

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ЄГОРОВА ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК:615.322:612.681:616–053.9:547.983.014.22

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОЛІФЕНОЛЬНОГО
ПРЕПАРАТУ «ЕЛГАЦИН» НА ВІКОВІ ЗМІНИ
РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ САМЦІВ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакоєкономіки Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України,
ЯКОВЛЄВА Лариса Василівна,
Національний фармацевтичний університет,
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри фармакоєкономіки

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор,
МАСЛОВА НАТАЛІЯ ФЕДОРІВНА,
ДП «Державний науковий центр лікарських засобів
і медичної продукції» (м. Харків),
вчений секретар

доктор фармацевтичних наук, старший науковий
співробітник

ГОРДІЄНКО АНАТОЛІЙ ДМИТРОВИЧ,
Харківська державна зооветеринарна академія
МОН України (м. Харків),
професор кафедри фармакології і токсикології

Захист відбудеться “_____” червня 2016 року о ____ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська (Блюхера), 4).

Автореферат розісланий “_____” травня 2016 р.

Учений секретар спеціалізованої
вченої ради, д.фарм.н., проф. _____

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Значні демографічні зміни, що відбулися у світі за останнє сторіччя (підвищення тривалості життя людини та збільшення числа людей похилого віку) обумовлюють актуальність вивчення питань, пов'язаних зі старінням (В. Н. Анисимов, 2008), яке традиційно асоціюється зі зниженням репродуктивної функції організму. Старіння чоловічої репродуктивної системи, обумовлено багатofакторними змінами на молекулярному, клітинному і регуляторному рівнях, а також індивідуальними особливостями, що тісно пов'язані зі способом життя та факторами навколишнього середовища (О. V. Воїко et al., 2014). У той час як жіноча фертильність закінчується з настанням менопаузи, у чоловіків не спостерігається різкого закінчення здатності до запліднення, проте відбувається її поступове зниження. З віком відбувається прогресуюча дисрегуляція гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи і локальних авто/паракринних взаємодій, що призводить до патологічних змін у репродуктивній функції (Y. Almeahdi et al., 2015). Проте, збільшення темпів життя, психоемоційна напруга внаслідок стресу, несприятлива екологія є чинниками, що призводять до прискорення темпів постаріння населення та збоїв репродуктивної функції у значно молодшому віці.

Іншою демографічною ознакою останнього століття є збільшення віку материнства і батьківства внаслідок складних сучасних соціально-економічних умов, що обумовлює важливість проблеми зниження народжуваності дітей з віком та актуальність пошуку способів подовження репродуктивного віку чоловіків. Аналіз літературних джерел свідчить, що одним з провідних патогенетичних чинників дисфункції репродуктивної системи чоловіків при старінні є оксидативний стрес, який виникає за умови підвищеного утворення активних форм кисню (АФК) при супутній недостатності антиоксидантного захисту (S. Kothari et al., 2010; A. Agarwal, 2010; P. Gharagozloo et al., 2011; В. Yu et al., 2015). З позицій вільно-радикальної теорії старіння доцільним є пошук геропротекторів серед речовин з антиоксидантними властивостями (D. Harman, 1994; S. Amaral et al., 2012). Перспективним джерелом для створення геропротекторів є поліфенольні сполуки, з яких найбільш чисельну групу складають біофлавоноїди і дубильні речовини. Враховуючи обмежену номенклатуру геропротекторів, а також дані про виразні антиоксидантні властивості похідних фенольних сполук, зокрема елаготанінів, ми зупинили свою увагу на субстанції з шишок вільхи сірої та клейкої під умовною назвою «Елгацин». Дана дисертаційна робота присвячена фармакологічному вивченню впливу антиоксидантного засобу, таблеток «Елгацин», на репродуктивну функцію щурів самців при старінні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи «Експериментальне дослідження динаміки функціональних змін в організмі при старінні та можливості їх корекції біологічно активними речовинами (БАР) поліфенольної природи», № держ. реєстрації 0108U010943 (2008-2011) Національного фармацевтичного університету МОЗ України, у якій дисертант є співвиконавцем.

Мета і задачі дослідження. Метою даної роботи було експериментальне обґрунтування доцільності застосування таблеток «Елгацин» для корекції вікових змін репродуктивної системи щурів самців.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Визначити функціональні характеристики сперматозоїдів інтактних щурів за умови фізіологічного старіння та вивчити характер впливу таблеток «Елгацин» на їх вікову динаміку.
2. Вивчити особливості впливу двократних курсів таблеток «Елгацин» на вікові зміни органів репродуктивної системи, передміхурової залози (ПМЗ) та сім'яників, та встановити тривалість дії препарату.
3. Дослідити вікові зміни репродуктивної системи інтактних щурів самців та вплив таблеток «Елгацин» на стан репродуктивної функції старіючих тварин за показниками фертильності та плодючості.
4. Дослідити гонадопротекторну дію таблеток «Елгацин» у порівнянні з фітопрепаратом «Спеман®» при експериментальній гіпофункції сім'яників щурів самців, що викликана серотоніном.
5. Вивчити простатопротекторну активність таблеток «Елгацин» у порівнянні з рослинним препаратом «Пепонен» на моделі простатиту, викликаного прошиванням ПМЗ щурів.

Об'єкт дослідження. Репродуктивна функція щурів самців при фізіологічному та передчасному старінні.

Предмет дослідження. Фармакологічні властивості оригінального антиоксидантного засобу, таблеток «Елгацин», при фізіологічному та експериментальному згасанні репродуктивної функції щурів самців.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи були використані фармакологічні, лабораторні, біохімічні, гістологічні методи дослідження та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі вперше проведено комплексне дослідження таблеток «Елгацин» щодо репродуктивної функції самців щурів. Визначено позитивний вплив таблеток «Елгацин» на функціональні параметри сперматозоїдів, сперматогенез, гістоструктуру сім'яників та простати та стан процесів ПОЛ/АОС в організмі щурів за умови фізіологічного старіння та при модельних патологіях сечостатевої системи самців щурів.

Доповнено наукові дані про фармакологічні властивості таблеток «Елгацин», що обумовлюють його виразну геропротекторну дію. При профілактичному введенні повторними курсами таблетки «Елгацин» уповільнюють вікові зміни репродуктивної функції старіючих щурів, підвищуючи їх фертильність в 1,5 рази та плодючість в 1,3 разу у порівнянні з групою інтактного вікового контролю. За фізіологічними параметрами постнатального розвитку щурят, народжені від самців передстаречого віку (18 міс.), які отримували таблетки «Елгацин», не відрізнялися від щурят, народжених від інтактних самців репродуктивного віку (6 міс.).

За умови гіпофункції сім'яників таблетки «Елгацин» попереджають розвиток мікросудинних порушень у сім'яниках, що віддзеркалюється підвищенням осмотичної та кислотної резистентності у 1,4 разу, та зниженням запалення, про що свідчить підвищення фосфатазного індексу у 3,4 разу та зниження рівня продуктів ПОЛ у 1,5 рази у порівнянні з групою контрольної патології. Ефективність таблеток «Елгацин» на даній моделі у цілому була на рівні препарату порівняння (ПП), таблеток «Спеман®», але за впливом на показники системи ПОЛ/АОС таблетки «Елгацин» переважали його.

За умов експериментального асептичного хронічного простатиту, викликаного прошиванням ПМЗ щурів самців, таблетки «Елгацин» зменшували виразність запальних процесів, про що свідчить зниження у 1,7 разу швидкості зсідання еритроцитів та у 1,6 разу накопичення циркулюючих імунних комплексів у порівнянні з групою контрольної патології. Препарат порівняння, капсули «Пепонен», чинив співставиму з таблетками «Елгацин» дію.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи є фрагментом доклінічного вивчення таблеток «Елгацин» як геропротекторного антиоксидантного засобу природного походження (звіт з НДР «Експериментальне дослідження динаміки функціональних змін в організмі при старінні та можливості їх корекції біологічно активними речовинами (БАР) поліфенольної природи»). Результати дисертаційної роботи довели доцільність застосування таблеток «Елгацин» для корекції вікових змін репродуктивної системи щурів самців, що обумовлює доцільність розширення показань до застосування таблеток «Елгацин» як гонадо- та простатопротектора.

Запропоновано інноваційні підходи до корекції вікових змін репродуктивної функції самців ссавців антиоксидантним засобом на основі елаготанінів (інформаційний лист МОЗ України № 91-2015, 2015 р.).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр фармакології та клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 6 від 17.02.2016 р.), фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 11 від 18.04.2016 р.), загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 9 від 12.04.2016 р.).

Особистий внесок здобувача. Разом з науковим керівником визначені мета і завдання дослідження, розроблені методичні підходи до фармакологічного вивчення таблеток «Елгацин». Особисто здобувачем проведено патентно-інформаційний пошук, експериментальні дослідження, статистична обробка та аналіз одержаних результатів. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень. Робота виконана на базі ЦНДЛ НФаУ.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були викладені і обговорені на: XVIII Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2011); IV Національному з'їзді фармакологів України «Фармакологія та лікарська токсикологія» (Київ, 2011); IV міжнародній науково-практичній конференції «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, медицине, фармакологии» (Санкт-Петербург, 2012); III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012); Міжнародній науково-практичній конференції «Ускоренное старение: механизмы, диагностика, профилактика» (Київ, 2012); XIX Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (Харків, 2012); V Національному конгресі «Людина та ліки – Україна» (Київ, 2012); I міжнародній науково-практичній конференції «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань» (Харків, 2013); V науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013); VIII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації надруковано 18 робіт: 6 статей, з них 4 статті у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 закордонна публікація, 11 тез доповідей, 1 інформаційний лист МОЗ України.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 177 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, чотирьох розділів власних досліджень, висновків та списку використаних джерел літератури. Робота ілюстрована 26 таблицями і 30 рисунками. Бібліографія включає 202 джерела, з них 69 кирилицею, 133 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Фармакологічні дослідження виконані на 1447 тваринах, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ. Всі експерименти

виконували у повній відповідності до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). Процедури, що викликають біль (гострі досліди та евтаназія) проводили під інгаляційним наркозом. Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол №2 від 18.02.15 р.).

Фармакологічні дослідження проведені на базі ЦНДЛ НФаУ, яка атестована МОЗ України (посвідчення № 008/11 від 18.10.2011 р., чинне до 17.10.2015 р.).

Об'єктом досліджень стали таблетки «Елгацин» (серія 01.03.12), виробництва ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна. Діюча речовина таблеток «Елгацин» (7 мг/таблетку) представлена елаговою кислотою (не менше за 70%), валонієвою кислотою (не більше 10%) та продуктами їх взаємодії (решта до 100%). Субстанція елгацину вилучена з суплідь (шишок) вільхи клейкої і сірої (*Alnus glutinosa* L., *Alnus cinerea* L.) род. Березових (*Betulaceae*) за допомогою методу латентного гідролізу елаготанінів. Вперше субстанція елгацину отримана на кафедрі ботаніки Національного фармацевтичного університету проф. О. П. Хворост (Патент України № 23109, 1995), пізніше ця технологія була модифікована на ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ». В дослідженнях таблетки «Елгацин» застосовували у вигляді водної суспензії внутрішньошлунково у дозі 12 мг/кг (1 мг/кг за субстанцією). ПП за фармакологічною дією: таблетки «Спеман®» (90 мг/кг) виробництва Himalaya Drug Company та капсули «Пепонен» (108 мг/кг) виробництва TEVA Pharmaceutical Works Co. Ltd. Таблетки «Спеман®» – це комбінований рослинний препарат, який містить порошки та екстракти 9 лікарських рослин та знайшов широке застосування в терапії захворювань ПМЗ та порушень сперматогенезу. Капсули «Пепонен» – це рослинний засіб на основі олії насіння гарбуза, який застосовують для лікування доброякісної гіперплазії ПМЗ. Дози ПП для щурів перераховували з добової дози для людини за допомогою коефіцієнта перерахунку з урахуванням площі тіла (И. П. Уланова, 1968).

У дослідженні використовували щурів самців різного віку, з урахуванням співвідношення віку щурів до віку людини (Т. А. Гуськова, 2003). При дослідженні вікових змін репродуктивної функції щурів самців застосовували два контролю: 1 контроль – інтактні тварини репродуктивного віку (6 міс.); 2 контроль – інтактний віковий контроль (ІВК).

Дослідження вікових змін репродуктивної функції інтактних щурів самців у динаміці старіння були проведені відповідно до Методичних рекомендацій з доклінічного вивчення впливу лікарських засобів на репродуктивну функцію тварин (О. В. Стефанов, 2001).

Дизайн дослідження представлений на рис. 1.

I етап: визначення функціональних характеристик сперматозоїдів інтактних щурів за умови фізіологічного старіння та вплив елгацину на їх вікову динаміку.

Щури віком 6, 12, 18, 24 місяці.

Однократне введення елгацину: протягом 30 діб (I серія) та 10 діб (II серія).

Показники спермограми, індекс сперматогенезу, рівень андрогенної насиченості

II етап: дослідження морфоструктури сім'яників і простати та стану редокс процесів в організмі щурів самців за умови фізіологічного старіння. Вивчення особливостей впливу двократних курсів

таблеток «Елгацин» на віковій зміні органів репродуктивної системи та визначення тривалості дії препарату.

Щури віком 6; 12; 13; 14; 15; 15,5; 16,5; 17,5; 18,5 місяців.

Двократне введення елгацину курсом по 30 днів: перше введення – у 12 міс.; повторне введення – у 15,5 міс.

Показники ПОЛ/АОС, гістологічні дослідження

III етап: вивчення вікової динаміки фертильності та плодючості інтактних щурів та на тлі повторних курсів введення елгацину. Визначення особливостей постнатального розвитку нащадків від щурів самців різного віку, яким вводили елгацин протягом 1 місяця у порівнянні з нащадками від інтактних щурів відповідного віку та інтактних 6-міс. щурів.

Щури віком 6, 12, 15, 18, 21, 24 місяці.

Повторні курси введення

елгацину кожні 3 місяці (всього 5 курсів).

Показники: індекси фертильності та плодючості. Показники постнатального розвитку щурят.

IV етап: вивчення лікувальної дії елгацину на різних моделях патології статевої системи щурів самців передстаречого віку (18 міс).

Модель гіпофункції сім'яників щурів, викликаній серотоніном. Препарат порівняння – таблетки «Спеман®»

Модель простатиту у щурів, викликаного прошиванням простати. Препарат порівняння – капсули «Пепонен».

Рис. 1. Схема дизайну дослідження.

По закінченні досліду тварин декапітували під інгаляційним наркозом, вилучали сім'яники, епідідіmus та ПМЗ, зважували їх для подальшого розрахунку коефіцієнтів маси органів (КМ), отримували сироватку крові для проведення біохімічного аналізу. Морфофункціональний стан сперматозоїдів оцінювали за загальноприйнятими показниками: концентрація (К), відносна кількість нерухомих (Н) і патологічних форм сперматозоїдів (П), осмотична і кислотна резистентність (ОР і КР), тривалість руху (ТР). Для дослідження використовували суспензію сперматозоїдів у фізіологічному розчині, вилучену з придатків яєчок (Т. Ф. Бішовець та співавт., 2001)

Тканину сім'яників та простати піддавали гістологічному дослідженню за допомогою світлової мікроскопії. Мікропрепарати органів готували загальноприйнятими методами, зрізи фарбували гематоксиліном та еозином (Г. А. Меркулов, 1969). Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Морфометричну оцінку процесу сперматогенезу проводили за кількісними показниками індексу сперматогенезу, відносної кількості звивистих сім'яних каналців з 12-ю стадією мейозу та зі злуценом сім'яродним епітелієм (С. С. Райцина, 1982).

Рівень андрогенізації організму тварин оцінювали за типом кристалізації секрету вентральної частки простати щурів різних вікових груп (Б. А. Варпанетов, 1975).

Для оцінки функціонального стану простати в сироватці крові визначали активність лужної фосфатази (ЛФ) і кислої фосфатази (КФ) за методом А. Боданського

(В. С. Камышников, 2000). Рівень андрогенізації щурів визначали за фосфатазним індексом (ФІ), який розраховували за формулою: $ФІ = КФ / ЛФ$ (И. Ф. Юнд, 1987).

Для оцінки антиоксидантного статусу щурів при старінні та впливу на нього таблеток «Елгацин» визначали основні компоненти окисно-відновлювального гомеостазу у їх взаємодії: у сироватці крові та біологічному субстраті (сім'яниках та простаті) – вміст ТБК-реактивів (ТБК-Р, А. В. Арутюнян, 2000), каталази (Кат, М. А. Корольок, 1988), церулоплазміну (Цер, В. С. Камышников, 2000). У тканинах сім'яників та простати визначали вміст відновленого глутатіону (ВГ, E. D. Beutler et al., 1963).

Збалансованість процесів у системі ПОЛ/АОС оцінювали за коефіцієнтом балансу ПОЛ/АОС ($K_{ПОЛ/АОС}$), який відображає відношення загальної кількості прооксидантів до загальної кількості антиоксидантів (В. Я. Коган, 1986). Коефіцієнт балансу ПОЛ/АОС розраховували за формулою:

$$(ТБК-Р_{дослід\ddot{u}} / ТБК-Р_{ІК6-міс}) / (ВГ_{дослід\ddot{u}} / ВГ_{ІК6-міс} \times Кат_{дослід\ddot{u}} / Кат_{ІК6-міс} \times Цер_{дослід\ddot{u}} / Цер_{ІК6-міс}).$$

Для оцінки фертильності та плодючості тварин за умови фізіологічного старіння після закінчення курсу таблеток «Елгацин» до самців щурів різного віку підсаджували інтактних самок молодого репродуктивного віку (4 міс.) у стадії проєструсу у співвідношенні 1:3 на період протягом 2 естральних циклів. Факт парування підтверджували визначенням сперматозоїдів у піхвових мазках самок, після чого їх відсаджували у окремі клітки для спостереження за вагітністю та пологамі. Розраховували індекс фертильності (ІФ) – % самок, що мали статевий контакт, відносно загальної кількості самок у стадії проєструсу, що були підсажені до самців, та індекс плодючості (ІП) – співвідношення вагітних самок до тих, які мали статевий контакт. У вагітних самок визначали: тривалість вагітності, розмір приплоду та порушення поведінки під час вагітності та пологів. Всього було отримано 700 щурят, у яких оцінювали фізичний розвиток за загальноприйнятими показниками. Термін спостереження складав 30 днів (період лактації). За щурятами самками спостерігали 60 діб – до моменту відкриття статевої щілини (І. Р. Баріляк та співавт., 2001).

Дослідження гонадопротекторної дії таблеток «Елгацин» у порівнянні з рослинним препаратом «Спеман®» було проведено на моделі гіпофункції сім'яників, яку викликали щоденним підшкірним уведенням 18-місячним щурам серотоніну гідрохлориду (виробництва Sigma, США) у дозі 10 мг/кг протягом 14 діб (Z. Csaba, 1998). Тестування проводили на 15 добу після введення серотоніну. Морфофункціональний стан сперматозоїдів оцінювали за показниками, наведеними вище. Вилучали сім'яники, їх придатки, простату, визначали масу органів з подальшим розрахунком КМ. Для біохімічного дослідження збирали зразки крові: визначали активність ЛФ, КФ та Кат, вміст Цер, ВГ, ТБК-Р.

Дослідження простатопротекторної дії таблеток «Елгацин» було проведено на моделі експериментального простатиту у щурів передстаречого віку (18 міс.) у порівнянні з рослинним препаратом «Пепонен», який викликали прошиванням простати шовковою ниткою на межі між вентральною та дорсолатеральною частинами згідно з методичними рекомендаціями з вивчення простатопротекторних засобів (Л. В. Яковлева та співавт., 2005). Таблетки «Елгацин» вводили протягом 21 доби через 24 години після операції. На 22 добу експерименту у крові щурів визначали кількість лейкоцитів та швидкість зсідання еритроцитів. По закінченні експерименту тварин декапітували під інгаляційним наркозом, видаляли та зважували сім'яники, епідідімуси, сім'яні пухирці та простату, розраховували їх КМ. Для біохімічного дослідження збирали зразки крові: визначали вміст циркулюючих імунних комплексів

(ЦК) (В. В. Меньшиков и соавт., 1987), активність Кат, вміст Цер, ТБК-Р та ВГ. Функціональний стан простати оцінювали за активністю ЛФ та КФ за вищенаведеними методами.

Експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету програм «Statistica, v. 6,0». Значущість відмінностей між експериментальними групами визначали за допомогою параметричних критеріїв Ньюмена-Кейлса і Фішера LSD та непараметричних методів (критерію U Мана-Уїтні та χ^2) при $p < 0,05$. Для визначення кореляційних зв'язків використовували коефіцієнт кореляції Спірмена (А. А. Халафян, 2007).

Результати та їх обговорення. Відповідно до отриманих даних за умови фізіологічного старіння у інтактних щурів відбувається поступове зниження функціональної активності сперматозоїдів: знижується їх загальна кількість та тривалість руху (ТР), підвищується відсоток нерухомих (Н) та патологічних форм (П), знижується кислотна (КР) та осмотична резистентність (ОР) сперматозоїдів. Зрушення більшості досліджуваних показників починається у 20-місячному віці та прогресує у 26-місячних щурів. Результати кореляційного аналізу показали, що найбільш виразні вікові зміни стосуються таких параметрів як відносна кількість нерухомих сперматозоїдів, тривалість руху та резистентність до кислотного середовища – для цих показників встановлено кореляційну залежність середнього ступеня (табл. 1).

Морфометричні дослідження тканини сім'яників показали, що з віком знижується активність сперматогенезу, про що свідчило зниження інтегрального показника – індекса сперматогенезу (ІС) з 3,25 (2,97; 3,31) у 8-місячних тварин до 1,88 (0,0; 3,31) – у 26-місячних щурів. Зниження ІС пов'язано зі зменшенням інтенсивності поділу сперматоцитів II-го порядку, на що вказує зменшення кількості каналців з 12 стадією мейозу ($r = -0,50$), що в свою чергу, призводить до зниження кількості зрілих сперматозоїдів ($r = -0,36$).

Таблиця 1

Вплив таблеток «Елгацин» у дозі 12 мг/кг на вікову динаміку показників функціонального стану сперматозоїдів щурів при 30-денному введенні (n=7; M±m)

Групи тварин	ОР, % NaCl	КР, рН (HCl)	ТР, сек.	П, %
6 місяців				
Інтактний репродуктивний контроль	3,1±0,12	3,6±0,1	411,0±8,7	10,6±1,2
8 місяців				
ІВК	2,92±0,08	4,0±0,2	400,4±9,5	10,8±1,6
Таблетки «Елгацин»	2,95±0,07	3,8±0,1	410,0±6,7	7,8±0,8*
14 місяців				
ІВК	2,95±0,14	4,5±0,2*	415,8±9,0	8,6±1,0
Таблетки «Елгацин»	2,56±0,06**/**	4,4±0,2*	420,8±32,5	9,2±1,6

20 місяців				
ІВК	2,98±0,16	4,6±0,2*/**	331,0±95,3	9,2±1,7
Таблетки «Елгацин»	3,42±0,12*/#	3,9±0,2	386,7±40,2	7,8±1,1
26 місяців				
ІВК	3,23±0,14	5,4±0,6*	261,4±67,5*/**	35,42±16,7*/**
Таблетки «Елгацин»	3,7±0,16**/#	4,8±0,4*	290,7±50,3*/**	18,7±12,7#
г (вік/показник), ІВК	0,22 (p=0,16)	0,49 (p=0,001)	-0,54 (p=0,0002)	0,66 (p=0,0000)
г (вік/показник), таблетки «Елгацин»	0,53 (p=0,003)	0,28 (p=0,076)	-0,53 (p=0,0002)	0,54 (p=0,0002)

Примітка. * – відмінності достовірні щодо значень показників інтактних тварин репродуктивного віку; ** – відмінності достовірні щодо значень показників 8-місячних інтактних тварин; # – відмінності достовірні щодо значень показників інтактних тварин відповідного вікового контролю, p<0,05, за методом Н'юмена-Кейлса; г – коефіцієнт кореляції Спірмена; n – кількість щурів у групі.

Зменшення кількості сім'яних каналців з 12 стадією мейозу опосередковано вказує на зниження синтезу тестостерону в організмі щурів з віком, оскільки відомо, що тестостерон стимулює сперміогенез саме на стадіях мейозу (В. В. Фролькіс, 1992).

Наведені вікові зміни сперміогенезу та функціональних характеристик зрілих сперматозоїдів співпадають зі зниженням андрогенної насиченості організму старіючих щурів, про що свідчили наростаючі з віком порушення кристалізації секрету простати (рис. 2) та посилення проліферації гландулоцитів (рис. 3).

Останнє вказує на активацію компенсаторно-адаптаційних механізмів для збереження повноцінності сперміогенезу, результатом яких є збільшення кількості клітин, що синтезують тестостерон (рис. 3)



Рис. 2. Андрогенна насиченість ПМЗ інтактних та дослідних тварин.

Примітка. * – відмінності достовірні щодо значень показників тварин інтактного репродуктивного контролю (6 міс.), p<0,05.

Увед ення таблеток «Елгацин» щурам різного віку протягом 30 днів сприяло уповільнен ню розвитку вікових					
--	--	--	--	--	--

<p>змін сперміогенезу та морфофункціональних параметрів сперматозоїдів (табл. 1). На відміну від ІВК, у якого зменшення маси сім'яників починалося вже з 14 місяців, під дією таблеток «Елгацин» маса органу протягом онтогенезу залишалася майже на рівні 6-місячних самців і зазнавала значущих змін тільки у 26-місячних тварин.</p> <p>а</p>					
<p>Інтактний репродуктивний контроль (6 міс.) – нормальний стан сперматогенезу (а, x100) та гландулоцитів (б, x400)</p>	<p>ІВК (20 міс). Проліферація клітин Лейдіга (стрілка), порушення сперматогенезу,</p>	<p>Елгацин (20 міс). Проліферація клітин Лейдіга та нормальний стан сперматогенезу, x200</p>	<p>ІВК (26 міс.). Повне припинення сперматогенезу, x100</p>	<p>Елгацин (26 міс.). Поодинокі спустошені каналці на фоні каналців з повноцінним</p>	

	x200			сперматогенезом, x100
--	------	--	--	--------------------------

Рис. 3. Сім'яники інтактних щурів різного віку та на тлі введення таблеток «Елгацин».

Функціональна активність сперматозоїдів у щурів 8–20-місячного віку, які отримували курс таблеток «Елгацин», також зберігалася на рівні 6-місячних тварин. Проте, у інтактних щурів інволюційні зміни функціональної активності сперматозоїдів спостерігали у 20-місячному віці. У 26-місячних щурів, яким вводили таблетки «Елгацин», параметри сперматограми не відрізнялися від таких у контрольних тварин аналогічного віку та, відповідно, були достовірно нижчими ніж у групі інтактних тварин репродуктивного віку (табл. 1). Таким чином, під впливом таблеток «Елгацин» не відбувається повного відновлення функціональної активності сперматозоїдів у старшій віковій групі. Проте, більш пізніші строки настання незворотних змін (не у 20 міс. як у групі ІВК, а значно пізніше – у 26 міс.) свідчать про спроможність таблеток «Елгацин» уповільнювати вікові зміни репродуктивної системи самців.

У старіючих щурів, яким впродовж 30 днів вводили таблетки «Елгацин», підвищувалася андрогенізація організму, про що свідчило як відновлення кристалізації секрету простати (рис. 2), так і компенсаторне збільшення кількості клітин Лейдіга, головних андрогенсекретуючих клітин у сім'яниках (рис. 3). Підвищення андрогенізації у пізньому онтогенезі під впливом таблеток «Елгацин» відіграє важливу роль у регресії вікових змін репродуктивної функції самців. Поліпшення андрогенного фону під впливом таблеток «Елгацин» у старіючих щурів приводить до відновлення процесів сперміогенезу, тобто генеративної функції сім'яників, що напряму позитивно впливає й на масу органу. Це підтверджує коефіцієнт кореляції між віком та масою сім'яників, який у групі інтактних тварин був значно нижчим ($r=-0,39$), ніж у групі тварин, яким впродовж 30 днів вводили таблетки «Елгацин» ($r=0,08$).

Подальші дослідження були спрямовані на визначення тривалості захисної дії досліджуваного засобу. Препарат вводили двократними курсами по 30 днів тваринам у 12-місячному та, повторно, у 15,5-місячному віці. Оскільки таблетки «Елгацин» є поліфенольним засобом з потужними антиоксидантними властивостями (Л. В. Яковлева, Т. С. Сахарова зі співав., 2003-2010) для оцінки виразності його геропротекторної дії, а також визначення її тривалості, застосовували показники, що характеризують стан редокс-процесів на органному та системному рівнях у динаміці старіння тварин. Біохімічна оцінка стану процесів у системі ПОЛ/АОС показала переважання прооксидантних механізмів на тлі виснаження компонентів ферментативного (Кат, Цер) і неферментативного (ВГ) антиоксидантного захисту у крові та статевих органах старіючих щурів. Останнє підтверджується збільшенням коефіцієнту ПОЛ/АОС ($K_{\text{ПОЛ/АОС}}$), який характеризує збалансованість процесів у системі ПОЛ/АОС, у щурів передстаречого (17,5-18,5 міс.) віку у сироватці крові та досліджуваних органах за рахунок зниження спроможності антиоксидантного захисту (рис. 4).

В

Б

А



Рис. 4. Вікова динаміка балансу ПОЛ/АОС у сім'яниках (А), простаті (Б) та сироватці крові (В) інтактних щурів та на тлі введення таблеток «Елгацин».

Примітка. ІВК –інтактний віковий контроль.

Аналіз отриманих даних показав, що динаміка змін досліджуваних показників співвідноситься з віковими змінами гістологічної структури тканин сім'яників та простати (рис. 5).

Істотне порушення як морфоструктури статевих органів, так і балансу у системі ПОЛ/АОС спостерігалися у щурів у 16-17,5-місячному віці, коли найбільш активно відбувається гормональна перебудова старіючого організму (N. Sampson et al., 2010).

Під впливом препарату суттєво уповільнювалися інволюційні зміни морфоструктури статевих органів, зокрема простати (рис.5). За результатами біохімічного та гістологічного аналізів визначено, що тривалість дії препарату зберігається протягом двох місяців. Введення таблеток «Елгацин» самцям у зрілому (12 міс.) та пізньому зрілому віці (15,5 міс.) сприяло збереженню рівноваги у системі ПОЛ/АОС на фізіологічному рівні 6-місячних тварин, що підтверджується даними гістологічного аналізу тканини простати та сім'яників (рис. 5).

6 міс.

13 міс.

15 міс.

16,5 міс.

17,5 міс.

18,5 міс.

Інтактні щурі різного віку

Інтактний репродуктивний контроль (норма)

Збільшення розмірів ацинусів простатичних залоз

Посилення звивистості контурів ацинусів

Виразне збільшення розміру ацинусів простатичних залоз, спад стінок у частини з них, конкременти в просвіті (стрілка), x150

13 mic.

14 міс.

15 міс.

16,5 міс.

17,5 міс.

18,5 міс.

Введення таблеток «Елгацин» у 12 міс. Стан ацинусів простатичних залоз наближається до норми, потоншення епітеліальної висилки. Через два місяці після введення таблеток «Елгацин» з'являються ознаки звивистості ацинусів, що вказує на завершеність дії засобу. x150

Повторне введення таблеток «Елгацин» у 15,5 міс. Колювання у розмірах та звивистості контурів ацинусів простатичних залоз значно менше, ніж у інтактних щурів відповідного віку; відсутність конкрементів у просвіті ацинусів 18,5-місячних щурів. x150

Рис. 5. Вентральна частка передміхурової залози інтактних щурів різного віку та на тлі введення таблеток «Елгацин».

Кінцевими показниками, які відображають функціональний стан репродуктивної системи ссавців взагалі є статева активність та фертильність, що й стало метою наступного етапу дослідження. Оскільки дія таблеток «Елгацин» зберігалася протягом 2 місяців, введення засобу тваринам починали у 12 місяців та повторювали 30-денними курсами через кожні 3 місяці (у 15, 18, 21 і 24 місяці), відповідно тестування тварин проводили у 16, 19, 22 і 25 місяців.

Дослідження загального стану репродуктивної системи старіючих щурів показало поступове зниження фертильності з віком (рис. 6). У 13-місячних самців індекс фертильності знижувався до 63 %, у 16-25-місячних самців – у середньому до 31 % у порівнянні зі 100 % у самців репродуктивного віку. Більш виразних змін при старінні зазнавала здатність до запліднення. Відсоток самиць, що завагітніли від щурів передстаречого віку (19 міс.) був достовірно нижчим за такий у самиць, що завагітніли від самців репродуктивного віку (6 міс.). Щури віком 22 і 25 місяців, незважаючи на збереженість статевої активності, були повністю безплідними: жодна з самиць після спарювання з ними не завагітніла. Поряд зі зниженням фертильності знижувалася й кількість щурят у приплодах, народжених від 16- та 19-місячних самців з груп інтактного вікового контролю (рис.6).



Рис. 6. Вікова динаміка показників статевої активності інтактних щурів самців та на тлі введення таблеток «Елгацин».

Примітка. ІРК – інтактний репродуктивний контроль (6 міс.); ІВК – інтактний віковий контроль.

Повторні курси таблеток «Елгацин» сприяли збереженню як статевої активності, так і фізіологічних параметрів сперми 18-місячних щурів, про що свідчило збільшення індексу фертильності у середньому у 2 рази та індексу плодючості – у 1,8 разу. На репродуктивну функцію тварин старечого віку (22 і 25 міс.) таблетки «Елгацин» суттєво не впливали, проте фертильність у цих тварин була вищою ніж у тварин відповідного вікового контролю у 2 рази. Вагомим доказом підвищення плодючості у 18-місячних тварин є підвищення кількості щурят у приплоді на тлі повторних курсів таблеток «Елгацин» (рис. 6).

Оскільки при старінні відбувається не тільки вгасання репродуктивної функції, але доволі часто спостерігається розвиток вікових патологій сечостатевої системи, метою наступного етапу дослідження стало вивчення ефективності таблеток «Елгацин» за умови гіпофункції сім'яників та експериментального простатиту та порівняння їх ефективності з ПП таблетками «Спеман®» та капсулами «Пепонен».

На моделі гіпофункції сім'яників, викликаній серотоніном гідрохлоридом, показано, що профілактичне введення таблеток «Елгацин» приводило до зменшення виразності запалення, про що свідчило зниження активності ЛФ і КФ, сприяло підвищенню андрогенної насиченості та нормалізації метаболічних процесів, індикатором чого служили показники системи ПОЛ/АОС (табл. 2). Під впливом таблеток «Елгацин» значення досліджуваних показників дорівнювали значенням інтактних тварин.

Таблиця 2

Вплив таблеток «Елгацин» та капсул «Спеман®» на вміст біохімічних показників у сироватці крові 18-місячних щурів, за умови гіпофункції сім'яників, викликаній серотоніном (n=7; M±m)

Показники	Експериментальні групи			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	«Елгацин», 12 мг/кг	«Спеман®», 90 мг/кг
ЛФ, ммоль/год·л	3,48±0,42	9,86±0,89*	4,59±0,59**	4,81±0,41**
КФ, ммоль/год·л	0,83±0,09	0,44±0,08*	0,70±0,11	0,50±0,05*
(КФ/ЛФ)	0,26±0,05	0,05±0,01 *	0,17±0,03 */**	0,12±0,01 */**
ТБК-Р, ммоль/л	0,64±0,09	0,90±0,10*	0,59±0,06**	0,64±0,04**
Цер, г/л	0,28±0,01	0,54±0,02*	0,52±0,02*	0,47±0,04*
ВГ, ммоль/л	4,38±0,21	6,35±0,34*	5,52±0,29*/**/**	6,75±0,21*
Кат, мкат/л	2,32±0,86	5,25±0,70	3,91±0,59	5,40±1,11

Примітка. * – відхилення вірогідне відносно інтактного контролю; ** – відхилення вірогідне відносно контрольної патології; *** – відхилення вірогідне відносно ПП, p<0,05 за критерієм Ньюмена-Кейлса; n – кількість щурів у групі.

На підставі даних літератури про механізми антиоксидантної дії таблеток «Елгацин» можна заключити, що тривале надходження елаготанінів справляє мембраностабілізуючу дію щодо плазматичних мембран тканин простати, сім'яників і клітин ендотелію мікрокапілярів, зменшуючи їх проникність. Певну роль у коригуванні судинної проникності та процесів запалення відіграє доведена антиліпооксигеназна активність елаготанінів (Т. С. Сахарова, 2008). Позитивна динаміка біохімічних показників супроводжувалася відновленням

морфологічних властивостей сперматозоїдів. Ефективність таблеток «Елгацин» на даній моделі у цілому була на рівні препарату порівняння, але за здатністю нормалізувати процеси ПОЛ таблетки «Елгацин» переважали таблетки «Спеман®».

За умови експериментального простатиту профілактично-лікувальне введення антиоксидантного засобу таблеток «Елгацин» практично повністю усувало запально-деструктивні процеси, що виникали внаслідок прошивання простати шовковою ниткою: вміст ЦК знижувався у 1,6 разу, активність ЛФ і КФ – у 1,7 разу у порівнянні з групою контрольної патології, також знижувалася активність процесів ПОЛ, а рівень ВГ наближався до фізіологічного рівня.

Під впливом ПП, капсул «Пепонен», спостерігали аналогічну динаміку змін більшості досліджуваних показників. Результати гістологічного дослідження тканини простати висвітлюють цитопротекторну, регенераторну дію таблеток «Елгацин» та капсул «Пепонен»: усуваючи мембранну дисфункцію досліджувані засоби сприяють відновленню функціональної активності простати в цілому (рис.7).

Підсумовуючи отримані результати можна зробити висновок, що зниження фертильності та здатності до запліднення при старінні є результатом виявленого комплексу патологічних змін репродуктивної системи старіючих щурів: зниження функціональної активності сперматозоїдів та сперміогенезу, порушення морфоструктури простати і сім'яників та зниження андрогенної насиченості. Провідну роль у зниженні запліднюючої здатності сперми старіючих щурів відіграють патологічні процеси ПОЛ. Простежується пряма залежність функціональної активності сперматозоїдів, морфологічного стану сім'яників та простати від збалансованості процесів ПОЛ/АОС. Внаслідок чого у придатки яєчка потрапляють функціонально неповноцінні сперматозоїди, погіршується запліднююча здатність сперми, що призводить до зниження кількості щурят у приплоді щурів передстаречого віку (18 міс.) або повної відсутності потомства у щурів старечого віку (24-26 міс).

б

в

а

г

Рис. 7. Простата щура (18 міс.) з експериментальним простатитом. Стан простатичних залозок вентральної частки простати а – інтактного щура, б – щура з групи контрольної патології, в – щура з групи «Елгацин», г – щура з групи «Пепонен», стан залозок наближений до інтактного контролю. Гематоксилін-еозин. x100.

Таблетки «Елгацин» при профілактичному введенні як однократними, так і багатократними курсами сприяють уповільненню вікових порушень репродуктивної функції самців щурів. Затримка ознак старіння віддзеркалюється збереженням морфоструктури простати та сім'яників, сперміогенезу та функціональної активності сперматозоїдів за рахунок відновлення збалансованості ПОЛ/АОС як на органному, так і системному рівнях.

Виразна ефективність таблеток «Елгацин» на експериментальних патологіях статеві системи пояснюється мембранотропними та антирадикальними властивостями. Тривале надходження елаготанінів в організм щурів сприяє збереженню пулу ферментних і неферментних компонентів АОС, усуває прояви деструкції тканини сім'яників та ПМЗ, детерміновані інтенсифікацією ПОЛ внаслідок впливу пошкоджуючих чинників. Спираючись на власні результати та літературні дані можна припустити, що пригнічення запально-деструктивних процесів у сім'яниках та простаті відбувається не тільки завдяки антирадикальному та мембраностабілізувальному механізму діючих речовин таблеток «Елгацин», але й їх втручанням у ліпооксигеназний шлях продукції лейкотрієнів та здатністю до специфічного пригнічення лейкотрієнзумовлених патологій за вираженістю порівняно з такою флавоноїдного препарату кверцетину (Т. С. Сахарова, Л. В. Яковлева, 2008).

Таким чином, результати вивчення геро- та гонадопротекторних властивостей таблеток «Елгацин», підтверджують доцільність його застосування для корекції вікових змін репродуктивної системи щурів самців.

ВИСНОВКИ

Постаріння населення на сьогодні набуває великого значення для економіки та соціальної політики країн усього світу. Одним з пріоритетних завдань сучасної геронтології є профілактика прискореного старіння та вікових патологій, яка спрямована на збільшення середньої тривалості життя, збереження активного довголіття людини. Вказане обумовлює необхідність пошуку та розробки геропротекторів – препаратів, що здатні поліпшувати генеративну функцію статеві системи та підвищувати якість життя чоловіків у літньому віці.

У дисертаційній роботі наведені науково-експериментальні узагальнення щодо геропротекторної активності та механізму дії таблеток «Елгацин» – оригінального вітчизняного елаготаніновміщуючого засобу. Отримані дані виступають вагомим обґрунтуванням створення геропротекторних лікарських засобів з антиоксидантною дією для профілактики та корекції вікових порушень репродуктивної функції чоловіків.

1. У пізньому онтогенезі у щурів зменшується маса сім'яників, порушуються функціональні параметри сперматогенезу та генеративної функції сім'яників, знижується андрогенна насиченість передміхурової залози. Введення щурам різного віку (6-26 міс.) таблеток «Елгацин» протягом 1 місяця затримує розвиток вікових змін генеративної функції сім'яників та функціональних параметрів сперматозоїдів, що утворюються *de novo*. Найбільш виразно таблетки «Елгацин» чинять вплив на показники вікових змін функціонального стану сперматозоїдів – осмотичну та кислотну резистентність сперматозоїдів, підвищуючи ці показники на 10% у порівнянні з групою відповідного інтактного контролю.

2. Дворазове курсове введення таблеток «Елгацин» по 30 днів щурам у 12 міс. і повторно у 15,5 міс. сприяло збереженню рівноваги за значенням показників ПОЛ/АОС у пізньому онтогенезі як на органному (сім'яники, простата), так і на системному (сироватка крові) рівнях. Динаміка змін окисно-відновлювальних процесів корелює з морфологічними змінами гістоструктури тканин передміхурової залози та сім'яників. При цьому ефективність засобу зберігається протягом двох

місяців після введення. Тому, для підтримки активності репродуктивної системи самців на функціональному рівні оптимальним режимом застосування засобу є 30-денні курси введення через кожні два місяці.

3. Багаторазові повторні курси таблеток «Елгацин» уповільнюють інволютивні зміни репродуктивної функції. У щурів самців 18 міс. фертильність підвищувалася у 2 рази, здатність до запліднення – у 1,8 разу, кількість щурят у приплоді збільшувалася у 1,7 разу, проте здатність щурів самців давати потомство під впливом таблеток «Елгацин» закінчувався у віці 18 місяців як у контрольній, так і у дослідній серіях дослідів. Спираючись на отримані дані та враховуючи поліфенольний склад таблеток «Елгацин» та його виразну антиоксидантну дію, можна заключити, що захисний ефект досліджуваного засобу щодо органів репродуктивної системи – сім'яників та простати, реалізується за рахунок антиоксидантних та мембраностабілізуючих властивостей препарату.

4. Таблетки «Елгацин» виявляють захисну дію при гіпофункції сім'яників щурів, викликаних серотоніном гідрохлориду. Профілактичне введення засобу знижувало виразність запалення за показником ФІ у 3,4 разу у порівнянні з групою контрольної патології, відновлювало баланс у системі ПОЛ/АОС (вміст ТБК-Р знижувався у 1,5 рази, ВГ підвищувався на 13% і Кат зменшувався на 35% у порівнянні з рівнем цих показників у тварин з групи контрольної патології), внаслідок чого нормалізувалися насиченість репродуктивних органів щурів андрогенами та морфо-функціональні параметри сперматозоїдів. За виразністю дії таблетки «Елгацин» не поступалися препарату порівняння таблеткам «Спеман®».

5. На моделі експериментального простатиту визначено простатопротекторну дію засобу. Встановлено, що на тлі введення таблеток «Елгацин» у щурів знижувалася виразність запалення у простаті (активність КФ та ЛФ знижувалася майже в 2 рази у порівнянні з групою контрольної патології), відновлювалася її гістоструктура та нормалізувався баланс у системі ПОЛ/АОС. За виразністю дії таблетки «Елгацин» не поступалися препарату порівняння, капсулам «Пепонен», а за здатністю відновлювати рівновагу процесів ПОЛ/АОС – переважали його.

6. Експериментальне дослідження геропротекторної активності таблеток «Елгацин» виступає вагомим обґрунтуванням подальшого впровадження оригінального вітчизняного лікарського засобу з антиоксидантним механізмом дії у практичну медицину для корекції вікових змін чоловічої репродуктивної системи.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Яковлева Л. В. Експериментальне обґрунтування корекції елгацином гіпофункції сім'яників щурів / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 6 (36). – С. 56–63 (*Особистий внесок: огляд літератури, участь у виконанні експерименту*).

2. Яковлева Л. В. Вивчення ефективності препарату «Елгацин» на експериментальній моделі простатиту, викликаного прошиванням простати / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч. 3 (61). – С. 237–241 (*Особистий внесок: участь у виконанні експерименту, аналіз та узагальнення даних, підготовка статті*).

3. Вплив елгацину на вікові зміни морфоструктури сім'яників та передміхурової залози щурів / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова, Ю. Б. Ларьяновська // Фармаком. – 2014. – № 2. – С. 99–106 (*Особистий внесок: участь у виконанні експерименту, аналіз та узагальнення даних, підготовка статті*).

4. Новые подходы к фармакологической коррекции возрастных изменений репродуктивной функции в эксперименте на животных / Е. А. Егорова, Л. В. Яковлева, Е. Ю. Кошева, Ю. Б. Ларьяновская // Рецепт. – 2014. – № 5 (97). – С. 72–80 (*Особистий внесок: огляд літератури, участь у виконанні експерименту*).

5. Яковлева Л. В. Вплив елгацину на вікові зміни стану red/ox процесів у передміхуровій залозі та сім'яниках щурів за умови фізіологічного старіння / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – № 3 (38). – С. 58–62 (*Особистий внесок: участь у виконанні експериментальної частини, аналіз даних, підготовка статті*).

6. Єгорова О. О. Вплив Елгацину на стан про/антиоксидантних процесів в організмі старіючих щурів за умови експериментальних патологій сечостатевої системи / О. О. Єгорова, Л. В. Яковлева, О. Ю. Кошова // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – № 4 (39). – С. 36–40 (*Особистий внесок: участь у виконанні експерименту, аналіз даних*).

7. Яковлева Л. В. Коррекция возрастных изменений сперматогенеза крыс новым антиоксидантным препаратом «Елгацин» / Л. В. Яковлева, Е. А. Коваль, Е. Ю. Кошева // Человек и лекарство : сб. материалов XVIII Российского нац. конгр., г. Москва, 11–15 апр. 2011 г. – М., 2011. – С. 496–497.

8. Вплив елгацину на репродуктивну функцію самців щурів / Л. В. Яковлева, О. О. Коваль, О. Ю. Кошова, Т. К. Юдкевич // Тези доповідей IV національного з'їзду фармакологів України, м. Київ, 10–12 жовт. 2011 р. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5 (24). – С. 381–382.

9. Єгорова О. О. Визначення впливу елгацину на стан сперматогенезу щурів у динаміці старіння / О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів : матеріали ХХІХ всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 берез. 2012 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2012. – С. 40.

10. Корекція змін передміхурової залози щурів елгацином при старінні / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, Ю. Б. Ларьяновська, О. Ю. Кошова // Проблемы старения и долголетия. – 2012. – Т. 21. Прил. : Ускоренное старение : механизмы, диагностика, профилактика: материалы междунар. науч.-практ. конф., г. Киев, 4–5 окт. 2012 г. – К., 2012. – С. 52–53.

11. Яковлева Л. В. Корекція елгацином патоспермії у щурів, викликаній серотоніном / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова // Хімія природних сполук : матеріали III всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 30–31 жовт. 2012 р. – Тернопіль : «Укрмедкнига», 2012. – С. 99–100.

12. Изучение влияния элгацина на возрастные изменения сперматогенеза у крыс / Л. В. Яковлева, Е. А. Егорова, Ю. Б. Ларьяновская, Е. Ю. Кошева, Е. Я. Горбань // Физиология, медицина, фармакология. Высокие технологии, теория, практика : сб. ст. IV междунар. науч.-практ. конф. «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии, медицине,

фармакології», г. Санкт-Петербург, 15–16 нояб. 2012 г. / под. ред. А. П. Кудинова, Б. В. Крылова. – СПб. : Изд-во Политехн. ун-та, 2012. – Т. 1. – С. 169–171.

13. Яковлева Л. В. Корекція елгацином патологій сечостатевої системи щурів самців / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, О. Ю. Кошова // Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 11–12 квіт. 2013 р. – Х. : Вид-во «ЕСЕН», 2013. – С. 273.

14. Вплив елгацину на морфоструктуру сім'яників щурів різного віку / Л. В. Яковлева, О. Ю. Кошова, О. О. Єгорова, Ю. Б. Лар'яновська // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали V наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27–28 верес. 2013 р. – Тернопіль : «Укрмедкнига», 2013. – С. 406–407.

15. Егорова Е. А. Коррекция антиоксидантным препаратом елгацином возрастных изменений репродуктивной функции крыс самцов / Е. А. Егорова, Е. Ю. Кошова // От лечения к профилактике : от гормонофобии к гормонофилии : материалы VII междунар. конгр. ISSAM, г. Москва, 29 нояб. – 1 дек. 2013 г. – М., 2013. – С. 61.

16. Вплив таблеток «Елгацин» на фертильність самців щурів при старінні / О. О. Єгорова, Л. В. Яковлева, О. Ю. Кошова, Ю. Б. Лар'яновська // Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології : матеріали IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16–17 жовт. 2014 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2014. – С. 114.

17. Кошова О. Ю. Дослідження вікової динаміки фертильності інтактних щурів самців і корекція їх таблетками «Елгацин» / О. Ю. Кошова, Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : матеріали VIII наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 01–02 жовт. 2015 р. – Тернопіль : Вид-во «Вектор», 2015. – С. 41.

18. Яковлева Л. В. Інноваційні підходи до корекції вікових змін репродуктивної функції самців ссавців антиоксидантним засобом на основі елаготанинів / Л. В. Яковлева, О. Ю. Кошова, О. О. Єгорова // Інформ. лист № 91-2015. – Укрмед-патентінформ МОЗ України. – К., 2015. – 4 с.

АНОТАЦІЯ

Єгорова О. О. Фармакологічне вивчення впливу поліфенольного препарату «Елгацин» на вікові зміни репродуктивної системи щурів самців. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05. – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Проведено комплексне дослідження оригінального антиоксидантного засобу з субстрату шишок вільхи сірої та клейкої – таблеток «Елгацин», як коректора репродуктивної функції самців щурів. Встановлено, що таблетки «Елгацин» у дозі 12 мг/кг (1 мг/кг за субстанцією) в умовах фізіологічного старіння та за різних модельних патологій уповільнюють вікові зміни репродуктивної системи самців:

підвищують фертильність та плодючість старіючих щурів, виявляють гонадотропну та простатопротекторну дію, підвищують андрогенну насиченість організму тварин. Під впливом таблеток «Елгацин» кількість щурят у приплоді зберігається на рівні тварин репродуктивного віку. За фізіологічними параметрами розвитку нащадки щурів передстаречого віку не відрізняються від нащадків щурів молодого репродуктивного віку. Визначено виражену лікувальну ефективність таблеток «Елгацин» на експериментальній моделі простатиту, викликаного прошиванням простати та гіпофункції сім'яників, модельованої серотоніном гідрохлоридом. Показано, що тривалість захисної дії таблеток «Елгацин» зберігається протягом двох місяців. Отже, враховуючи вищенаведене, оптимальним режимом застосування антиоксидантного засобу є одномісячні курси через кожні два місяці.

Ключові слова: геропротекторна дія, антиоксиданти, репродуктивна функція самців, елаготаніни, таблетки «Елгацин».

АННОТАЦИЯ

Егорова Е. А. Фармакологическое изучение влияния полифенольного препарата «Элгацин» на возрастные изменения репродуктивной системы крыс самцов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05. – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МОЗ Украины, Харьков, 2016.

Проведено комплексное исследование оригинального антиоксидантного средства из субстрата шишек ольхи серой и клейкой – таблеток «Элгацин», как корректора репродуктивной функции самцов крыс. Установлено, что таблетки «Элгацин» в дозе 12 мг/кг (1мг/кг по субстанции) в условиях физиологического старения и при различных модельных патологиях замедляют развитие возрастных изменений репродуктивной системы самцов крыс.

При изучении динамики морфофункциональных показателей при физиологическом старении в группе интактных животных наблюдали снижение массы семенников, что опосредовано указывает на ухудшение функциональной активности органа, а также нарушение функциональных параметров сперматозоидов. Сдвиг большинства исследуемых показателей начинается в 20-месячном возрасте и прогрессирует у 26-месячных крыс. Введение таблеток «Элгацин» в течение 30 дней крысам разного возраста (12, 18 и 24 мес.) способствовало сохранению сперматогенеза и функциональной активности сперматозоидов, что приводило к восстановлению массы семенников до уровня интактных 6-месячных животных.

Двукратное введение таблеток «Элгацин» курсами по 30 дней самцам в зрелом (12-мес.) и, повторно, в позднем зрелом (15,5 мес.) репродуктивном возрасте способствовало сохранению равновесия в системе ПОЛ/АОС на физиологическом уровне животных репродуктивного возраста на протяжении всего срока наблюдения. Под влиянием препарата значительно замедлялась скорость инволюционных изменений морфоструктуры половых органов: семенников и простаты.

По результатам биохимического и гистологического анализов определено, что продолжительность протекторного действия препарата сохраняется на протяжении

двух месяцев. Наиболее выраженный эффект антиоксидантного средства был выявлен при его повторном введении крысам в позднем зрелом возрасте. Поэтому оптимальным режимом применения препарата с целью поддержания активности репродуктивной системы мужчин на функциональном уровне являются 30-дневные курсы 1 раз через каждые два месяца.

Исследование общего состояния репродуктивной системы стареющих крыс показало, что фертильность или способность к спариванию у самцов крыс на протяжении онтогенеза сохраняется, но с возрастом постепенно снижается.

Повторные многократные курсы введения таблеток «Элгацин» приводят к сохранению фертильности у стареющих крыс. Под влиянием антиоксидантного препарата у крыс предстарческого возраста (18-19 мес.) по сравнению с группами интактного возрастного контроля фертильность повышалась в 2 раза, способность к оплодотворению – в 1,8 раза. Количество крысят в приплоде увеличивалось в 1,7 раза. Однако на плодовитость старых крыс (22-25 мес.) таблетки «Элгацин» влияния не оказывали.

Доказано защитное действие таблеток «Элгацин» при гипофункции семенников крыс, вызванных серотонином гидрохлоридом. Профилактическое введение препарата снижало выраженность воспаления по показателю ФИ в 3,4 раза по сравнению с группой контрольной патологии, восстанавливало баланс в системе ПОЛ/АОС, в результате чего нормализовалась андрогенная насыщенность организма крыс и морфофункциональные параметры сперматозоидов. По выраженности эффекта таблетки «Элгацин» не уступали препарату сравнения таблеткам «Спеман®».

На модели экспериментального простатита показано простатопротекторное действие препарата. Установлено, что на фоне введения таблеток «Элгацин» у крыс снижалась выраженность воспаления в простате (активность КФ та ЩФ снижалась практически в 2 раза по сравнению с группой контрольной патологии), нормализовался баланс в системе ПОЛ/АОС. Положительное влияние таблеток «Элгацин» на структурно-функциональное состояние предстательной железы при экспериментальном простатите подтверждалось результатами гистологического исследования, которое подтверждало цитопротекторное, регенераторное действие препаратов. По выраженности действия таблетки «Элгацин» не уступали препарату сравнения капсулам «Пепонен», а по способности устранять дисбаланс в системе ПОЛ/АОС – превосходили его. Результаты изучения геро- и гонадопротекторных свойств таблеток «Элгацин» подтверждают рациональность его применения для коррекции возрастных изменений репродуктивной системы мужчин.

Экспериментальное исследование фармакологической активности таблеток «Элгацин» выступает патогенетическим обоснованием дальнейшего поиска и создания оригинальных отечественных лекарственных средств для коррекции возрастных изменений репродуктивной системы мужчин с антиоксидантным механизмом действия.

Ключевые слова: геропротекторное действие, антиоксиданты, репродуктивная функция самцов, эллаготанины, таблетки «Элгацин».

SUMMARY

Egorova O. O. Pharmacological study of the effect caused by polyphenolic medicinal drug «Elgacin» to inhibit age-related changes in rat male reproductive systems. – The manuscript.

Ph.D. Thesis in Candidate of Pharmaceutical Sciences at specialty 14.03.05. – pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

Multiple investigation of the innovator antioxidant drug is carried out that is derived from the substrate of speckled alder and European black alder strobules – «Elgacin» tablets as the reproductive function corrector in male rats.

It is established that «Elgacin» tablets in a dose of 12 mg/kg (1 mg/kg by active pharmaceutical ingredient, API) inhibit the age-related changes in the male reproductive system in the course of physiologic aging process and due to various model abnormalities: they increase fertility and fecundity of age-sensitive rats, show gonadotropic and prostate-protective effect, increase androgen abundance in organism. As impacted by «Elgacin» tablets, the number of infant rats in the litter retains to comply the level of that in animals of reproductive age. According to physiological development criteria, the offspring of rats in presenile age does not differ from that of rats in the younger reproductive age. The prominent therapeutic efficiency of «Elgacin» tablets is identified based on the animal model of prostatitis induced by ligation of the prostate gland and hypofunction of the testis modeled by serotonin hydrochloride. It is testified that the length of the shielding effect under the impact of «Elgacin» tablets retains within two months. Thus, in view of the aforesaid, the optimal dosing regimen for the antioxidant drug is a one-month course every two months.

Key words: geroprotective action, antioxidants, male reproductive system, ellagotannins, tablets «Elgacin».