

УДК 616.69-008.64:615.03

**Н.М. Бречка, В.О. Бондаренко, Н.Г. Малова, Є.М. Коренєва,
Г.В. Зайченко,* К.С. Таранова, С.В. Іваннікова, О.В. Андріяненков***

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології
і.м. В.Я. Данилевського АМН України», м. Харків
* Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ КОРЕКЦІЇ ГІПОФУНКЦІЇ СІМ'ЯНИКІВ ПРЕПАРАТОМ ТРИБЕСТАН

Вивчали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів і стану сперматогенезу при моделюванні серотонінового ураження яєчок і корекції патологічного процесу препаратом Трибестан в дозі 60 мг/кг. При застосуванні Трибестану поліпшувалась рухливість здатність статевих клітин, відбувалося відновлення часу збереження рухливості сперміїв і підвищення кількості сперміїв у порівнянні з гонадопатією, викликаною серотоніном. Введення тваринам Трибестану в лікувально-профілактичному режимі на фоні серотоніну гідрохлориду позитивно впливає на показник андрогенної насиченості передміхурової залози експериментальних тварин.

Ключові слова: сперматогенез, гонади, серотонін, Трибестан, андрогенна насиченість.

Проблема чоловічого безпліддя набуває особливої медичної і соціальної значущості, що, насамперед, пов'язане зі збільшенням частоти запальних захворювань, зростанням аномалій розвитку, безконтрольним застосуванням лікарських засобів, гіподинамією, погіршенням психоемоційного стану тощо. Порушення фертильності призводить до зростання кількості безплідних шлюбів, розлучень і погіршення демографічних показників [1, 2].

У зв'язку з цим, а також з метою поліпшення репродуктивного здоров'я чоловіків проводиться пошук засобів корекції порушень генеративної функції та дослідження сполук з новими механізмами гонадопротекторної дії. У цьому випадку з метою активації сперматогенезу (залежно від ступеня вираженості порушень), як правило, застосовується різноманітна терапія: вітаміни групи Е і С, полівітаміни, препарати цинку, засоби, що поліпшують регіональний кровотік (трентал, актовегін); ряд біологічно активних харчових добавок; гонадотропіни (прегнів, профазі, пергонал, меногон); антиестрогени; препарати тестостерону (андріол, провірон) [3]. Останнім часом досить широко використовують препарати із рослинної сировини, які мають комплексну дію. До таких препаратів відноситься

Трибестан, до складу якого входить екстракт лікарської рослини якірці сланки (*Tribulus terrestris*), що містить стероїдні сапоніни фурастанолового типу. Препарат відновлює клітини Лейдига, стимулює сперматогенез, збільшує кількість сперми, підвищує рухливість сперматозоїдів. Це один із лікарських засобів природного походження, що зареєстрований в Україні, у показаннях до застосування якого передбачено лікування первинного і вторинного гіпогонадизму, порушеного сперматогенезу, а саме оліго- та астеноспермії [4]. Однак на сьогодні відсутні дані щодо його впливу на морфофункціональний стан сім'яників при їх безпосередньому первинному ураженні.

Метою дослідження було вивчення показників морфофункціонального стану сперматозоїдів і стану сперматогенезу при моделюванні серотонінового ураження яєчок та корекції патологічного процесу препаратом Трибестан.

Матеріал і методи. Досліди проводили на статевозрілих самцях щурів популяції Вістар з початковою масою 280–350 г. Тварини були розподілені на три групи по 10 щурів у кожній: 1-ша – інтактні щури (контроль); 2-га – тварини з модельованим серотоніновим ураженням яєчок [5]; 3-тя – тварини, яким за три доби до початку введення се-

© Н.М. Бречка, В.О. Бондаренко, Н.Г. Малова та ін., 2011

ротоніну гідрохлориду на тлі введення серотоніну та ще протягом трьох діб після ін'єкцій серотоніну вводили препарат Трибестан виробництва компанії «Sopharma» (Болгарія) в дозі 60 мг/кг. Серотоніну гідрохлорид (Alfa Aesar) вводили протягом 14 діб підшкірно в дозі 5 мг/кг. Дозу референтного зразка розраховували за допомогою коефіцієнта видової стійкості, виходячи з добової дози для людини [6]. Використовували швидку евтаназію щурів на 21-шу добу експерименту, виділяли сім'яники, їх придатки та передміхурову залозу. В суспензії придатків сім'яників оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (кількість, рухливість і патологічні форми) [6]. Сім'яники щурів усіх груп фіксували у 10%-вому розчині формаліну, проводили по спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін [7]. На зрізах, які забарвлювали гематоксилином і еозином, окрім оглядової мікроскопії, проводили морфометричну оцінку процесу сперматогенезу [7]. Визначали рівень андрогенної насиченості організму щурів усіх груп за типом кристалізації секрету передміхурової залози на її відбитках (феномен «листя папороті») [8]. Дослідження проводили відповідно до «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, 1986) [9].

Статистичну обробку цифрових даних проводили параметричними та непараметричними методами з використанням критеріїв Стьюдента та Вілкоксона–Манна–Уїтні [10].

Результати та їх обговорення. Введення лише серотоніну гідрохлориду (2-га група) призвело до ураження сперматогенезу (табл. 1), коли відбувалося суттєве змен-

шення кількості сперматозоїдів, їх рухливості, часу рухливості, зростання кількості патологічно змінених форм сперміїв.

У той же час у тварин, яким вводили Трибестан (3-тя група), у порівнянні з щурами з серотоніновим ураженням яєчок, яким Трибестан не вводили, відзначається підвищення кількості сперміїв на 50 %, нормалізація показників рухливості та кількості морфологічно аномальних форм сперматозоїдів. Рухлива здатність статевих клітин підвищувалася на 75 %, відбувалося відновлення часу збереження рухливості сперміїв (на 67 %) у порівнянні з гонадопатією, викликаною серотоніном, але без введення Трибестану.

Поліпшення кількісних параметрів спермограми у щурів, які отримували Трибестан, може бути зумовлено стимуляцією продукції тестостерону [4].

Також це може відбуватися завдяки тому, що в препараті Трибестан містяться фурастанолові сполуки, які впливають на енергетичні ланки загального метаболізму і відновлюють стан сперміїв, порушений введенням серотоніну гідрохлориду [11]. Надлишок серотоніну негативно впливає на статеві клітини. Він порушує функціональний стан сперматозоїдів: збільшує кількість патологічних форм, зменшує час рухливості, активність сперматозоїдів, концентрацію сперматозоїдів.

При гістологічному дослідженні яєчок контрольних щурів виявлено, що морфометричні параметри сперматогенезу в них відповідали фізіологічній нормі [12].

Кількісні показники процесу сперматогенезу після введення препарату Трибестан вірогідно поліпшилися порівняно з такими без його застосування, а деякі зрівнялися з показниками контролю. Так, повністю відновилися кількість нормальних сперматогоній у каналцях. Внаслідок цього значно більше сперматоцитів 2-го порядку змогло

Таблиця 1. Вплив препарату Трибестан на морфофункціональні показники сперматозоїдів у щурів ($n=10$) з гонадопатією, викликаною серотоніном ($X \pm Sx$)

| Група тварин | Кількість сперміїв, млн/мл | Патологічні форми, % | Рухомі спермії, % | Час збереження рухливості, хв |
|-----------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Контроль | 52,42±3,93 | 21,86±1,97 | 81,86±3,48 | 187,86±12,10 |
| Уведення серотоніну | 25,85±2,42* | 35,14±4,54* | 39,57±8,17* | 115,71±6,81* |
| Серотонін + Трибестан | 38,86±4,24* | 24,86±4,39 [#] | 69,43±6,65 [#] | 192,86±12,10 [#] |

Примітка. $p < 0,05$; * достовірно відносно показника контрольних тварин; [#] відносно показника тварин з введенням серотоніну без Трибестану.

Тут і в табл. 2.

вступити в поділ – зросла кількість каналців з 12-ю стадією мейозу (в 3,71 раза). Індекс сперматогенезу збільшився майже у 3 рази, хоча і не досяг рівня інтактних тварин (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив Трибестану на кількісні показники процесу сперматогенезу у щурів, яким вводили серотоніну гідрохлорид

| Група тварин | Кількість сперматогоній у каналці | Кількість каналців з 12-ю стадією мейозу, % | Кількість каналців зі злущеним епітелієм, % | Індекс сперматогенезу, балів |
|-----------------------|-----------------------------------|---|---|--------------------------------|
| Контроль | 57,120±1,005 | 5,00 (4–6) | 0,57 (0–3) | 3,36 (3,28–3,44) |
| Уведення серотоніну | 13,21±6,03* | 1,00 (0–7)* | 0,43 (3–11) | 0,99 (0,36–2,76)* |
| Серотонін + Трибестан | 53,56±1,55 [#] | 3,71 (2–5) [#] | 1,43 (0–4) | 2,82 (1,28–3,34)* [#] |

Серотонін викликає спазм судин, порушення трофіки, пригнічення підтримуючих клітин, що уповільнює диференціювання статевих клітин і викликає порушення структури яєчок. Внаслідок зниження резерву сперміогенезу (диференціювання сперматидів у сперматозоїди) зменшується індекс сперматогенезу, а отже, концентрація сперматозоонів. Уведення тваринам Трибестану на фоні дії серотоніну гідрохлориду позитивно вплинуло на стан сім'яників більшої частини самців щурів цієї групи (5 з 7). У сім'яних каналцях переважала нормальна за шириною, організацією та повнотою спектра пулу статевих клітин стрічка сперматогенного епітелію (рис. 1). У той же час у частині каналців спостерігали різне за виразністю злущення статевих клітин, невеликі ділянки дезорганізації епітелію. Можливо, це пов'язано з тим, що активним компонентом препарату Трибестан є якрці слан-

ки, які впливають на трофіку яєчок шляхом активації клітин Лейдіга та опосередкованої стимуляції клітин Сертолі [4].

Серотонін справляє пригнічуючу дію на гормональну функцію яєчок і андрогенний

статус організму (поодинокі нетипові кристали на фоні аморфної маси). Отже, андрогенна насиченість організму щурів після профілактично-лікувального введення Трибестану покращилася, хоча рівень її варіював у різних тварин (нормальний малюнок феномену «листя папороті»). В цілому по групі виявлена лише тенденція до підвищення її порівняно з тваринами, яким Трибестан не вводили (кристалізація секрету передміхурової залози становила 2,51 бала, рис. 2).

Отже, введення в лікувально-профілактичному режимі препарату Трибестан позитивно впливає на стан репродуктивної системи при моделюванні серотонінового ураження яєчок.

Висновки

1. Тривале введення серотоніну гідрохлориду призводить до патологічних змін у

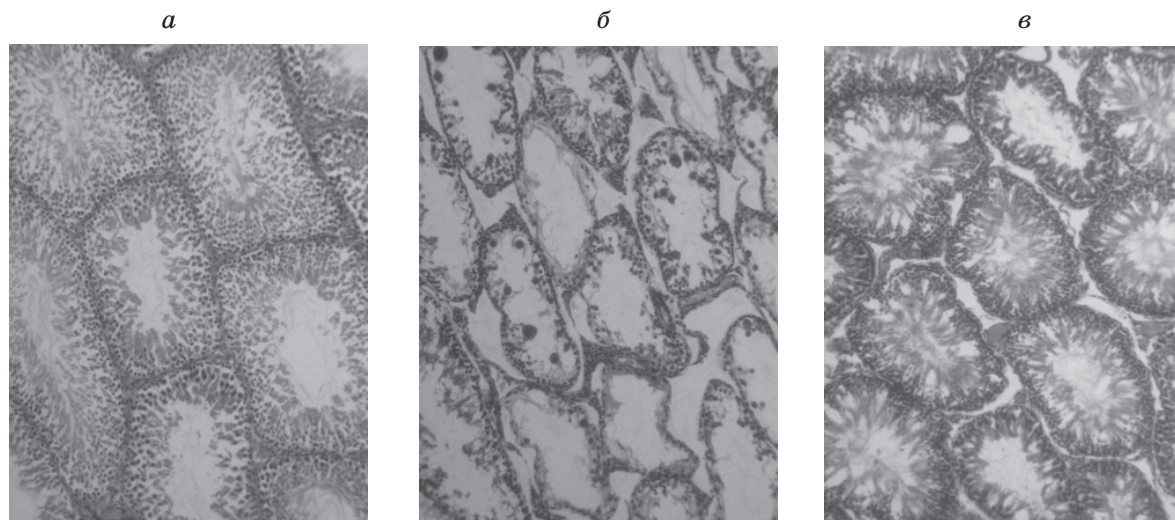


Рис. 1. Мікроструктура сім'яників самців щурів. Забарвлення гематоксилін-еозином, ×100: а – інтактні; б – після введення серотоніну гідрохлориду; в – після введення Трибестану на фоні дії серотоніну

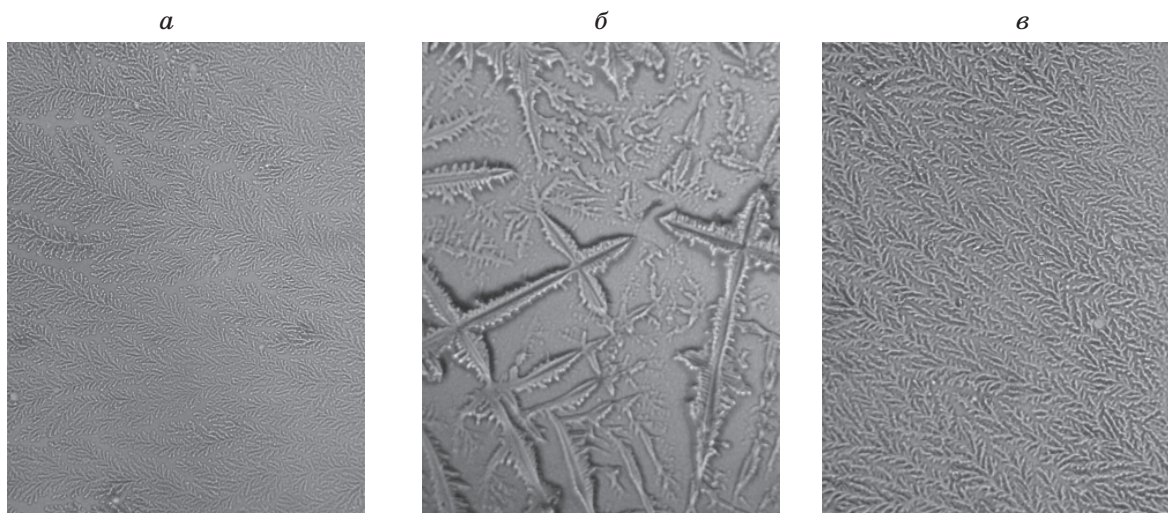


Рис. 2. Кристалічна структура секрету передміхурової залози щурів, $\times 200$:
 а – інтактні щури – типовий феномен «листя папороті»; б – після введення серотоніну гідрохлориду;
 в – після введення Трибестану на фоні серотоніну

тканині сім'яників, деструкції сім'яних каналців різного ступеня, дистрофії та загибелі статевих клітин, порушення мітозу і зниження показників спермограми.

При застосуванні препарату Трибестан поліпшується рухливість статевих клітин, відновлюється час збереження рухливості сперміїв та підвищується кількість сперміїв у порівнянні з гонадопатією, викликаного серотоніном, без уведення Трибестану

Введення тваринам Трибестану на фоні дії серотоніну гідрохлориду позитивно впливає на показник андрогенної насиченості передміхурової залози експериментальних тварин.

Перспективи подальших досліджень полягають в необхідності дослідження рівнів статевих гормонів в крові при застосуванні Трибестану на тлі експериментальної патології яєчок.

Список літератури

1. Лечение экскреторно-токсического бесплодия, вызванного хламидийной инфекцией / В. Н. Лесовой, А. В. Аркатов, А. В. Книгавко, Н. С. Пономаренко // Здоровье мужчины. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 129–132.
2. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / под ред. В. И. Кулакова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 616 с.
3. Калинченко С. Ю. Практическая андрология / С. Ю. Калинченко, И. А. Тюзиков. – М.: Практ. медицина, 2009. – 399 с.
4. Горпинченко И. И. Исследование эффективности препарата Трибестан в лечении больных с эректильной дисфункцией / И. И. Горпинченко, А. Ю. Гурженко // Здоровье мужчины. – 2008. – № 8. – С. 89–94.
5. Бутенко І. Г. Корекція препаратами йохімбе-генез та йохімбе-гармонія порушень сперматогенезу у щурів, викликаних серотоніном / І. Г. Бутенко, Ю. Б. Лар'яновська // Експерим. та клін. медицина. – 2000. – № 3. – С. 18–21.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. О.В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
7. Меркулов Г. А. Курс патолого-гистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд., 1969. – 424 с.
8. Вартапетов Б. А. Предстательная железа и возрастные нарушения половой деятельности / Б. А. Вартапетов, А. Н. Демченко. – К.: Здоров'я, 1975. – 214 с.
9. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
10. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов: руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Ремедиум, 2000. – С. 349–454.
11. Горпинченко И. И. Применение препарата Трибестан в андрологической практике / И. И. Горпинченко, А. Ю. Гурженко // Здоровье мужчины. – 2010. – № 1. – С. 28–32.

12. Райцина С. С. Современные проблемы сперматогенеза / С. С. Райцина. – М.: Медицина, 1982. – С. 73–107.

Н.М. Бречка, В.А. Бондаренко, Н.Г. Малова, Е.М. Коренева, А.В. Зайченко, К.С. Таранова, С.В. Иванникова, О.В. Андрияненок

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ ГИПОФУНКЦИИ СЕМЕННИКОВ
ПРЕПАРАТОМ ТРИБЕСТАН**

Изучали показатели морфофункционального состояния сперматозоидов и состояние сперматогенеза при моделировании серотонинового поражения яичек и коррекции патологического процесса препаратом Трибестан в дозе 60 мг/кг. При применении Трибестана улучшалась подвижная способность половых клеток, происходило восстановление времени сохранения подвижности спермиев и повышение количества спермиев по сравнению с гонадопатией, вызванной серотином. Введение животным Трибестана в лечебно-профилактическом режиме на фоне серотонина гидрохлорида положительно влияет на показатель андрогенной насыщенности предстательной железы экспериментальных животных.

Ключевые слова: сперматогенез, гонады, серотонин, Трибестан, андрогенная насыщенность.

N.M. Brechka, V.A. Bondarenko, N.G. Malova, E.M. Koreneva, A.V. Zajchenko, E.S. Taranova, S.V. Ivannikova, A.V. Andriyanenkov

**EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF CORRECTION OF THE HYPOACTIVITY TESTICLES
BY TRIBESTAN PREPARATION**

Studied indicators of a morphological and functional state of spermatozoons and a spermatogenesis state at modelling of a lesion of testicles by hydrochloride of serotonin and correction of pathological process de Tribestan in a dose of 60 mg/kg. It is established, that at Tribestan application motility of sex cells was enriched, there was a restoration of time of conservation of motility of spermatozoons and the quantity of spermatozoons in comparison with the pathology of gonads invoked by a serotonin raised. Introduction by an animal of a Tribestan in a treatment-and-prophylactic regimen against a hydrochloride serotonin positively influences on indicators of an androgenic saturation of a prostate gland of experimental animals.

Key words: spermatogenesis, gonads, serotonin, Tribestan, androgenic saturation.

Поступила 31.08.10