

Профилактика гонадотоксичности химиопрепарата цисплатин терапией секретомом стволовых клеток

В.И. Кирпатовский¹, А.В. Сивков¹, Г.Д. Ефремов¹, Е.В. Орлова¹, Ж.В. Комарова¹, Е.В. Фролова²

¹ НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Россия, Москва, 105425, 3-я Парковая ул., д. 51, стр. 4

² ФГБУН Всероссийский институт научной и технической информации Российской академии наук (ВИНИТИ РАН); Россия Москва, 125190, ул. Усевича, д. 20

Контакты: Кирпатовский Владимир Игоревич, vladkirp@yandex.ru

Введение. Химиотерапия является одним из основных методов лечения распространенных/метастатических форм злокачественных заболеваний. Часто используемым химиопрепаратом является Цисплатин, существенным побочным действием которого является токсическое действие на органы с высоким пролиферативным потенциалом, в том числе на яички, что может приводить к выраженным нарушениям сперматогенеза, андрогенной недостаточности и бесплодию.

Цель исследования. Изучение возможности профилактики гонадотоксичности Цисплатина с помощью терапии препаратом Целлекс, относящимся к препаратам, содержащим продукты секреции стволовых клеток.

Материал и методы исследования: Проведены эксперименты на 45 самцах беспородных крыс в 4 сериях: 1-я серия – внутрибрюшинное введение цисплатина в дозе 5 мг/кг, 2-я серия – введение цисплатина в дозе 7 мг/кг, 3-я серия – введение цисплатина в дозе 5 мг/кг на фоне терапии препаратом Целлекс (0,1 мг/кг внутримышечно ежедневно в течение 10 дней), 4-я серия – введение Цисплатина в дозе 7 мг/кг на фоне аналогичной терапии. Через 3, 7 и 14 суток определяли концентрацию тестостерона в крови, а через 14 суток удаляли яички с последующим их гистологическим и морфометрическим исследованием.

Результаты. В 1-й и 2-й сериях выявили развитие гипоплазии тестикул с уменьшением их массы на 15% при выраженных нарушениях сперматогенеза: уменьшение диаметра и площади поперечного сечения семенных канальцев, слоев герминативного эпителия и количества клеток Сертоли на 100 мкм базальной мембраны. Во 2-й серии выявляли появление разрушенных и полностью лишенных эпителиальной выстилки канальцев. В 3-й и 4-й сериях гистологическая картина приближалась к нормальной, хотя морфометрические показатели все же не достигали нормальных значений. В 4-й группе доля разрушенных и опустошенных канальцев была достоверно меньше, чем во 2-й группе. Уровень тестостерона в крови крыс 1-й и 2-й групп достоверно снижался, тогда как в 3-й и 4-й группах он сохранялся в нормальных пределах во все сроки наблюдения.

Выводы. Терапия препаратом Целлекс позволяет существенно снизить токсическое действие Цисплатина на яичко, сохраняя активный сперматогенез и синтез тестостерона.

Ключевые слова: химиотерапия, Цисплатин, нарушение сперматогенеза, тестостерон, клеточная терапия, Целлекс.



Prevention of gonadotoxicity of the chemotherapy drug cisplatin by stem cell secretom therapy

V.I. Kirpatovskiy¹, A.V. Sivkov¹, G.D. Efremov¹, E.V. Orlova¹, Zh.V. Komarova¹, E.V. Frolova².

¹ N. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation; 51, 3-rd Parkovaya street, Moscow, 105425, Russia

² All-Russian Institute of Scientific and Technical Information RAS; 20, st. Usievich, Moscow, 125315, Russia

Contacts: Kirpatovsky Vladimir Igorevich, vladkirp@yandex.ru

Introduction. Chemotherapy is one of the main methods of treating common/metastatic forms of malignant diseases. A commonly used chemotherapy drug is Cisplatin, a significant side effect of which is a toxic effect on organs with high proliferative potential, including the testicles, which can lead to severe disorders of spermatogenesis, androgen deficiency and infertility.

The aim of the study. To study the possibility of preventing Cisplatin gonadotoxicity using Cellex therapy, which refers to drugs containing products of stem cell secretion.

Materials and methods. Experiments were conducted on 45 male mongrel rats: Series 1 – intraperitoneal cisplatin administration at a dose of 5 mg/ kg, Series 2 – cisplatin administration at a dose of 7 mg/ kg, Series 3 – cisplatin administration at a dose of 5 mg/ kg during therapy with Cellex (0.1 mg/ kg intramuscularly daily for 10 days), 4 series – the introduction of Cisplatin at a dose of 7 mg / kg with Cellex therapy as in 3 series. After 3, 7, and 14 days, the concentration of testosterone in the blood was determined, and after 14 days, the testicles were removed, followed by their histological and morphometric examination.

Results. In the 1st and 2nd series, the development of testicular hypoplasia with a decrease in their mass by 15% was revealed with pronounced disorders of spermatogenesis, manifested in a decrease in the diameter and cross-sectional area of the seminal tubules, layers of the germinal epithelium and the number of Sertoli cells per 100 mcm of the basement membrane. At the same time, in the 2nd series, the appearance of destroyed tubules and groups of tubules completely devoid of epithelial lining was revealed. In the 3rd and 4th series, the histological picture approached normal, although the morphometric parameters still did not reach normal values. In group 4, the proportion of destroyed and emptied tubules was significantly less than in group 2. The level of testosterone in the blood of rats decreased starting from day 3 in group 1 and on day 1 in group 2 and remained significantly reduced until the end of the follow-up, whereas in groups 3 and 4 it remained within normal limits at all times.

Conclusion. Cellex therapy can significantly reduce the toxic effect of Cisplatin on the testicle, while maintaining active spermatogenesis and testosterone synthesis.

Keywords: chemotherapy, cisplatin, spermatogenesis disorder, testosterone, cell therapy, cellex.



Химиотерапия является одним из основных методов лечения онкологических заболеваний. Существенным ограничением такой терапии является токсическое действие химиопрепаратов, приводящих к нарушению функции разных органов. Одним из широко используемых химиотерапевтических средств является препарат Цисплатин (цис-диамминдихлороплатина (II)) (ЦСП), назначаемый для лечения злокачественных заболеваний области головы и шеи, пищевода, мочевого пузыря, яичек, яичников, матки, молочной железы, желудка и некоторых других форм рака. Наиболее частым осложнением терапии ЦСП наряду с нефротоксичностью препарата [1, 2] является дисфункция яичек с нарушением сперматогенеза и развитием андрогенной недостаточности [3, 4].

В основе нарушения сперматогенеза при разных формах повреждения яичек, в том числе токсического, лежит усиление продукции цитотоксических активных радикалов кислорода с развитием оксидантного стресса с последующим повреждением ДНК гоноцитов и гормон-продуцирующих клеток, развитием асептического воспаления и активацией процессов клеточной деструкции (апоптоз, пироптоз) [5–7]. В соответствии с этим, основными патогенетически-обусловленными средствами терапии является назначение препаратов с антиоксидантным действием, как синтетических, так и растительного происхождения [8–10], а также вспомогательная гормональная терапия [11, 12]. Однако такая терапия не всегда приводит к существенному улучшению показателей состояния сперматогенеза, в связи с чем активно изучаются новые подходы, в частности с использованием клеточных технологий. Имеются публикации, свидетельствующие, что введение мезенхимных стволовых клеток разного происхождения способствует улучшению состояния сперматогенеза при токсическом действии ЦСП [13] и других видах повреждения яичка [14–16]. Не менее выраженный эффект оказывает терапия комплексом продуктов секреции стволовых клеток (секретом), выделенных из среды их культивирования [17–19]. Однако, несмотря на положительный эффект клеточной терапии, подобных исследований пока немного, что делает актуальным получение новых данных о возможностях терапии тестикулярной дисфункции с использованием продуктов секреции стволовых/прогениторных клеток.

Целью данного исследования явилась оценка возможности уменьшения гонадотоксичности ЦСП с использованием протеино-пептидного комплекса продуктов секреции (секретома) стволовых/прогениторных клеток нейрональных клеток эмбрионов свиней (препарат Целлекс, производство АО «Фарм-Синтез», Россия). Целлекс является фармакопейным препаратом, разрешенным к применению для ускорения

восстановления функции ЦНС у больных, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения. В наших ранее проведенных исследованиях было показано, что терапия Целлексом способствует ускорению восстановления функции почек после их острого и хронического повреждения [20, 21], в том числе в отношении профилактики нефротоксичности ЦСП [22]. Это дало нам основание предположить, что такая терапия может быть полезной и в отношении профилактики гонадотоксичности ЦСП.

Материал и методы

Опыты проведены на 45 половозрелых самцах белых беспородных крыс массой 300–360 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария по 3 животных в клетке с температурой окружающей среды 200°С и световым режимом «день/ночь» 10/14 часов. при неограниченном доступе к комбикорму для лабораторных грызунов (ООО «Лаборатор-корм», Россия) и питьевой воде. Все манипуляции с животными выполняли под наркозом в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, использующихся для научных целей и Европейской конвенцией о гуманном обращении с животными, используемыми для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123).

В 1-й серии (10 крыс) животным внутрибрюшинно вводили химиопрепарат ЦСП в дозе 5 мг/кг для индукции токсического повреждения яичек средней степени выраженности. Во 2-й серии (10 крыс) ЦСП вводили в дозе 7 мг/кг, вызывая токсическое повреждение тяжелой степени. Дозы ЦСП были выбраны с учетом пересчета терапевтических доз, применяемых в клинической практике, на основе оценки площади поверхности тела лабораторных животных, и соответствовали дозам, использованным в других экспериментальных исследованиях по уменьшению токсического действия ЦСП [23–26]. В 3-й и 4-й сериях (по 10 крыс в каждой серии) с первого дня после инъекции ЦСП в дозе 5 или 7 мг/кг соответственно ежедневно внутрибрюшинно вводили препарат Целлекс в дозе 0,1 мл/кг массы тела (0,1 мг/кг активного компонента препарата — секретомы стволовых клеток) в течение 10 дней. Пятую серию составили 5 интактных крыс для получения нормальных значений изучаемых показателей.

У всех подопытных животных до включения в исследования и через 3, 7 и 14 суток после инъекции ЦСП под легким эфирным наркозом брали пробу крови из хвостовой вены для определения концентрации тестостерона. Через 14 суток под наркозом (внутрибрюшинное введение смеси препаратов Золетил-100, «Valdefarm», Франция, и Рометар, «Биовета», Чешская республика) в соотношении 1:1 при расчетной дозе Золетила 15 мг/кг)

удаляли яички для гистологического исследования, после чего выполняли эвтаназию животных путем ингаляции CO_2 . Удаленные яички взвешивали на электронных весах “Escular” для определения их массы. Гистологическое исследование проводили по стандартной методике с окраской парафиновых срезов гематоксилином и эозином. Морфометрический анализ отсканированных препаратов проводили с использованием компьютерной программы HistoScan (Россия). Для анализа выбирали срезы семенных канальцев круглой или близкой к круглой формы, что позволяло более объективно оценить их диаметр и структуру слоев герминативного эпителия. В каждом препарате анализировали не менее 10 канальцев в 10 полях зрения.

Статистический анализ проводили с использованием комплекса программ Statistica 10 с определением средних значений и ошибки средней ($M \pm m$) и достоверности различий между средними значениями в разных сериях по критерию Стьюдента. Достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования

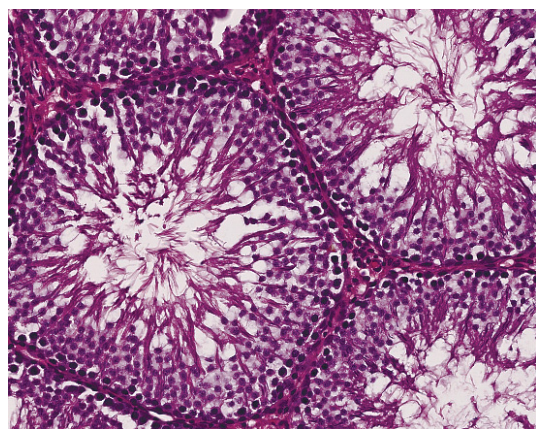
Определение массы яичек показало, что у intactных крыс она составляли в среднем $2,03 \pm 0,09$ г. В экспериментах с введением ЦСП как при дозе 5 мг/кг, так и 7 мг/кг выявлена умеренная атрофия органа — средние значения массы органа уменьшились до $1,71 \pm 0,07$ г. и $1,68 \pm 0,04$ г соответственно (различия с нормой достоверны при $p < 0,05$). В опытах с терапией Целлексом в 3-й и 4-й сериях (введение ЦСП в дозе 5 и 7 мг/кг соответственно) средние значения массы яичек статистически не отличались от нормы ($1,98 \pm 0,06$ и $1,83 \pm 0,05$ г соответственно, $p > 0,05$). В то же время при сравнении групп без терапии Целлексом и на фоне терапии этим препаратом различия оказались достоверными:

выраженность гипотрофии яичек в обеих группах с гонадопротективной терапией оказалась достоверно меньшей при $p < 0,05$.

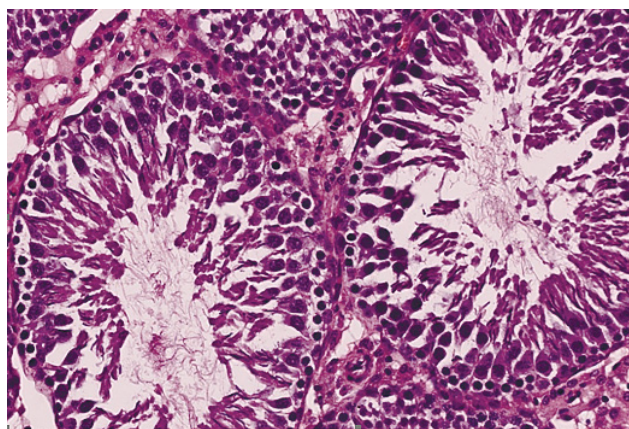
Гистологическое исследование удаленных яичек показало, что в нормальных яичках семенные канальцы были окружены четко выраженной базальной мембраной, на которой был расположен плотный слой клеток Сертоли в количестве 10–12 на 100 мкм мембраны. Средняя площадь поперечного сечения канальцев составила 104 ± 6 мкм². Герминативный эпителий был представлен преимущественно 4–5 слоями клеток в разной стадии развития с наличием зрелых сперматозоидов в просвете канальца. В опытах с введением ЦСП выявили дозо-зависимое повреждение герминативного эпителия семенных канальцев. В опытах с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг наблюдали дистрофические изменения семенных канальцев с дезинтеграцией слоев эпителиальных клеток, уменьшением их количества, а также отсутствием или снижением количества зрелых сперматозоидов в просвете канальца. Слой клеток Сертоли на базальной мембране семенных канальцев выглядел дезинтегрированным. Типичная гистологическая картина изменений представлена на рис. 1.

При введении ЦСП в дозе 7 мг/кг изменения оказались более значительными. Практически во всех гистологических препаратах 2-й серии наряду с дегенерацией сперматогенного эпителия выявляли разрушение базальной мембраны семенных канальцев (рис. 2А), полную деструкцию ряда канальцев (рис. 2Б), а также наличие комплексов полностью опустошенных канальцев, практически лишенных сперматогенного эпителия (рис. 2В).

Помимо повреждения сперматогенного эпителия ЦСП оказывал токсический эффект на клетки Лейдига. Если в норме выявляли скопления этих клеток в интерстиции между семенными канальцами (рис. 3А),



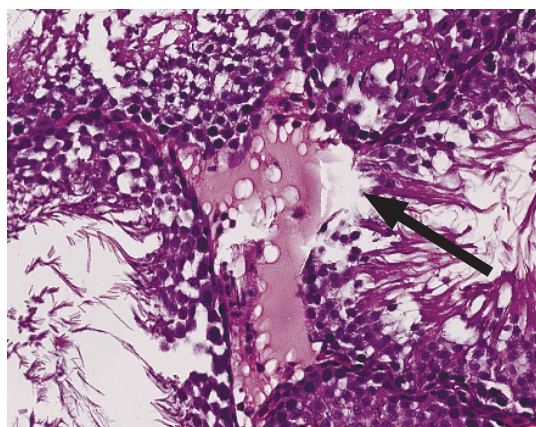
А



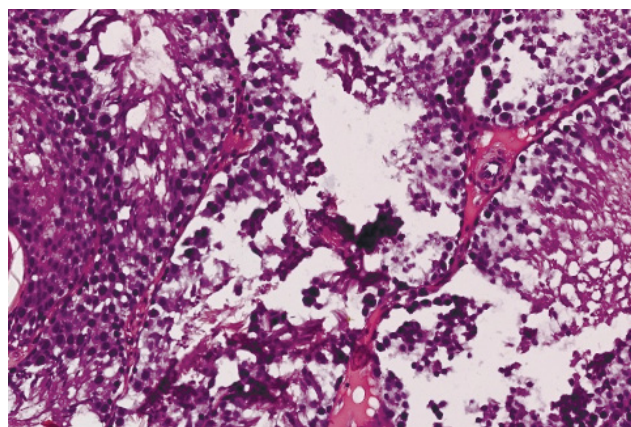
Б

Рис. 1. А — нормальное строение семенных канальцев. Б — выраженное нарушение сперматогенеза через 14 суток после введения ЦСП в дозе 5 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200х.

Picture 1. А — The normal structure of the seminal tubules. Б — Marked violation of spermatogenesis 14 days after the introduction of CSP at a dose of 5 mg / kg. Staining with hematoxylin and eosin. Uv. 200x.

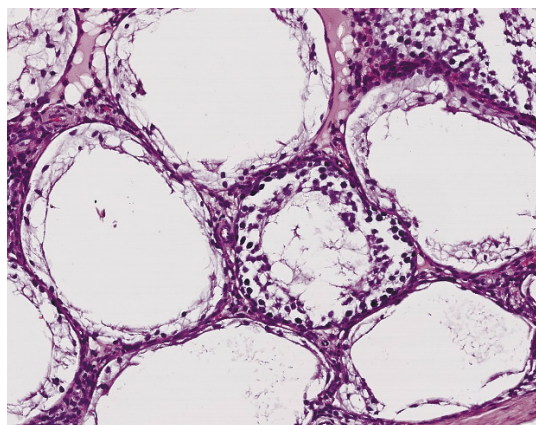


А

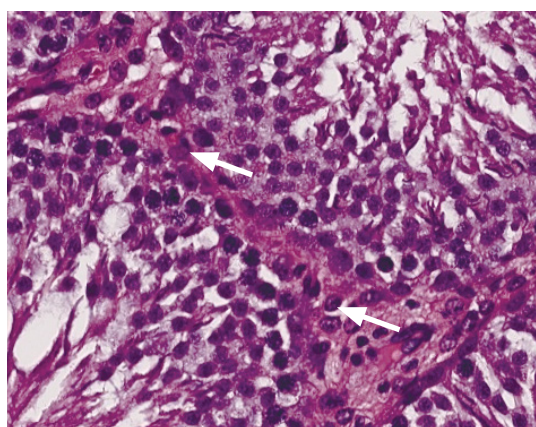


Б

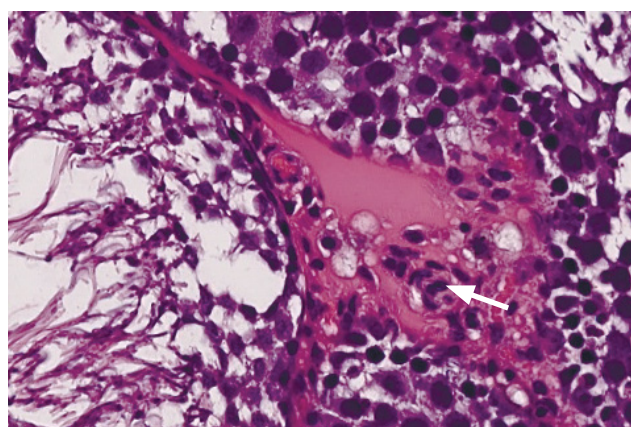
Рис. 2. А – разрушенная базальная мембрана семенного канальца (указано стрелкой). Б – полностью разрушенные канальцы. В – группа канальцев, лишенных сперматогенного эпителия. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 160х.
Picture 2. А – The destroyed basement membrane of the seminal tubule (indicated by the arrow). В – Completely destroyed tubules. С – A group of tubules devoid of spermatogenic epithelium. Staining with hematoxylin and eosin. Uv. 160х.



В



А



Б

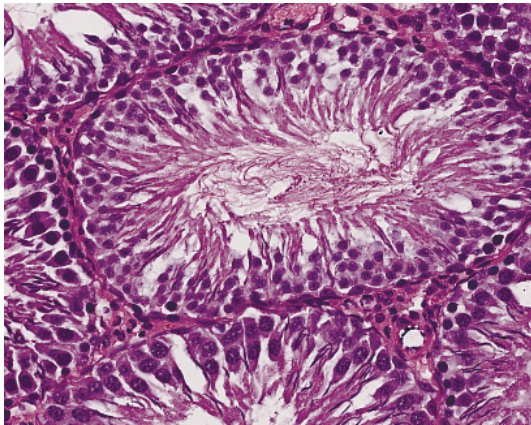
Рис. 3. А – скопление клеток Лейдига в ткани нормального яичка (указаны стрелками). Б – разрушенные канальцы, массивный отек интерстиция с клетками воспаления и единичными дистрофически измененными клетками Лейдига. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400х.

Picture 1. А – Complex of Leydig cells in the tissue of a normal testicle (indicated by arrows). В – Destroyed tubules, massive swelling of the interstitium with inflammatory cells and single dystrophically altered Leydig cells. Staining with hematoxylin and eosin. Uv. 400х.

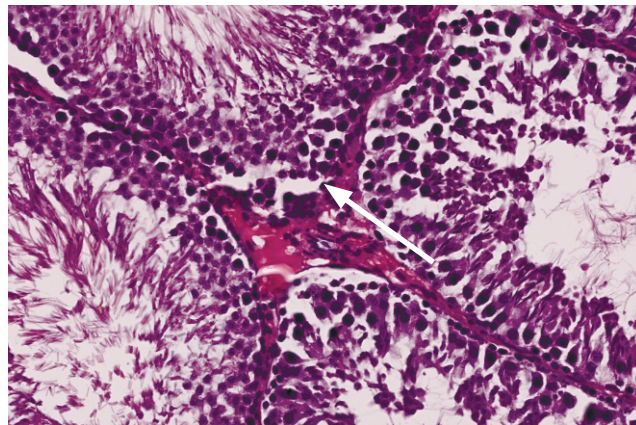
то в опытах с введением ЦСП выявляли выраженный отек интерстициальной ткани с инфильтрацией клетками воспаления при дистрофических изменениях значительного количества клеток Лейдига (Рис. 3Б).

В опытах с терапией Целлексом выявили значительное уменьшение выраженности токсического эффекта

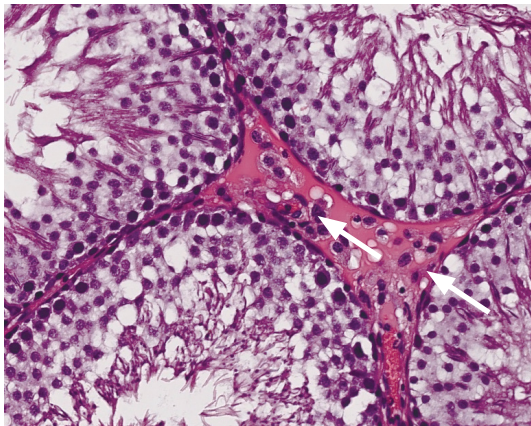
ЦСП как при умеренно токсичной, так и при высокотоксичной дозе. В опытах с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг терапия секретомом стволовых клеток способствовала сохранению практически нормального строения большинства семенных канальцев (рис. 4А). При введении ЦСП в дозе 7 мг/кг многие канальцы также



A



B



B

Рис. 4. Влияние терапии Целлексом на цитотоксическое действие ЦСП. А — незначительные нарушения эпителия канальцев при дозе ЦСП 5 мг/кг. Б — гетерогенность выраженности повреждения семенных канальцев, разрушение участка базальной мембраны канальца при дозе ЦСП 7 мг/кг (белая стрелка). В — комплексы клеток Лейдига при дозе ЦСП 7 мг/кг (черные стрелки). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400х.

Picture 4. The effect of Cellex therapy on the cytotoxic effect of CSP. A — minor violations of the tubule epithelium at a dose of CSP 5 mg / kg. B — heterogeneity of the severity of damage to the seminal tubules, destruction of the tubule basement membrane at a dose of CSP 7 mg / kg (white arrow). B — complexes of Leydig cells at a dose of CSP 7 mg/kg (black arrows). Staining with hematoxylin and eosin. Uv. 400x.

сохраняли строение, близкое к нормальному, хотя в части канальцев сперматогенный эпителий выглядел дезинтегрированным, а в отдельных канальцах выявляли очаговую деструкцию базальной мембраны (рис. 4Б). Состояние клеток Лейдига также приближалось к нормальному (рис. 4В).

В целом картина была гетерогенная. Встречались участки с выраженным повреждением семенных канальцев, но в большей части паренхимы яичка нарушения были менее значительными, чем в контрольной серии.

Для объективизации выраженности структурных нарушений вследствие токсического действия ЦСП на яичко и протективного эффекта терапии Целлексом провели морфометрический анализ ряда показателей. Введение ЦСП независимо от дозы препарата через 14 дней приводило к достоверному уменьшению диаметра и площади поперечного сечения семенных канальцев (табл. 1).

При этом уменьшалось количество слоев герминативного эпителия в канальце в среднем с $4,7 \pm 0,1$ до $3,5 \pm 0,1$ в опытах с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг и до $3,1 \pm 0,2$ при дозе ЦСП 7 мг/кг.

Уменьшение клеточности эпителиальной выстилки семенных канальцев при обеих дозах химиопрепарата оказалось статистически значимым при $p < 0,001$, но при

этом более выраженное повреждение герминативного эпителия происходило при дозе ЦСП 7 мг/кг ($p < 0,05$ по сравнению с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг). Также выявлено достоверное уменьшение количества клеток Сертоли на 100 мкм базальной мембраны с $11,5 \pm 0,3$ до $9,1 \pm 0,5$ ($p < 0,01$) и $7,5 \pm 0,4$ ($p < 0,001$ по сравнению с нормой) в опытах с дозами ЦСП 5 и 7 мг/кг соответственно, однако эти различия между группами не достигали статистической значимости. При этом введение ЦСП приводило к появлению ряда разрушенных канальцев и канальцев, полностью лишенных эпителиальной выстилки и при увеличении дозы химиопрепарата процент их содержания значительно возрастал.

В опытах с терапией Целлексом выявляли практически полную нормализацию таких морфометрических показателей, как средний диаметр и площадь поперечного сечения семенных канальцев (табл. 1). В меньшей степени уменьшалась клеточность эпителиальной выстилки. Хотя среднее количество слоев герминативного эпителия не достигало нормы, но оно достоверно превышало значения в контрольных сериях, как в опытах с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг, так и в дозе 7 мг/кг. Такая же динамика выявлена в отношении плотности расположения клеток Сертоли. Этот показатель в опытах с терапией Целлексом достоверно возрастал в опытах с разной дозой ЦСП, хотя и не



Табл. 1. Влияние терапии Целлексом на морфометрические показатели цитотоксического действия разных доз ЦСП.
Table 1. Effect of Cellex therapy on morphometric parameters of cytotoxic effect of different doses of CSP.

Параметры Parameters	Норма Normal	1-я серия 1st series	2-я серия 2nd series	3-я серия 3d series	4-я серия 4th series
Наименьший диаметр канальцев (мкм) Smallest diameter of tubules (microns)	319±9	261±8*	245±8*	292±7#	296±9#
Площадь поперечного сечения канальцев (мкм ²) Tubule cross-sectional area (mm ²)	104±6	82±4*	75±5*	102±5	99±8#
Кол-во слоев герминативного эпителия Number of layers of germinal epithelium	4,7±0,1	3,5±0,1***	2,9±0,2***	4,2±0,1*,#	3,8±0,2*,#
Кол-во клеток Сертоли на 100 мкм мембраны Number of Sertoli cells per 100 microns of membrane	11,5±0,3	9,1±0,5**	7,5±0,4***	9,8±0,3*,#	9,3±0,5*,#
Разрушенные канальцы (%) Destroyed tubules (%)	0	0,23±0,02*	7,16±0,31***	0#	5,84±0,37***,#
Опущенные канальцы (%) Emptied tubules (%)	0	0	0,97±0,08***	0	0,64±0,06***,#

Примечание: достоверность различий по сравнению с нормой: * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$. Достоверность различий по сравнению с контрольными сериями – # – $p < 0,05$.

Табл. 2. Динамика концентрации тестостерона в крови крыс (нмоль/мл)

Table 2. Dynamics of testosterone concentration in rat blood (nmol/ml)

	Норма Normal	3 сут. 3 days	7 сут. 7 days	14 сут. 14 days
ЦСП 5 мг/кг CSP 5 mg/kg	3,77±0,33	3,51±0,26	1,87±0,11***	1,69±0,14***
ЦСП 7 мг/кг CSP 7 mg/kg	3,64±0,28	1,1±0,07***	1,73±0,13***	1,76±0,15***
ЦСП 5 мг/кг + Целлекс CSP 5 mg/kg + Cellex	3,81±0,31	3,32±0,23	3,55±0,29###	4,93±0,37*,###
ЦСП 7 мг/кг + Целлекс CSP 7 mg/kg + Cellex	3,54±0,26	2,58±0,22*,###	2,73±0,24##	3,16±0,29###

Примечание. Достоверность различий по сравнению с нормой: * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$. Достоверность различий между опытной и контрольной сериями: ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$.

достигал нормальных значений. Терапия Целлексом способствовала профилактике разрушения и опустошения семенных канальцев в опытах с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг и достоверно уменьшало количество таких необратимо поврежденных канальцев при дозе ЦСП 7 мг/кг.

Важным аспектом оценки гонадотоксичности ЦСП и возможности профилактики этого побочного действия химиопрепарата является определение состояния гормонального фона. Исследования концентрации тестостерона в крови крыс разных серий экспериментов показало, что после введения ЦСП в дозе 5 мг/кг происходит снижение концентрации этого гормона, начиная с 7-х суток после инъекции препарата, тогда как в опытах с введением ЦСП в дозе 7 мг/кг уровень тестостерона достоверно падает уже на 3-и сутки с некоторой тенденцией к последующему восстановлению

(табл. 2). В итоге значения уровня тестостерона в группах с введением ЦСП 5 и 7 мг/кг через 7 и 14 суток существенно не различались ($p > 0,05$).

Терапия Целлексом способствовала сохранению нормального уровня тестостерона в опытах с введением ЦСП в дозе 5 мг/кг на всех сроках наблюдения, достоверно превышая значения в соответствующей контрольной серии. При этом через 14 суток отмечался даже стимулирующий эффект Целлекса на секрецию тестостерона с достоверным превышением нормальных значений у интактных крыс.

В экспериментах с введением ЦСП в дозе 7 мг/кг терапия Целлексом способствовала меньшему снижению концентрации тестостерона на 3-и сутки и его полной нормализации через 14 суток после токсического воздействия.



Обсуждение результатов

Химиотерапия является одним из основным методом лечения больных с распространенным или метастатическим раком различной локализации. При этом используемые химиопрепараты обладают существенными побочными эффектами, нарушающими функцию кроветворения и ряда органов, что ограничивает их терапевтические возможности. В отношении часто применяемого химиопрепарата ЦСП наиболее существенными проявлениями токсичности являются нарушения функции почек и половых органов. По данным анкетирования врачей-онкологов, среди наиболее часто используемых химиопрепаратов ЦСП занимает 1-е место с выявлением ухудшения показателей фертильности пациентов в 80,2% случаев, тогда как влияние терапии этим препаратом на сексуальную функцию проявляется в меньшей степени (в 57,4% случаев) [27]. При этом выраженность токсического повреждения яичек существенно выше, чем нарушения функции яичников, и эффект этого препарата в отношении развития мужской инфертильности более выражен, чем в отношении женского бесплодия [28]. В соответствии с этим, по мнению Tian En L et al. [29] больные, подвергшиеся химиотерапии препаратами на основе платины, должны быть обследованы на предмет возможного негативного влияния этой терапии на репродуктивную функцию пациентов-мужчин.

В многочисленных экспериментах на крысах и мышах и опытах *in vitro* на культуре тестикулярной ткани доказано токсическое действие ЦСП на яички с уменьшением массы органов и нарушением архитектоники семенных канальцев с уменьшением содержания гонадоцитов в канальцах, а также снижением общего количества и активно-подвижных сперматозоидов, выделенных из придатка яичка [30–33]. При этом установлено, что цитотоксичность ЦСП проявляется в большей степени в отношении низкодифференцированных сперматогоний типа А (сперматогонияльных стволовых клеток), которые являются основой сохранения фертильности [34].

В нашем исследовании мы выявили подобные проявления гонадотоксичности ЦСП, с уменьшением массы яичек, средних значений диаметра семенных канальцев и площади их поперечного сечения, а также уменьшением клеток герминативного эпителия в большинстве канальцев. При этом, если такие показатели, как степень уменьшения массы яичек и размеров семенных канальцев, не зависели от используемой дозы ЦСП, то в отношении степени уменьшения количества гонадоцитов в семенных канальцах выявилась достоверная дозовая зависимость: степень уменьшения слоев герминативного эпителия оказалась достоверно выше при более высокой дозе ЦСП (7 мг/кг). При этом в опытах с высокой дозой ЦСП выявляли разрушенные канальцы и канальцы, полностью лишенные

сперматогенного эпителия, чего не наблюдали в серии с меньшей дозой химиопрепарата (5 мг/кг).

В отношении клеток Сертоли некоторые авторы не выявляли изменения их содержания в семенных канальцах при введении ЦСП [35], хотя в других публикациях выявляли нарушение интеграции этих клеток на базальной мембране с разрывами плотных контактов между этими клетками [31]. Также получены данные, что несмотря на сохранность этих клеток в количественном отношении, их жизнеспособность, а также способность поддерживать жизнеспособность и пролиферативную активность клеток герминативного эпителия снижается [36,37], чем в значительной степени может быть обусловлена утрата гонадоцитов.

В наших экспериментах при морфометрическом анализе мы выявили уменьшение плотности распределения клеток Сертоли на базальной мембране (количество клеток на 100 мкм базальной мембраны) канальцев с тенденцией к более выраженным изменениям (но статистически незначимым) в опытах с более высокой дозой ЦСП с наличием участков их дезинтеграции и отслоения от базальной мембраны. Различия наших результатов с данными литературы, возможно, связаны с тем, что мы оценивали плотность распределения клеток Сертоли на мембране канальцев, тогда как в большинстве исследований определяли общее содержание этих клеток на срезах канальца, а также разными дозами препарата и видом животных, используемых в данных исследованиях.

В отношении клеток Лейдига одни авторы выявляли проявления токсичности ЦСП [38], тогда как в других публикациях не обнаружено достоверного уменьшения количества этих клеток в поле зрения гистологического препарата [35]. Но при этом практически во всех публикациях отмечалось снижение концентрации тестостерона в крови животных, подвергнутых действию ЦСП [30, 32, 35, 39] а в отдельных работах — и в ткани яичка [35], что было связано с нарушением стероидогенеза, вызванного снижением экспрессии генов CYP11A1, HSD3b и HSD17b в ткани яичка [35]. То есть даже при отсутствии снижения общего количества клеток Лейдига вследствие токсичности ЦСП их функциональная активность явно нарушается. Подтверждением этому явились наши данные, показавшие, что снижение синтеза тестостерона сочетается с дистрофическими изменениями клеток Лейдига, выявленными при гистологическом исследовании.

Механизм токсического влияния ЦСП на тестикулярную ткань, по мнению большинства авторов, связан с развитием нитро-оксидантного стресса за счет избыточной продукции оксида азота и активных форм кислорода, которые, взаимодействуя между собой, образуют цитотоксический пероксинитрит, повреждающий клеточные структуры с последующим развитием воспаления, повреждения ДНК герминативных клеток



и последующим их апоптозом [36, 40, 41]. Развитием нитро-оксидантного стресса подтверждается выявляемое многими авторами повышение уровня маркера перекисного окисления липидов малонового диальдегида, снижение активности антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы, каталазы, и общей антиоксидантной активности ткани, а также выявление продукции деградации ДНК [30, 32, 33], а как следствие — смещение баланса про- и противовоспалительных цитокинов в сторону активаторов воспалительной реакции [32, 35, 39, 42] и активацией процессов программированной клеточной смерти (апоптоз, пироптоз) [39, 43, 44].

В соответствии с этим механизмом реализации цитотоксического действия ЦСП основным направлением в изучении возможности профилактики и лечения нарушения сперматогенеза и гормонального баланса является использование препаратов с антиоксидантным действием, как растительного происхождения (экстракт виноградных семечек, эпигаллокатехин-3-галлат, ресвератрол и др.), так и синтетических средств (L-карнитин, терт-бутилгидрохинон, рутин, кверцетин, коэнзим Q и др.) [41, 44, 45]. Во многих экспериментальных краткосрочных исследованиях продемонстрировано, что эти препараты способны уменьшать гонадотоксичность ЦСП за счет подавления продукции активных форм кислорода, воспалительной реакции, повреждения ДНК и апоптоза митохондрий [10, 39, 44].

Препараты с антиоксидантным действием направлены на блокировку начального звена цитотоксического эффекта ЦСП, но на наш взгляд более перспективным направлением является многофакторное воздействие на разные звенья патогенеза повреждения клеток. Таким действием обладает терапия с использованием низкодифференцированных (стволовых/прогениторных) клеток или продуктов их секреции, в состав которых входит комплекс факторов роста, цитокинов, ангиогенных и антиапоптотических факторов, обеспечивающих комплексное воздействие на разные звенья патогенеза повреждения. При этом не только тормозятся патологические процессы, но и стимулируются механизмы, ответственные за регенерацию поврежденных клеточных структур [46]. В научной литературе представлены публикации, свидетельствующие о перспективности такого подхода с уменьшением выраженности развития повреждения органов, в том чис-

ле яичек, и стимуляции их регенерации при пересадке культивированных стволовых клеток или при терапии продуктами их секреции [13–19].

К препаратам такого рода относится изучаемый нами препарат Целлекс, представляющий собой хроматографически выделенный белково-пептидный комплекс из эмбриональных нейрональных клеток головного мозга. Ранее было продемонстрировано его протективное действие при острой и хронической почечной недостаточности, в том числе токсической природы [20–22], что дало основание изучить его гонадопротективное действие в отношении токсического влияния ЦСП. В проведенном исследовании выявили выраженный эффект препарата как в отношении восстановления нарушенного сперматогенеза, так и нормализации концентрации тестостерона в крови. При этом эффективность Целлекса проявлялась даже в экспериментах с использованием высокотоксичной дозы ЦСП, вызывающей в контрольных опытах значительное повреждение семенных канальцев и гормон-продуцирующих клеток. Терапия Целлекса препятствовала развитию гипотрофии яичка, сохраняла архитектуру семенных канальцев близкой к норме, в том числе за счет сохранения пули клеток Сертоли, а также восстанавливала секреторную активность клеток Лейдига, нормализуя уровень тестостерона в крови животных. Механизм протективного действия Целлекса может быть связан со стимуляцией регенерации поврежденных сперматогенных клеток, его противовоспалительным и антиапоптотическим действием, как это было выявлено в исследовании его нефропротективного действия, где было показано, что этот препарат повышает экспрессию маркера клеточной пролиферации Ki-67 и антиапоптотического маркера Bcl-2 на фоне уменьшения выраженности воспалительной реакции в ткани поврежденной почки [20].

Заключение

Терапия препаратом Целлекс позволяет уменьшить гонадотоксическое действие ЦСП, препятствуя выраженному нарушению сперматогенеза и способствуя нормализации секреции тестостерона как при среднетоксичной, так и при высокотоксичной дозе химиопрепарата. Использование методов клеточной терапии может быть перспективным направлением профилактики и лечения мужской infertility.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Perazella MA. Onco-nephrology: renal toxicities of chemotherapeutic agents. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(10):1713–21. <https://doi.org/10.2215/CJN.02780312>.
2. Volarevic V, Djokovic B, Jankovic M.G, et al. Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity: a balance on the knife edge between renoprotection and tumor toxicity. Journal of Biomedical Science. 2019;26:25. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0518-9>.
3. Brydoy, M. Fossa, S.D. Klepp, O. et al. Paternity and testicular function among testicular cancer survivors treated with two to four cycles of cisplatin-based chemotherapy. Eur. Urol. 2010;58: 134–140.
4. Zraik IM, Heß-Busch Y. Management of chemotherapy side effects and their long-term sequelae. Urologe A. 2021;60(7):862–871. doi: 10.1007/s00120-021-01569-7.
5. Gao Y, Wang C, Wang K, et al. The effects and molecular



- mechanism of heat stress on spermatogenesis and the mitigation measures. *Syst Biol Reprod Med.* 2022;68(5-6):331-347. doi: 10.1080/19396368.2022.2074325.
6. Li ZM. Role of antioxidants in preventing testicular ischemia-reperfusion injury: a narrative review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2022;26(24):9126-9143. doi: 10.26355/eurrev_202212_30663
 7. Takalani NB, Monageng EM, Mohlala K, et al. Role of oxidative stress in male infertility. *Reprod Fertil.* 2023;4(3):e230024. doi: 10.1530/RAF-23-0024.
 8. Santabarbara G, Maione P, Rossi A, Gridelli C. Pharmacotherapeutic options for treating adverse effects of Cisplatin chemotherapy. *Expert Opin Pharmacother.* 2016;17:561–70.
 9. Chun-yan Fang, Da-yong Lou, Li-qin Zhou, Jin-cheng Wang, et al. Natural products: potential treatments for cisplatin-induced nephrotoxicity. *Acta Pharmacologica Sinica.* 2021;42:1951–1969; https://doi.org/10.1038/s41401-021-00620-9.
 10. Ghafouri-Fard S., Shoorei H., Abak A., Seify M. et al. Effects of chemotherapeutic agents on male germ cells and possible ameliorating impact of antioxidants. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2021; 142, 112040. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112040).
 11. Goto T, Hirabayashi M, Watanabe Y, Sanbo M, et al. Testosterone Supplementation Rescues Spermatogenesis and In Vitro Fertilizing Ability of Sperm in Kiss1 Knockout Mice. *Endocrinology.* 2020;161(9):bqaa092. doi: 10.1210/endo/bqaa092.
 12. Hadziselimovic F Advocating hormonal treatment to prevent adult in-fertility in patients diagnosed with congenital un-descended testes. *Int Braz J Urol.* 2024;50(1):20-27. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2024.9902.
 13. Hassen, M.T., Mohamed, H.K., Montaser, M.M., El-Sharnouby, M.E., Awad, N., Ebiya, R.A. Molecular, Immunomodulatory, and Histopathological Role of Mesenchymal Stem Cells and Beetroot Extract on Cisplatin Induced Testicular Damage in Albino Rats. *Animals* 2021; 11: 1142. https://doi.org/10.3390/ani11041142.
 14. Zhong L, Yang M, Zou X, Du T. et al. Human umbilical cord multipotent mesenchymal stromal cells alleviate acute ischemia-reperfusion injury of spermatogenic cells via reducing inflammatory response and oxidative stress. *Stem Cell Research & Therapy.* 2020;11:294. doi.org/10.1186/s13287-020-01813-5.
 15. von Rohden E, Jensen CFS, Andersen CY, Sønksen J, et al. Male fertility restoration: in vivo and in vitro stem cell-based strategies using cryopreserved testis tissue: a scoping review. *Fertil Steril.* 2024;122(5):828-843. doi: 10.1016/j.fertnstert.2024.07.010.
 16. Alimogullari E, Kartal B, Demir H, Elci MP. Protective effects of adipose-derived stem cells against testicular injury induced after ischemia-reperfusion by regulating autophagy. *Histochem Cell Biol.* 2024;163(1):18. doi: 10.1007/s00418-024-02347-0.
 17. Hokmabadi A, Ranjbar E, Alipour F, Ebrahimzadeh-Bideskan A, Afshari JT, Rezaei MM, Shafieian R. Protective effect of dental pulp stem cells' conditioned medium against cisplatin-induced testicular damage in rats. *Toxicology.* 2024;504:153788. doi: 10.1016/j.tox.2024.153788.
 18. EkimEtekin FB, Ehencan A, Vatansever HS. Exosomes obtained from adipose mesenchymal stem cells prevent ischemia-reperfusion injury after torsion-detorsion in rat testes. *Pediatr Surg Int.* 2023;39(1):204. doi: 10.1007/s00383-023-05487-x.
 19. Esfehiani R, Khadivi F, Valipour J, Shabani M, et al. Secretome of human amniotic membrane stem cells promote recovery and testicular functions through modulating SIRT1/NRF2/TNF- pathway in mice testicular torsion: An experimental study. *Int J Reprod Biomed.* 2024;22(10):821-836. doi: 10.18502/ijrm.v22i10.17670.
 20. Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Ефремов Г.Д., Самойлова С.И., Фролова Е.В., Аполихин О.И. Применение ксеногенного фракционированного протеомного секрета стволовых и прогениторных клеток при остром ишемическом повреждении почек в эксперименте. //Экспериментальная и клиническая урология 2022;15(1):10-19. Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Efremov G.D., Samoilova S.I., Frolova E.V., Apolikhin O.I. Experimental application of xenogenic fractionated proteomic secretome of stem and progenitor cells in acute ischemic kidney injury. *Experimental and Clinical Urology.* 2022;15(1):10-19; https://doi.org/10.29188/2222-8543-2022-15-1-10-19
 21. Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Соколов М.А., Голованов С.А., Дрожжева В.В., Синюхин В.Н., Фролова Е.В., Аполихин О.И., Каприн А.Д. Терапия ксеногенным протеомным комплексом из эмбриональных клеток головного мозга тормозит прогрессирование экспериментально вызванной хронической почечной недостаточности. //Экспериментальная и клиническая урология 2023;16(3):26-37. Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Sokolov M.A., Golovanov S.A., Drozhzheva V.V., Sinyukhin V.N., Frolova E.V., Apolikhin O.I., Kaprin A.D. Therapy with xenogenic proteomic complex from embryonic brain cells inhibits the progression of experimentally induced chronic renal failure. *Experimental and Clinical Urology* 2023;16(3):26-37; https://doi.org/10.29188/2222-8543-2023-16-3-26-37
 22. Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Назиров М.Р., Ефремов Г.Д., Соколов М.А., Комарова Ж.В., Фролова Е.В., Аполихин О.И., Каприн А.Д. Терапия белково-пептидным комплексом эмбриональных стволовых клеток, как метод уменьшения нефротоксического действия химиопрепарата цисплатин. // Онкоурология, 2025 Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Nazirov M.R., Efremov G.D., Sokolov M.A., Komarova Zh.V., Frolova E.V., Apolikhin O.I., Kaprin A.D. Therapy with a protein-peptide complex of embryonic stem cells as a method of reducing the nephrotoxic effect of the chemotherapy drug cisplatin. *Oncourology.* 2025.
 23. Sahin K, Tuzcu M, Gencoglu H, Dogukan A, et al. Epigallocatechin-3-gallate activates Nrf2/HO-1 signaling pathway in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats *Life Sci.* 2010;87(7-8):240-5. doi: 10.1016/j.lfs.2010.06.014.
 24. Guerrero-Beltrán C.E., Calderón-Oliver M., Tapia E., Medina-Campos O.N. et al. Sulforaphane protects against cis-platin-induced nephrotoxicity. *Toxicol Lett.* 2010;192(3):278-85. doi: 10.1016/j.toxlet.2009.11.007.
 25. Eslamifard Z., Moridnia A., Sabbagh S., Ghaffaripour R., et al. Ameliorative Effects of Gallic Acid on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rat Variations of Biochemistry, Histopathology, and Gene Expression. *Biomed Res Int.* 2021;2021:2195238. doi: 10.1155/2021/2195238.
 26. Cheki M., Jafari S., Najafi M., Mahmoudzadeh A. Glucosamine Protects Rat Bone Marrow Cells Against Cisplatin-Induced Genotoxicity and Cytotoxicity. *Anticancer Agents Med Chem.* 2019;19(14):1695-1702. doi: 10.2174/1871520619666190704164126.
 27. Krouwel EM, Kramer Z, Gordijn R, Nicolai MPJ, et al. Sexual and fertility-related adverse effects of medicinal treatment for cancer; a national evaluation among medical oncologists. *Support Care Cancer.* 2022 30(5):4035-4047. doi: 10.1007/s00520-021-06721-9.
 28. Chow EJ, Stratton KL, Leisenring WM, Oeffinger KC, et al. Pregnancy after chemotherapy in male and female survivors of childhood cancer treated between 1970 and 1999: A report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol* 2016;17:567–576.
 29. Tian En L, Brougham MFH, Wallace WHB, Mitchell RT. Impacts of platinum-based chemotherapy on subsequent testicular function and fertility in boys with cancer. *Hum Reprod Update.* 2020;26(6):874-885. doi: 10.1093/humupd/dmaa041.
 30. Kohsaka T, Minagawa I, Morimoto M, Yoshida T, et al. Efficacy of relaxin for cisplatin-induced testicular dysfunction and epididymal spermatotoxicity. *Basic and Clinical Andrology* 2020; 30:3. https://doi.org/10.1186/s12610-020-0101-y.
 31. Allen CM., Lopes F, Mitchell RT, Spears N. Comparative gonadotoxicity of the chemotherapy drugs cisplatin and carboplatin on prepubertal mouse gonads. *Molecular Human Reproduction,*



- 2020.;26(3):129–140. doi:10.1093/molehr/gaaa008.
32. Moradi M, Hashemian MA, Faramarzi A, Goodarzi N, et al. Therapeutic effect of sodium alginate on bleomycin, etoposide and cisplatin (BEP)-induced reproductive toxicity by inhibiting nitro-oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Scientific Reports* 2024;14:1565. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52010-w>.
33. Aboul-Naga AM, Hamam ET, Awadalla A, Shokeir AA. The protective role of L-carnitine on spermatogenesis after cisplatin treatment during prepubertal period in rats: A pathophysiological study. *Life Sci*. 2020;258:118242. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118242.
34. Shabani R, Ashtari K, Behnam B, Izadyar F, et al. In vitro toxicity assay of cisplatin on mouse acute lymphoblastic leukaemia and spermatogonial stem cells. *Andrologia* 2016;48:584–594.
35. Elrashidy, R.A. Zakaria, E.M. Elmaghraby, A.M. Abd El Aziz, R.E.M et al. Linagliptin and Vitamin D3 Synergistically Rescue Testicular Steroidogenesis and Spermatogenesis in Cisplatin-Exposed Rats: The Crosstalk of Endoplasmic Reticulum Stress with NF- κ B/iNOS Activation. *Molecules* 2022; 27: 7299. <https://doi.org/10.3390/molecules27217299>.
36. Favareto APA, Fernandez CDB, da Silva DAF, Anselmo-Franci JA, Kempinas WDG. Persistent impairment of testicular histology and sperm motility in adult rats treated with cisplatin at peri-puberty. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011;109:85–96.
37. Aslani F, Sebastian T, Keidel M, Fröhlich S, et al. Resistance to apoptosis and autophagy leads to enhanced survival in Sertoli cells. *Mol Hum Reprod* 2017;23:370–380.
38. Azouri H, Bidart JM, Bohuon C. In vivo toxicity of cisplatin and carboplatin on the Leydig cell function and effect of the human choriongonadotropin. *Biochem Pharmacol* 1989;38:567–571.
39. Nna VU, Ujah GA, Suleiman JB, Mohamed M, et al. Tert-butylhydroquinone preserve testicular steroidogenesis and spermatogenesis in cisplatin-intoxicated rats by targeting oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Toxicology*. 2020;441:152528. doi: 10.1016/j.tox.2020.152528.
40. Smart E, Lopes F, Rice S, Nagy B, et al. Chemotherapy drugs cyclophosphamide, cisplatin and doxorubicin induce germ cell loss in an in vitro model of the prepubertal testis. *Sci Rep* 2018;8:1–15.
41. Moradi M, Goodarzi N, Faramarzi A, Cheraghi H, et al. Melatonin protects rats testes against bleomycin, etoposide, and cisplatin-induced toxicity via mitigating nitrooxidative stress and apoptosis. *Biomed. Pharmacother*. 2021;138, 111481.
42. Makled MN, Said E. Tranilast abrogates cisplatin-induced testicular and epididymal injuries: An insight into its modulatory impact on apoptosis/proliferation. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021;35(8):e22817. doi: 10.1002/jbt.22817.
43. Hazem SH, Saad KM, Samaha MM. Protective effects of BTK inhibition by acalabrutinib on cisplatin-induced renal and testicular injury in mice: Modulation of mTOR/AMPK, NLRP3/GSDMD-N, and apoptotic pathways. *Int Immunopharmacol*. 2025;149:114256. doi: 10.1016/j.intimp.2025.114256.
44. Taitson, P. F., Mourthé Filho, A., Rodrigues, L. M. F. & Gaspar, A. D. J. Treating male infertility. *JBRA Assist. Reprod*. 2022;17; 351–352.
45. Narayana, K., Al-Bader, M., Mousa, A. & Khan, K. M. Molecular effects of chemotherapeutic drugs and their modulation by antioxidants in the testis. *Eur. J. Pharmacol*. 2012;674: 207–216
46. Xia J, Minamino S, Kuwabara K, Arai S. Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Biosci Trends* 2019;13(4):299–

Ответственный за связь с редакцией

Кирпатовский В.И. — д.м.н., профессор, гл. научный сотрудник НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; РИНЦ Author ID 604441, <https://orcid.org/0000-0002-4356-9200>. Тел. 8-916-488-1413.

Соавторы:

Сивков А.В. — к.м.н., заместитель директора по научной работе НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; РИНЦ Author ID 622663, <https://orcid.org/0000-0001-8852-6485>

Ефремов Г.Д. — к.м.н., заведующий научно-лабораторным отделом НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; РИНЦ Author ID 637962, <https://orcid.org/0000-0002-8822-8119>

Орлова Е.В. — врач клинической лабораторной диагностики клинко-диагностической лаборатории НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия

Комарова Ж.В. — аспирант НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; Москва, Россия; РИНЦ Author ID 1202604

Фролова Е.В. — старший научный сотрудник отдела «Биология» ВИНТИ РАН; Москва, Россия; vladkirp@yandex.ru

Вклад авторов:

Кирпатовский В.И. — проведение экспериментов на животных, анализ результатов, написание статьи — 40%

Сивков А.В. — концепция исследования, анализ полученных результатов — 15%

Ефремов Г.Д. — проведение морфологических исследований — 20%

Орлова Е.В. — определение тестостерона — 10%

Комарова Ж.В. — проведение экспериментов на животных, обсуждение результатов — 10%

Фролова Е.В. — анализ литературных данных, обсуждение результатов — 5%

Конфликт интересов отсутствует.

Финансирование — исследование проведено без спонсорской поддержки.

Все манипуляции с животными выполняли под наркозом в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС о защите животных, используемых для научных целей и Европейской конвенцией о гуманном обращении с животными, используемыми для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123).