

©О. М. Герман <https://orcid.org/0000-0002-3864-8588>

©А. Т. Телев'як <https://orcid.org/0000-0001-7173-400X>

©О. Я. Галицька-Хархаліс <https://orcid.org/0000-0002-5205-4591>

©І. І. Боймиструк <https://orcid.org/0000-0003-3343-3104>

©Т. Р. Генік <https://orcid.org/0000-0001-8088-8721>

*Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,  
Тернопіль, Україна*

## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ ЯЄЧОК БІЛИХ БЕЗПОРОДНИХ ЩУРІВ-САМЦІВ НА ФОНІ 28-ДЕННОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПРЕДНІЗОЛОНУ У ВИСОКИХ ДОЗАХ

**РЕЗЮМЕ.** Дані останніх досліджень виявляють, що чоловіче безпліддя на сьогоднішній день залишається однією із актуальних проблем. У більшості випадків ця проблема пов'язана з порушенням сперматогенезу, що проявляється зниженням кількості, рухливості або морфології сперматозоїдів. До можливих причин, що призводять до розладів нормального функціонування статевих клітин, належать як ендокринні порушення при низці захворювань, так і, нерідко, нераціональне застосування гормонотерапії.

**Мета** – встановити особливості ультраструктурних змін клітинних елементів паренхіми яєчок білих безпородних щурів-самців на фоні 28-денного введення преднізолону у високих дозах.

**Матеріал і методи.** Експерименти проведено на білих безпородних статевозрілих щурах, яким протягом 28 днів щоденно внутрішньом'язово вводили преднізолон з розрахунку 0,4 мг/кг. Матеріал для ультраструктурного дослідження забирали через 1, 3, 7, 14 та 28 діб після введення преднізолону. Вивчення препаратів проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Контрольну групу склали інтактні тварини.

**Результати.** Після 28-денного введення високих доз преднізолону білим безпородним щурам було виявлено активацію сперматогенезу, переважно за рахунок незрілих форм статевих клітин, при цьому одночасно спостерігалось зменшення питомої кількості зрілих форм сперматозоїдів. При електронно-мікроскопічному дослідженні у клітинах сперматогенного епітелію та клітинах Лейдига виявлено низку ультраструктурних змін, включаючи дезорганізацію цитоплазматичної мембрани, пікноз ядер, формування інвагінацій каріолеми, вакуолізацію цитоплазми та екструзію цитоплазматичних фрагментів. Виявлені ультраструктурні зміни свідчать про активацію процесів апоптозу та порушення секреторної функції клітин.

**Висновки.** Отримані дані про ультраструктурні зміни у паренхімі яєчок відповідають сучасним уявленням про вплив глюкокортикостероїдів на репродуктивну систему і можуть бути результатом безпосереднього негативного впливу преднізолону. Виявлені зміни можна інтерпретувати як результат потенціуювальної і водночас конкуруючої дії преднізолону з гормональною функцією інтерстиціальних ендокриноцитів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** сім'яники; клітини Лейдига; глюкокортикостероїди; паренхіма яєчок; сперматогенез.

**Вступ.** До переліку лікарських засобів, які найширше застосовуються у лікуванні багатьох патологій, належать глюкокортикостероїди (ГКС). Препарати цієї групи є ефективними в лікуванні захворювань різного генезу [1, 2]. Коло таких хвороб є достатньо широким: до них належать як відносно рідкісні, так і широко розповсюджені патології, як із гострим, так і з хронічним перебігом [3].

Сучасні глюкокортикоїдні препарати різняться між собою значним різноманіттям форм випуску та шляхів застосування. Зважаючи на те, що це гормональні препарати, їх тривале введення може порушувати гормональний фон хворого, що призводить до негативного впливу не лише на ендокринну систему, а й на інші системи організму, зокрема на статеву [4].

Чоловіче безпліддя є на сьогодні дуже поширеною патологією. Останні дослідження показу-

ють, що до факторів його розвитку належать екологічні чинники, зловживання алкоголем, куріння, хронічні захворювання сечостатевої системи тощо [5–8].

Нераціональне використання ГКС також може призводити до порушення статевої функції, що підтверджується низкою наукових досліджень. Літературні дані свідчать про негативний вплив високих доз ГКС на структуру клітин паренхіми яєчок, проте специфіка ультраструктурних змін при такому впливі вивчена недостатньо.

**Мета** – встановити особливості ультраструктурних змін клітинних елементів сперматогенного епітелію паренхіми яєчок самців білих безпородних щурів на фоні 28-денного введення преднізолону у високих дозах.

**Матеріал і методи дослідження.** Експериментальне дослідження виконано на 50 білих без-

породних статевозрілих щурах-самцях, яким щоденно протягом 28 днів внутрішньом'язово вводили синтетичний глюкокортикоїд преднізолон у дозі 0,4 мг/кг, що відповідає максимально допустимій разовій добовій дозі. Забір матеріалу для морфологічних досліджень у 40 тварин здійснювали через 1, 3, 7, 14 і 28 діб після введення препарату. Контрольну групу становили 10 інтактних тварин.

Для ультраструктурного аналізу відбирали фрагменти тканини яєчка з дотриманням загальноприйнятих методичних вимог. Матеріал фіксували у 2,5 % розчині глутаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,2–7,4, приготовленому на фосфатному буфері Міллоніга. Через 50–60 хвилин фіксований матеріал переносили у буферний розчин і промивали протягом 20–30 хвилин. Постфіксацію здійснювали упродовж 60 хвилин у 1 % розчині чотириокису осмію на буфері Міллоніга. Дегідратацію проводили у спиртах з подальшою обробкою в ацетоні, після чого матеріал заливали у суміш епоксидних смол та аралдиту [9]. Ультратонкі зрізи виготовляли за допомогою ультрамікротома LKB-3. Отримані зрізи забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату та контрастували цитратом свинцю за методом Рейнольдса. Дослідження препаратів проводили з використанням електронного мікроскопа ПЕМ-125K [10].

Виведення тварин з експерименту здійснювали шляхом внутрішньоочеревинного введення високих доз концентрованого тіопенталу натрію. Усі експериментальні дослідження проводили з дотриманням принципів біоетики, викладених у Гельсинській декларації та Законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009).

**Результати й обговорення.** Отримані результати морфологічних змін паренхіми яєчок щурів протягом 28-денного періоду введення високих доз преднізолону зіставляли з результатами сучасних досліджень про гормональний вплив на статеву систему, вони, ймовірно, відображають розвиток побічних ефектів, які можуть розглядатися в контексті синдромоподібного стану, аналогічного синдрому Кушинга [11]. До таких ефектів належать збільшення маси тіла білих безпородних щурів, а також збільшення маси та об'єму яєчок із підвищенням їх функціональної активності, що проявлялося зростанням кількості незрілих форм клітин сперматогенного епітелію [12]. Протягом періоду введення преднізолону змінювався загальний стан піддослідних тварин, а також зазнавала змін паренхіма яєчок тварин [13].

Введення високих доз преднізолону призвело до морфологічних змін вже на 1 добу експерименту, коли спостерігалась певна морфофункціональна деформація в структурних компонентах

на ультраструктурному рівні. Виявлені процеси спостерігалися як у клітинах інтерстицію, так і в сперматогенному епітелії. У клітинах Лейдіга виявили зменшення кількості гормональних гранул, мітохондрій і каналців ендоплазматичної сітки, водночас суттєво зростала кількість жирових включень (рис. 1).

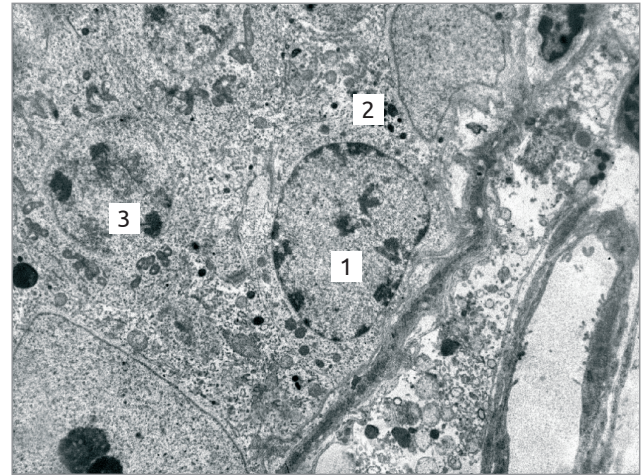


Рис. 1. Ультраструктура ендокриноцита Лейдіга у яєчку щура через одну добу після введення високої дози преднізолону. Ядро ендокриноцита – 1, ліпідні включення – 2, деструктивно змінений ендокриноцит – 3.  $\times 12\ 000$ .

У ядрах цих клітин відзначалася маргінація конденсованого хроматину вздовж деформованої каріолеми, а в окремих ділянках спостерігалась деструкція ендокриноцитів із каріопікнозом ядер та фрагментами клітин у стадії апоптозу.

Зміни спостерігались також у клітинах сперматогенного епітелію. Зокрема, для сперматогоній і сперматоцитів характерними були ознаки зростання функціональної активності, що проявлялось зростанням кількості органел і каналців гранулярної і гладкої ендоплазматичної сітки, а у сперматид спостерігалися переважно дистрофічні порушення. Так, у сперматид відзначали розмиття контурів ядерного чохла, відсутність хвостових трубок, порушення впорядкованості крист мітохондрій із зменшенням їх електронної щільності, що супроводжувалося формуванням вакуолей на місці пошкоджених органел.

У ході експерименту на третю добу ультраструктурні зміни проявились ще більше, і це підтверджувалось насамперед змінами, що стосувались ендокриноцитів. Дистрофічні явища продовжували наростати із супутнім збільшенням функціональної активності. Характерною ознакою перебування клітин виявлялось збільшення розмірів їх ядер із дифузним розміщенням еухроматину.

Цитоплазма клітин за рахунок набряку також виглядала просвітленою, у ній одночасно виявлялися вакуолі різного розміру на місці деструко-

ваних органел, гормональні гранули та скупчення дрібних електроннощільних мітохондрій (рис. 2).

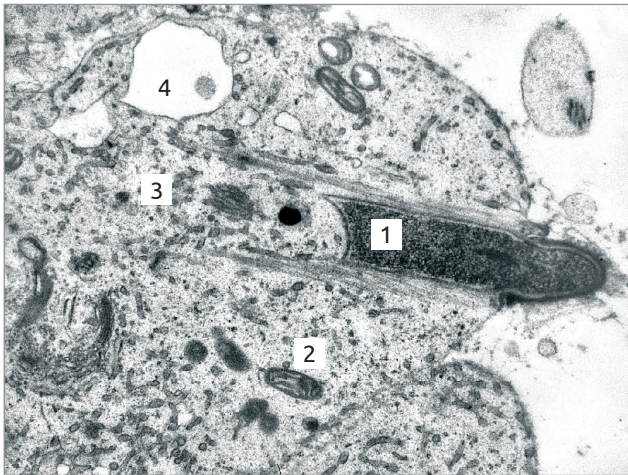


Рис. 2. Ультраструктура сперматиди у яєчку щура через три доби після введення високих доз преднізолону. Ядро сперматиди – 1, чохлак – 2, цитоплазма із дистрофічно зміненими органелами – 3, вакуолі – 4.  $\times 12\ 000$ .

На цьому добу експериментального дослідження продовжували відстежувались ультраструктурні зміни. Найбільших деструктивних явищ зазнавали інтерстиціальні ендокриноцити Лейдіга. Їх органели зазнавали значних дистрофічних явищ, що проявлялись деструкцією органел клітин. Щодо мітохондрій, то визначалась деструкція їх крист, а на їх місці утворювались пустоти з контурами, які на вигляд нагадували органели. Ядра ендокриноцитів демонстрували різні морфофункціональні стани: деякі з них мали чітку каріолему та округлу форму, тоді як у інших контури каріолеми були розмитими з утворенням інвагінацій (рис. 3).

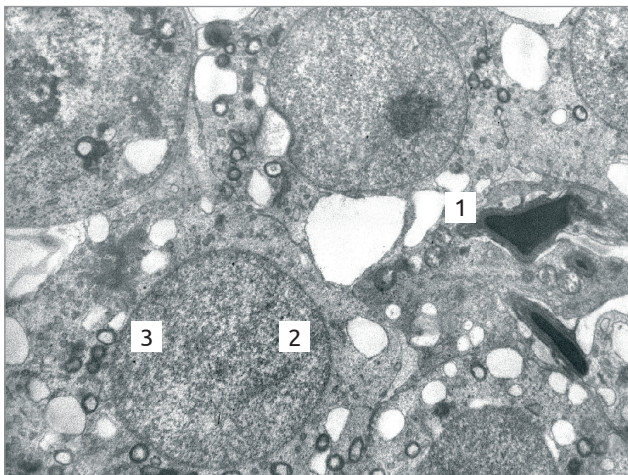


Рис. 3. Ультраструктура яєчка щура через сім діб після введення високих доз преднізолону. Вакуолі – 1, ядра інтерстиціальних ендокриноцитів Лейдіга – 2, мітохондрії зі зруйнованими кристами – 3.  $\times 9\ 000$ .

Що стосується клітин Сертолі – то вони на даному етапі трансформацій особливих змін не зазнавали.

У сперматогоній відзначалося підвищення функціональної активності з наростанням кількості органел, зокрема мітохондрій, хоча інколи спостерігалися клітини з вираженими деструктивними змінами. Сперматиди характеризувалися порушенням структури, що проявлялося нерівномірним формуванням ядерних чохлаків та відсутністю або деформацією хвостових трубок.

Чотирнадцята доба експериментального дослідження характеризувалась піком морфофункціональних змін, які було зафіксовано і які поступово наростали на попередніх етапах. У інтерстиціальних ендокриноцитах Лейдіга продовжувалося прогресування дистрофічних процесів. Вакулі, що сформувалися, розташовувалися поблизу ядра, і візуально це виглядало як великі електроннопрозорі пустоти, обмежені досить тонкою мембраною з нерівними краями, що таким чином деформувало контури ядер.

Щодо клітин сперматогенного епітелію, то на даному етапі експерименту сперматогонії посилювали свою морфофункціональну активність. Підтвердженням цього процесу було збільшення їх ядер у розмірах з крайовим розташуванням частково конденсованого хроматину. У цитоплазмі спостерігали значну кількість жирових включень.

Сперматоцити залишалися морфологічно незрілими, часто деформованими, з ознаками фрагментації ядер.

На завершальному етапі дослідження, через 28 діб від початку експерименту, у клітинах Лейдіга спостерігались виражені ознаки апоптозу, як-то дезорганізація цитомембрани, що зумовлювала нерівність клітинних контурів. Подекуди внаслідок мембранних дефектів відбувалася екструзія цитоплазми з органелами у міжклітинний простір. Відзначалася різко виражена пікнотична трансформація їх ядер.

Сперматоцити і надалі залишались не до кінця сформованими, їх ядра були аномально конфігуровані, деформовані та без хвостиків.

**Висновки.** Результати електронно-мікроскопічного дослідження клітин паренхіми яєчок щурів на фоні експериментального 28-денного введення ГКС підтверджують наявність гормонально обумовлених порушень, характерних для станів із хронічним надлишком глюкокортикоїдів.

Це безпосередньо підтверджується морфологічною трансформацією паренхіми яєчок білих безпородних щурів. Введення високих доз преднізолону впливає на всі етапи сперматогенезу. У першій частині експерименту спостерігався стимульований вплив ГКС на клітини сперматоген-

ного епітелію, що проявлялося збільшенням кількості незрілих форм сперматозоїдів. На завершальних стадіях виявлялися аномальні деформації відповідних клітин із вираженою деструкцією ядер. Як наслідок, зменшення питомої ваги зрілих форм клітин сперматогенного епітелію може бути причиною розвитку безпліддя.

Щодо інтерстиціальних ендокриноцитів Лейдіга, то дослідження продемонструвало взаємопотенціюючий і взаємоконкурентний вплив преднізолону на їх морфофункціональний стан. Це підтверджується структурними змінами будови та функціональної активності цих клітин, включаючи дезорганізацію цитомембрани, пікноз ядер, формування інвагінацій каріолеми та екструзію цитоплазматичних фрагментів. Усе вищеперераховане свідчить про активацію апоптозу та порушення секреторної функції клітин. Виявлені зміни можна інтерпретувати як результат потенціувальної і водночас конкуруючої дії преднізолону з гормональною функцією інтерстиціальних ендокриноцитів.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження допоможуть уточнити взаємозв'язок дозового режиму введення преднізолону, морфофункціональної перебудови яєчок та ризику розвитку непліддя. Також важливо зосередити увагу на оцінці корекційних підходів для запобігання негативному впливу преднізолону на статеву систему.

**Джерела фінансування.** Власні кошти авторів.

**Внесок авторів:**

О. М. Герман – ідея, дизайн дослідження, коректування статті;

А. Т. Телев'як – виконання аналізу та обговорення результатів;

О. Я. Галицька-Хархаліс – збір та аналіз літератури, участь у написанні статті;

І. І. Боймиструк – участь у написанні статті, коректування статті;

Т. Р. Генік – участь у написанні статті, анотації;

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES

1. Schäcke H, Döcke WD, Asadullah K. Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther.* 2002 Oct;96(1):23-43.
2. Volmer T, Effenberger T, Trautner C, Buhl R. Consequences of long-term oral corticosteroid therapy and its side-effects in severe asthma in adults: a focused review of the impact data in the literature. *Eur Respir J.* 2018 Oct 25;52(4):1800703.
3. Dinsen S, Baslund B, Klose M, Rasmussen AK, Friis-Hansen L, Hilsted L, Feldt-Rasmussen U. Why glucocorticoid withdrawal may sometimes be as dangerous as the treatment itself. *Eur J Intern Med.* 2013 Dec;24(8):714-20.
4. Fardet L, Kassab A, Cabane J, Flahault A. Corticosteroid-induced adverse events in adults: frequency, screening and prevention. *Drug Saf.* 2007;30(10):861-81.
5. Baibakov VM. Korelyatsiynny analiz patohenezu cholovichoho bezpliddya [Correlation analysis of the pathogenesis of male infertility]. *Aktualni Problemy Suchasnoi Medytsyny. Visnyk Ukrainskoi Medychnoi Stomatolohichnoi Akademii.* 2014;14(2):124-129. Ukrainian.
6. Vatulin OI, Chyrkova VS. Alkoholizm yak medychna ta sotsial'na problema [Alcoholism as a medical and social problem]. *Ukrainskyi Medychnyi Almanakh.* 2014;17(1):81. Ukrainian.
7. Kozopas NM, Maksymiuk HV, Lapovets LYe, Odnorih LO. Metabolichnyy syndrom ta choloviche bezplid-

- dya: suchasnyy pohlyad na problemu [Metabolic syndrome and male infertility: a modern view of the problem]. *Visnyk Problem Biolohii i Medytsyny.* 2018;1(2):26-29. Ukrainian.
8. Spaska AM. Vplyv epidydymoorkhitsu na struktury parenkhimy yayechka ta pokaznyky eyakulyatu cholovikiv zriloho viku [Influence of epididymoorchitis on the structures of the testicular parenchyma and ejaculate parameters in adult men]. *Visnyk Problem Biolohii i Medytsyny.* 2005;4(4):104-109. Ukrainian.
9. Wickley BS. *A beginner's handbook in biological electron microscopy.* London: Churchill Livingstone; 1972. 228 p.
10. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1963 Apr;17(1):208-12.
11. Williams, Dennis M. Clinical pharmacology of corticosteroids. *Respiratory care.* 2018;63(6):655-70.
12. Luchytskyi YeV, Luchytskyi VYe, Rybalchenko VM. Choloviche bezpliddya: pohlyad endokrynoloha-androloha [Male infertility: an endocrinologist-andrologist's view]. *Zdorovia Ukrainy.* 2014;3(3):34-39. Ukrainian.
13. Akintunde JK, Oboh G, Akindahunsi AA. Testicular membrane lipid damage by complex mixture of leachate from municipal battery recycling site as indication of idiopathic male infertility in rat. *Interdiscip Toxicol.* 2013 Dec;6(4):192-7.

**O. M. Herman, A. T. Televiak, O. Ya. Halytska-Kharkhalis, I. I. Boymystruk, T. R. Henyk**

*Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine*

## **ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN TESTICULAR CELLS OF MALE ALBINO RATS AFTER 28 DAYS OF HIGH-DOSE PREDNISOLONE TREATMENT**

**SUMMARY.** Recent studies indicate that male infertility remains a significant clinical and biomedical problem. In most cases, this condition is associated with impaired spermatogenesis, manifested by a reduced sperm count, motility, or abnormal sperm morphology. Potential causes of impaired normal function of male germ cells include endocrine disorders related to various diseases, as well as the irrational or prolonged use of hormone therapy.

**The aim** – to determine the characteristics of ultrastructural changes in the cellular elements of the testicular parenchyma in adult outbred male rats following 28-day administration of high doses of prednisolone.

**Material and Methods.** The experiments were conducted on sexually mature outbred white male rats. Prednisolone was administered intramuscularly once daily for 28 days at a dose of 0.4 mg/kg. Testicular tissue samples for ultrastructural analysis were collected on days 1, 3, 7, 14, and 28 after prednisolone administration. Ultrastructural examination was performed using a PEM-125K transmission electron microscope. Intact animals served as the control group.

**Results.** After 28 days of high-dose prednisolone administration, activation of spermatogenesis was observed, predominantly due to an increased proportion of immature germ cell formation, accompanied by a simultaneous decrease in the relative number of mature spermatozoa. Transmission electron microscopy revealed a range of ultrastructural alterations in spermatogenic epithelial cells and Leydig cells, including disorganization of the cytoplasmic membrane, nuclear pyknosis, formation of nuclear envelope invaginations, cytoplasmic vacuolization, and extrusion of cytoplasmic fragments. These ultrastructural changes indicate activation of apoptotic processes and impairment of cellular secretory function.

**Conclusions.** The observed ultrastructural changes in the testicular parenchyma are consistent with current concepts regarding the effects of glucocorticosteroids on the male reproductive system and may result from the direct negative impact of prednisolone. The identified alterations can be interpreted as the consequence of a potentiating yet simultaneously competing interaction between prednisolone and the hormonal function of interstitial endocrinocytes.

**KEY WORDS:** testes; Leydig cells; glucocorticosteroids; testicular parenchyma; spermatogenesis.

Отримано 13.01.2026

Електронна адреса для листування: [henyk@tdmu.edu.ua](mailto:henyk@tdmu.edu.ua)