось увеличение количества сперматогоний и ОКС. Через 2 месяца после начала опыта, количество

сперматогоний у крыс этой группы животных достигало фоновых показателей, а продуктивность сперматогенеза достоверно возросла в 2 раза по сравнению с фоном (Рис. 1, г).

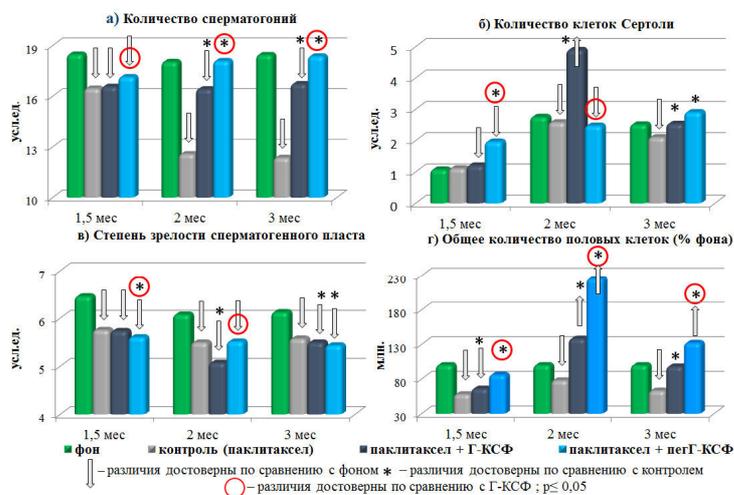


Рис.1. Состояние сперматогенеза крыс в отдаленные сроки после сочетанного введения паклитаксела и Г-КСФ или ПЕГ-Г-КСФ

Через 3 месяца после введения паклитаксела в семенниках крыс, получавших паклитаксел и ПЕГ-ГКСФ, признаков тестикулярной недостаточности не выявлялось. В тоже время, судя по степени зрелости сперматогенного пласта и количеству КС, репаративная регенерация ткани продолжалась.

Выводы. Восстановление численности клеточной популяции сперматогоний после введения паклитаксела и Г-КСФ не завершилось через 3 месяца после начала опыта, когда на фоне использования ПЕГ-ГКСФ – завершилось уже через 2 месяца. У крыс, получавших ПЕГ-ГКСФ, продуктивность сперматогенеза возросла в большей степени, чем после введения его непегилированной формы. Таким образом, ПЕГ-ГКСФ является высокоэффективным средством стимулирующим процессы репаративной регенерации сперматогенной ткани, при повреждении источников пролиферативного пула сперматогенеза. Эффективность непегилированной формы препарата оказалась менее выраженной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihljajev V., Pomm K., Ladva R., Korrovits P., Laan M. (2017). Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. Human Reproduction, no. 1, pp. 18-31.
2. Рак и репродукция / Под ред. А.А. Параконной. – М.: Галеон, 2012. – 208 с.
3. Kotzur T., Benavides-Garcia R., Mecklenburg J., Sanchez J. R., Reilly M., Hermann B.P. (2017). Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) promotes spermatogenic regeneration from surviving spermatogonia after high-dose alkylating chemotherapy. Reprod Biol Endocrinol., no.15, pp. 7.
4. Сухоруков В.С., Шамшад Д.Е. Определение степени зрелости сперматогенного пласта крысы при его регенерации и в процессе созревания интактного семенника // Арх. анат., гист. и эмбриологии. – 1989. – № 9. – С. 89 – 91.