

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «БІОГЛОБІН-У» НА СПЕРМАТОГЕННУ ТА ІНКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ

Малова Н. Г., Бречка Н. М., Бондаренко В. О., Коренева Є. М., Іваннікова С. В.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків

Погіршення репродуктивного здоров'я населення більшості країн Європи, у тому числі й України, та збільшення кількості безплідних шлюбів за рахунок чоловічої інфертильності, призводить до того, що відновлення сперматогенної функції та лікування гіпогонадізму різної етіології стає все більш актуальною проблемою. Для відновлення фертильності використовуються гормональні та негормональні засоби, які не завжди ефективні або мають побічні ефекти [2, 3]. Тому на сьогодні важливим є створення нових засобів та терапевтичних підходів до лікування репродуктивних порушень.

Останніми роками досить поширеним є призначення біогенних стимуляторів різного походження (муміє, прополіс, екстракт алое). Основна особливість їх дії полягає в тому, що вони викликають активацію різних систем організму, головним чином впливаючи на активність ферментів, імуно-

біологічну реактивність, відновлюють гормональний баланс [4, 5]. Одним з таких препаратів є «Біоглобін-У» (протеїнізований водно-сольовий екстракт з плаценти людини до складу якого входять поліпептиди (3,5–7%), амінокислоти (50–60%), аміноцукри (4–5%), гексуронові кислоти (8–9%) [6, 7]. Використання препарату «Біоглобін-У» при гострому та хронічному простатиті, які є причиною безпліддя, перешкоджає дегрануляції тканинних базофілів, тому останнім часом його широко застосовують в урологічній практиці [8]. Однак, яким чином даний препарат впливає на функціональний стан сім'яників невідомо.

Метою нашої роботи було вивчення інкреторної та генеративної функції яєчок при застосуванні препарату «Біоглобін-У» в умовах створення серотонінової моделі гіпогонадізму для патогенетичного обґрунтування нових методів корекції безпліддя.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконано на статевозрілих самцях щурів популяції Вістар з початковою масою тіла 280–350 г. Тварини були розподілені на три групи: 1 група – інтактний контроль; 2 група – контрольна пато-

логія (модель серотонінового ураженням яєчок; серотоніна гідрохлорид (Alfa Aesar®) вводили протягом 14 днів підшкірно у дозі 5 мг/кг. [9]); 3 група – тварини, яким за три доби до початку введення серотоніну гідро-

хлориду, на тлі введення серотоніну (14 дб) та протягом трьох дб після ін'єкцій серотоніну вводили препарат «Біоглобін-У» (ЗАТ «Біолік», м. Харків) у дозі 200 мкл/кг.

Для знеживлення щурів використовували швидко етаназію на 21 добу експерименту, видаляли сім'яники та їх придатки, а також передміхурову залозу. У епідидимальній суспензії оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (концентрацію, рухливість, час збереження рухливості, кількість патологічних форм) [10, 11].

Сім'яники щурів усіх груп фіксували у 10 % розчині формаліну, проводили по спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін [12]. На зрізах, які фарбували гематоксилином та еозином, окрім оглядової мікроскопії проводили морфометричну оцінку процесу сперматогенезу [13].

У сім'яних пухирцях (СП) визначали вміст фруктози [14]. Кислу фосфатазу (протатичну) визначали в сироватці крові за допомогою стандартного комерційного набору DAC-SpectroMed s.r.l. (Молдова), де у якості субстрату використовувався нафтилфо-

сфат. Рівень чоловічого статевого гормону визначали імуноферментним методом за допомогою стандартного комерційного імуноферментного набору «Стероид ИФА — тестостерон» («Алкор Био», Росія). Додатково рівень андрогенної насиченості організму характеризували за типом кристалізації секрету передміхурової залози на її відбитках [15].

Експериментальні тварини були вирощені у розпліднику ДУ «ІПЕП ім. В. Я. Данилевського НАМН України» при природному освітленні і раціоні, рекомендованому для даного виду тварин, та питному режимі *ad libitum*. Дослідження проводилися відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) [16].

Статистичну обробку цифрових даних проводили параметричними методами з використанням критерію Ст'юдента [17]. У таблицях дані представлені як $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З табл. 1 видно, що застосування серотоніна гідрохлориду негативно впливає на статеві клітини. Він порушує функціональний стан сперматозоїдів, а саме: збільшує кількість патологічних форм, скорочує час збереження рухливості, зменшує відсоток рухливих спермій та їх концентрацію.

У групі тварин, яким вводили препарат «Біоглобін-У», у порівнянні з контрольною патологією, відзначається підвищення кількості спермій на 63 %. Крім того, у цих тварин відбувається нормалізація відсотка патологічних (морфологічно змінених) форм спермій.

При застосуванні препарату «Біоглобін-У» не відмічалось вірогідного поліпшення рухливої здатності статевих клітин, але відбувалося збільшення, майже до нормальних величин, часу збереження рухливості спермій у порівнянні з контрольною патологією.

Всі отримані ефекти препарату «Біогло-

бін-У» можуть бути обумовлені тим, що до його складу входять поліпептиди, амінокислоти, гексуронові кислоти, аміноцукри, які здатні впливати на енергетичні ланки загального метаболізму та відновлювати стан, порушений введенням серотоніну гідрохлориду [6–8].

При гістологічному дослідженні яєчок встановлено, що морфометричні параметри сперматогенезу інтактних щурів відповідали фізіологічній нормі [13].

Кількісний аналіз процесу сперматогенезу у тварин, які отримували препарат «Біоглобін-У», засвідчив, що його характеристики вірогідно покращилися порівняно з контрольною патологією: кількість стовбурових клітин у каналці збільшилася у 4 рази, чисельність каналців із 12 стадією мейозу — у 3,57 рази, індекс сперматогенезу виріс у 2,8 рази, втім ще не досяг інтактного рівня (табл. 2).

Відомо, що серотонін здатен викликати

Вплив препарату «Біоглобін-У» на морфофункціональні показники сперматозоїдів щурів з експериментальною гонадопатією (n = 8)

Група	Кількість спермій, млн/мл	Патологічні форми, %	Рухомі спермії, %	Час збереження рухливості, хв.
Інтактний контроль	52,42 ± 3,93	21,86 ± 1,97	81,86 ± 3,48	187,86 ± 12,10
Контрольна патологія (серотонін)	25,85 ± 2,42*	35,14 ± 4,54*	39,57 ± 8,17*	115,71 ± 6,81*
Серотонін + «Біоглобін-У»	42,29 ± 4,99**	24,43 ± 3,03**	51,57 ± 4,84*	157,86 ± 7,57**

Примітка. * — статистично значущі відмінності від інтактного контролю ($p < 0,05$); ** — статистично значущі відмінності від показників групи з контрольною патологією ($p < 0,05$).

Вплив препарату «Біоглобін-У» на кількісні показники процесу сперматогенезу щурів з експериментальною гонадопатією (n = 7)

Група	Кількість сперматогоній у каналці	Кількість каналців із 12-ю стадією мейозу, %	Кількість каналців зі злущеним епітелієм, %	Індекс сперматогенезу, бали
Інтактний контроль	57,12 ± 1,01	5,0	0,57	3,36
Контрольна патологія (серотонін)	13,21 ± 6,03*	1,0*	0,43	0,99*
Серотонін + «Біоглобін-У»	52,86 ± 2,93**	3,57**	1,86	2,78* **

Примітка. Як у табл. 1.

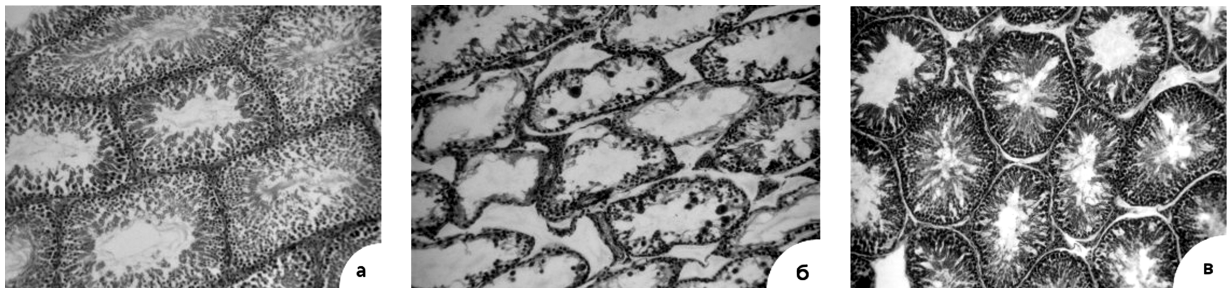


Рис. 1. Сім'яники щурів. Мікрофото. Фарбування гематоксилін-еозином, $\times 100$.

а — інтактні щури: нормальний розмір сім'яних каналців, статеві клітини представлені у повному обсязі; б — контрольна патологія (введення серотоніну гідрохлориду): спустошення сім'яних каналців, зменшення їх розміру, розширення міжканальцевого простору; в — введення «Біоглобіну-У» на фоні серотоніну: нормальний стан сім'яних каналців, статеві клітини не змінені.

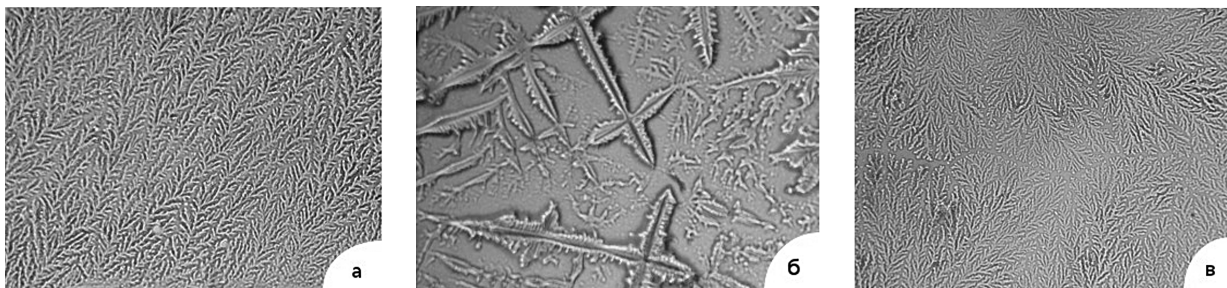


Рис. 2. Типи кристалізації секрету передміхурової залози щурів. Мікрофото відбитку секрету, $\times 200$.

а — інтактні щури: типовий феномен «листя папороті»; б — контрольна патологія (введення серотоніну гідрохлориду): поодинокі нетипові кристали на фоні аморфної маси; в — введення «Біоглобіну-У» на фоні серотоніну: нормальний малюнок феномену «листя папороті».

Вплив препарату «Біоглобін-У» на вміст фруктози в сім'яних пухирцях, активність кислої фосфатази (простатичної) та концентрацію тестостерону в сироватці крові щурів-самців з гонадопатією, яку викликали серотоніном (n = 8)

Група	Фруктоза, ммоль/л	Кисла фосфатаза, Од/л	Тестостерон, нмоль/л
Інтактний контроль	34,77 ± 1,99	19,92 ± 0,47	16,04 ± 0,82
Контрольна патологія (серотонін)	11,72 ± 1,32*	8,84 ± 0,49*	3,84 ± 0,98*
Серотонін + «Біоглобін-У»	14,91 ± 0,81* [†]	11,20 ± 1,65*	9,74 ± 1,76**/**

Примітка. * — статистично значущі відмінності від показників інтактного контролю ($p < 0,05$);

** — статистично значущі відмінності від показників групи з контрольною патологією ($p < 0,05$);

[†] — тенденція до збільшення показника відносно контрольної патології ($0,05 < p < 0,1$).

чення підтримуючих клітин. Як наслідок цього, відбувається уповільнення диференціювання статевих клітин, порушення морфоструктури яєчок. За таких умов знижується резерв сперміогенеза (диференціювання сперматид у сперматозоїди), що призводить до зменшення індексу сперматогенезу, а отже — зменшується концентрація сперматозоїдів. Введення препарату «Біоглобін-У» в лікувально-профілактичному режимі позитивно вплинуло на стан сім'яників більшої частини щурів (п'ять із семи). У звивистих сім'яних каналцях були відсутні ознаки асперматогенезу, дистрофії підтримуючих та статевих клітин, не спостерігалися зміни розміру каналців. Процес сперматогенезу у різних каналцях простежено до пізніх сперматид та сперматозоїдів (рис. 1).

Нормалізуючу дію «Біоглобіну-У» щодо відновлення морфологічного стану сім'яників щурів, які зазнали серотонінові ураження, можна пояснити тим, що препарат виявляє притаманну йому біостимулюю-

чу, антиоксидантну та репаративну дію, яка відновлює трофіку яєчок, активацію клітин Лейдига та опосередковано стимулює клітини Сертолі [6–8].

Під впливом експериментальної терапії перепаратом «Біоглобін-У» суттєво покращувалася андрогенна насиченість організму щурів, про що посередньо свідчила нормалізація кристалізації секрету передміхурової залози у більшості піддослідних тварин: тип кристалізації секрету передміхурової залози (рис. 2, в) становив 2,47 бали проти 1,99 у щурів з експериментальною патологією (рис. 2, б).

При дослідженні інкреторної функції сім'яників відмічалось суттєве збільшення рівня тестостерону у сироватці крові під впливом препарату «Біоглобіну-У» порівняно з гіпогонадизмом, викликаним серотоніном (табл. 3). Спостерігалась також тенденція до зростання утворення фруктози у сім'яних пухирцях ($0,05 < P < 0,1$) (див. табл. 3), що, ймовірно, і призводило до поліпшення показників рухливості спермій.

ВИСНОВКИ

1. При застосуванні препарату «Біоглобін-У» відбувається зростання кількості спермій у придатку сім'яника та нормалізація їх рухливості на тлі покращення процесу сперматогенезу у яєчках.
2. Введення тваринам «Біоглобіну-У» в лікувально-профілактичному режимі запобігає розвитку порушень інкреторної функції сім'яників на фоні серотонін-індукованого ураження яєчок.

ЛІТЕРАТУРА

1. Нікітін О. Д. Андрологічні аспекти безплідного шлюбу: стан проблеми, епідеміологія (огляд літератури) [Текст] / О. Д. Нікітін // Здоров'я мужчини. — 2010. — № 3. — С. 108–116.
2. Medical treatment to improve sperm quality [Text] / A. M. Isidori, C. Pozza, D. Gianfrilli, A. Isidori // Reproductive Biomedicine Online. — 2006. — Vol. 12, comp. 1. — P. 238–243.
3. Kumar R. Drug therapy for idiopathic male infertility: rational versus evidence [Text] / R. Kumar, G. Gautam, N. P. Gupta // J. Urolog. — 2006. — Vol. 176, № 4, Pt. 1. — P. 1307–1312.
4. Сотникова Е. П. Адаптационное действие биогенных стимуляторов по В. П. Филатову [Текст] / Актуальні питання фармакології: Конф., присвяч. 70-річчю кафедри фармакології ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 26–27 жовтня 2007 р., Вінниця // Вісник Вінницького нац. мед. ун-ту. — 2007. — № 11 (2/2). — С. 804–806.
5. Чеботарев Д. Ф. Использование тканевых препаратов плаценты, полученных по методу академика В. П. Филатова, для профилактики ускоренного старения человека [Текст] / Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині: Наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 17–18 вересня 2003 р. — Одеса: Астропринт, 2003. — С. 108.
6. Россихин В. В. Возможности биокоррекции в урологии и андрологии [Текст] / Ю. И. Козин, В. В. Россихин // Научное и практическое значение биоглобина в медицине, как бионормализатора: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием. — Х., 2001. — С. 5–8.
7. Оценка эффективности биоглобина у больных хроническим пиелонефритом [Текст] / Ю. И. Козин, В. В. Россихин и др. // Научное и практическое значение биоглобина в медицине как бионормализатора: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием — Х., 2001. — С. 9–15.
8. Шитов Г. Г. Научное и практическое значение биоглобина в медицине, как бионормализатора [Текст] / Г. Г. Шитов // Мат. науч.-практ. конф. — Х., 2001. — 74 с.
9. Бутенко І. Г. Корекція препаратами йохімбе-гез та йохімбе-гармонія порушень сперматогенезу у щурів, викликаних серотоніном [Текст] / І. Г. Бутенко, Ю. Б. Лар'яновська // Експерим. та клініч. медицина. — 2000. — № 3. — С. 18–21.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) [Текст] / За ред. О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
11. Юнда И. Ф. Болезни мужских половых органов [Текст] / И. Ф. Юнда — К.: Здоров'я, 1989. — С. 14.
12. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники [Текст] / Г. А. Меркулов. — М.: Медицина, Ленингр. отд.-ние. — 1969. — 424 с.
13. Райцина С. С. Современные проблемы сперматогенеза [Текст] / С. С. Райцина. — М.: Медицина, 1982. — С. 73–107.
14. Бокуняева Н. И. Выделения половых органов [Текст] / Н. И. Бокуняева // Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования / Под ред. Е. А. Кост. — М., 1975. — С. 331–340.
15. Вартапетов Б. А. Предстательная железа и возрастные нарушения половой деятельности [Текст] / Б. А. Вартапетов, А. Н. Демченко. — К.: Здоров'я, 1975. — 214 с.
16. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.
17. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов [Текст] / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум. — 2000. — С. 349–454.

ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «БІОГЛОБІН-У» НА СПЕРМАТОГЕННУ ТА ІНКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ

Малова Н. Г., Бречка Н. М., Бондаренко В. О., Коренева Є. М., Іваннікова С. В.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків

Вивчено стан сперматогенезу та гормональну функції яєчок при застосуванні препарату «Біоглобін-У» в умовах серотонінової моделі гіпогонадізму. Показано, що при застосуванні препарату «Біоглобін-У» в лікувально-профілактичному режимі відбувається зростання кількості спермій та підвищення часу збереження їх рухливості на тлі покращення процесу сперматогенезу та інкреторної функції яєчок.

Ключові слова: сперматогенез, гонади, експериментальна патологія, «Біоглобін-У».

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «БИОГЛОБИН-У» НА СПЕРМАТОГЕННУЮ
И ИНКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ СЕМЕННИКОВ КРЫС**

Малова Н. Г., Бречка Н. М., Бондаренко В. О., Коренева Е. М., Иванникова С. В.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков

Изучены состояние сперматогенеза и гормональная функция яичек при применении препарата «Биоглобин-У» в условиях серотониновой модели гипогонадизма. Показано, что при применении препарата «Биоглобин-У» в лечебно-профилактическом режиме происходит увеличение количества спермиев и повышение времени сохранения их подвижности на фоне улучшения процесса сперматогенеза и инкреторной функции яичек.

К л ю ч е в ы е с л о в а: сперматогенез, гонады, экспериментальная патология, «Биоглобин-У».