

УДК 616.692:612.014.482:615.256.4:616-08

*Н.М. Бречка, В.О. Бондаренко, Є.М. Коренєва, Г.В. Зайченко\*,  
Н.Г. Малова, С.С. Ричкова, О.В. Андріяненко\*, М.О. Бойко  
ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського  
НАМН України», м. Харків  
\*Національний фармацевтичний університет МОЗ України, м. Харків*

## **КОРЕКЦІЯ ГІПОФУНКЦІЇ СІМ'ЯНИКІВ ХОНДРОЇТИНСУЛЬФАТОМ**

Вивчали лікувально-профілактичну дію хондроїтинсульфату в дозі 60 мг/кг при експериментальній гонадопатії, яку викликали введенням шурам-самцям серотоніну гідрохлориду. Встановлено, що застосування хондроїтинсульфату сприяло покращенню функціонального стану сперматозоїдів, відновленню морфоструктури гонад, нормалізації сперматогенезу та підвищенню рівня андрогенізації передміхурової залози тварин. За показниками гонадопротекторної активності хондроїтинсульфат не поступався лікувальній дії препарату порівняння трибестану.

**Ключові слова:** *сперматогенез, гонади, серотоніну гідрохлорид, хондроїтинсульфат.*

Загальне зниження рівня здоров'я, старіння чоловічого населення, несприятливі екологічні, кліматичні та економічні умови проживання стали вирішальними факторами погіршення репродуктивного та сексуального здоров'я чоловіків у світі, не виключаючи й Україну [1, 2].

Проблема чоловічого безпліддя пов'язана насамперед зі збільшенням частоти запальних захворювань, зростанням аномалій розвитку, неконтрольним застосуванням лікарських засобів, гіподинамією, погіршенням психоемоційного стану, що в цілому призводить до порушення фертильності, зростання безплідних шлюбів, розлучень і погіршення демографічних показників [3].

У зв'язку з цим проводяться дослідження, які спрямовані на вивчення можливих причин порушення репродуктивної функції людини і розробку методів корекції гіпофертильності [2, 3]. З'являються роботи, в яких зазначена доцільність використання лікарських засобів, що містять глікозаміноглікани, в терапії різних захворювань. Серед них препарат Пентосан полісульфат SP 54 – напівсинтетичний глікозаміноглікан. За даними рандомізованих клінічних випробувань, пентосан є ефективним при лікуванні простатиту [4]. Препарати, що містять глікозаміноглікани, показані в те-

рапії циститів і деяких видів безпліддя (позитивно впливають на стан сперматогенезу). Крім того, доведено, що протеогліканам належить важлива роль в регуляції функціонування сім'яників і синтезі тестостерону клітинами Лейдига [4–7].

Слід зазначити, що поверхня сперматозоїдів покрита глікокаліксом, до складу якого входять оліго- та дисахариди, які зазнають модифікації під час запліднення. Перерозподіл глікокон'югатів на поверхні сперматозоїдів здійснюється впродовж сперматогенезу у звивистих сім'яних каналцях, при проходженні сім'явивідними шляхами, а також після еякуляції безпосередньо у статевих шляхах жінки. Сперматозоїди з порушеною структурою поверхневих глікокон'югатів розпізнаються імункомпетентними клітинами статевих шляхів жінки, знищуються та елімінуються [8].

Хондроїтинсульфати є високомолекулярними мукополісахаридами, глікозаміногліканами та використовуються в організмі при синтезі протеогліканів у сполучній тканині. Метою нашого дослідження було вивчення показників морфофункціонального стану сперматозоїдів і сперматогенезу при моделюванні серотонінового ураження яєчок та корекції патологічного процесу хондроїтинсульфатом.

© Н.М. Бречка, В.О. Бондаренко, Є.М. Коренєва та ін., 2012

**Матеріал і методи.** Дослідження проведено на дорослих самцях щурів популяції Вістар з масою тіла 280–350 г. Тварини були розподілені на чотири групи: 1-ша – інтактні щури; 2-га – експериментальна патологія, тварини з модельованим серотоніновим ураженням яєчок; 3-тя – тварини, яким за три доби до початку введення та протягом трьох діб після останньої ін'єкції серотоніну гідрохлориду вводили хондроїтинсульфат (Sigma, США) в дозі 60 мг/кг, 4-та – тварини, яким за три доби до початку введення та протягом трьох діб після останньої ін'єкції серотоніну гідрохлориду вводили референтний препарат Трибестан у дозі 60 мг/кг. Серотоніну гідрохлорид (Alfa Aesar) вводили 14 діб підшкірно в дозі 5 мг/кг [6]. Препарат Трибестан виробництва компанії Sopharma (Болгарія) було обрано препаратом порівняння. До його складу входить екстракт якрців сланких (*Tribulus terrestris*), що містять стероїдні сапоніни фурастанолового типу. Препарат відновлює клітини Лейдига, стимулює сперматогенез, збільшує кількість сперми, підвищує рухливість сперматозоїдів. Це один з небагатьох лікарських засобів природного походження, що зареєстровані в Україні, у показаннях до застосування якого передбачено лікування первинного і вторинного гіпогонадізму, порушень сперматогенезу, а саме оліго- й астеноспермії [9]. Дози препаратів розраховували за допомогою коефіцієнта видової стійкості [10].

На 21-шу добу експерименту після швидкої евтаназії виділяли сім'яники, їх придатки та передміхурову залозу. В суспензії придатків сім'яників оцінювали кількість, рухливість і патологічні форми сперматозоїдів [10]. Для

морфологічного дослідження сім'яники фіксували в 10%-вому розчині формаліну, заливали у целоїдин-парафін [11]. На зрізах, які забарвлювали гематоксилином і еозином, окрім оглядової мікроскопії, проводили морфометричну оцінку процесу сперматогенезу [7].

Об'єктом дослідження стало також визначення рівня андрогенної насиченості організму за типом кристалізації секрету передміхурової залози на її відбитках (феномен «листя папороті») [12].

Дослідження проводилися відповідно до етичних принципів експериментів на тваринах [13]. Статистичну обробку цифрових даних проводили параметричними та непараметричними методами з використанням критеріїв Стьюдента, Вілкоксона–Манна–Уїтні [14].

**Результати та їх обговорення.** Введення серотоніну гідрохлориду супроводжувалося виразною гонадотоксичністю та призводило до пригнічення сперматогенезу (табл. 1), суттєвого зменшення кількості сперматозоїдів, їх рухливості, зростання патологічно змінених форм сперміїв. У той же час у групі тварин, яким вводили референтний препарат Трибестан, на відміну від щурів групи патології відзначалося підвищення кількості сперміїв на 50 %, нормалізація показників рухливості та зменшення кількості морфологічно аномальних форм сперматозоїдів.

Введення хондроїтинсульфату приводило до нормалізації спермограми. Кількість сперміїв збільшилася на 72 %, рухливість статевих клітин відновила на 82 %, час збереження їх рухливої активності виріс майже вдвічі порівняно з активністю самців групи контрольної патології. Нормалізація парамет-

Таблиця 1. Вплив хондроїтинсульфату і трибестану на морфофункціональні показники сперматозоїдів у щурів з гонадопатією, що викликана серотоніном ( $\bar{X} \pm Sx$ )

Показник сперматозоїдів	Групи тварин (n=10)			
	інтактний контроль	контрольна патологія (серотоніну гідрохлорид)	серотоніну гідрохлорид + хондроїтинсульфат	серотоніну гідрохлорид + трибестан
Кількість сперміїв, млн/мл	52,42±3,93	25,85±2,42*	44,57±5,60*	38,86±4,24*
Патологічні форми, %	21,86±1,97	35,14±4,54*	23,00±3,48 <sup>#</sup>	24,86±4,39 <sup>#</sup>
Рухомі спермії, %	81,86±3,48	39,57±8,17*	72,14±7,87 <sup>#</sup>	69,43±6,65 <sup>#</sup>
Час збереження рухливості, хв	187,86±12,1	115,71±6,81*	212,86±8,32 <sup>#</sup>	192,86±12,1 <sup>#</sup>

Примітка.  $p < 0,05$ ; \* у порівнянні з інтактним контролем; <sup>#</sup> у порівнянні з групою контрольної патології.

рів спермограми щурів після введення хондроїтинсульфату може бути пояснена відновленням міжклітинних взаємовідношень і структурних компонентів мембран, трофічної та антиоксидантної функції сполучної тканини, стимуляцією регенераційних процесів, підвищенням захисних властивостей тестикулярної тканини та ендотелію судин гонад [6]. Глікозаміногліканам, до складу яких входить хондроїтин, належить важлива роль в регуляції функціонування сім'яників і синтезі тестостерону клітинами Лейдига [5].

При гістологічному дослідженні яєчок інтактних щурів виявлено, що морфометричні параметри сперматогенезу (табл. 2) відповідали фізіологічній нормі для цих тварин [7]. Кількісні показники сперматогенезу після введення трибестану покращувалися порівняно з показниками самців групи контрольної патології, а деякі навіть дорівнювали показникам щурів групи інтактного контролю.

уповільнювало диференціювання статевих клітин і викликало порушення морфоструктури яєчок. Внаслідок зниження резерву сперміогенезу (диференціювання сперматид у сперматозоїди) зменшувався індекс сперматогенезу, знижувалася кількість сперматозоонів. Введення трибестану на фоні серотоніну гідрохлориду позитивно вплинуло на стан сім'яників більшості щурів цієї групи. У сім'яних каналцях переважала нормальна за шириною, організацією та повнотою спектра пулу статевих клітин стрічка сперматогенного епітелію (рис. 1). Проте в частині каналців спостерігалось різне за виразністю злушення статевих клітин, невеликі ділянки дезорганізації епітелію. Можливо, тому, що активним компонентом трибестану є якірці сланки, які позитивно впливали на трофіку яєчок шляхом активації клітин Лейдига та опосередкованої стимуляції клітин Сертолі [9].

Таблиця 2. Вплив хондроїтинсульфату і трибестану на кількісні показники сперматогенезу у щурів з гонадопатією, що викликана серотоніном

Показник сперматозоїдів	Групи тварин (n=10)			
	інтактний контроль	контрольна патологія (серотоніну гідрохлорид)	серотоніну гідрохлорид + хондроїтинсульфат	серотоніну гідрохлорид + трибестан
Кількість сперматогоній у каналці (X±Sx)	57,12±1,005	13,21±6,03*	56,59±1,22 <sup>#</sup>	53,56±1,55 <sup>#</sup>
Кількість каналців з 12-ю стадією мейозу	5,0 (4–6)	1,0 (0–7)*	5,57 (4–7) <sup>#^</sup>	3,71 (2–5) <sup>#</sup>
Кількість каналців зі злушенням епітелієм	0,57 (0–3)	0,43 (3–11)	0,86 (0–3)	1,43 (0–4)
Індекс сперматогенезу, бали	3,36 (3,28–3,44)	0,99 (0,36–2,76)*	2,99 (3,25–3,3) <sup>#</sup>	2,82 (1,28–3,34) <sup>#</sup>

Примітка. p<0,05; \* у порівнянні з інтактним контролем; <sup>#</sup> у порівнянні з групою контрольної патології; <sup>^</sup> у порівнянні з групою, що отримувала трибестан.

Так, повністю відновлювалася кількість нормальних сперматогоній у каналцях. Внаслідок цього значно більше сперматозитів 2-го порядку змогли вступити в процеси поділу – зросла кількість каналців з 12-ю стадією мейозу (у 3,71 раза). Індекс сперматогенезу збільшився майже у 3 рази, хоча так і не досяг рівня показників тварин групи інтактного контролю.

Введення серотоніну гідрохлориду викликало спазм судин, порушення трофіки гонад, у тому числі підтримуючих клітин, що

Введення хондроїтинсульфату на фоні серотоніну гідрохлориду позитивно вплинуло на морфологічний стан сім'яників. У сім'яних каналцях сперматогенний епітелій представлений у повному обсязі, у вигляді широкої стрічки. Підтримуючі клітини не зазнавали патологічних змін. Статеві клітини розташовувалися упорядковано, розмір каналців був нормальний, вони щільно розміщувалися один біля одного (рис. 1). Процес сперматогенезу простежувався повністю аж до зрілих сперматозоїдів, наявність залиш-

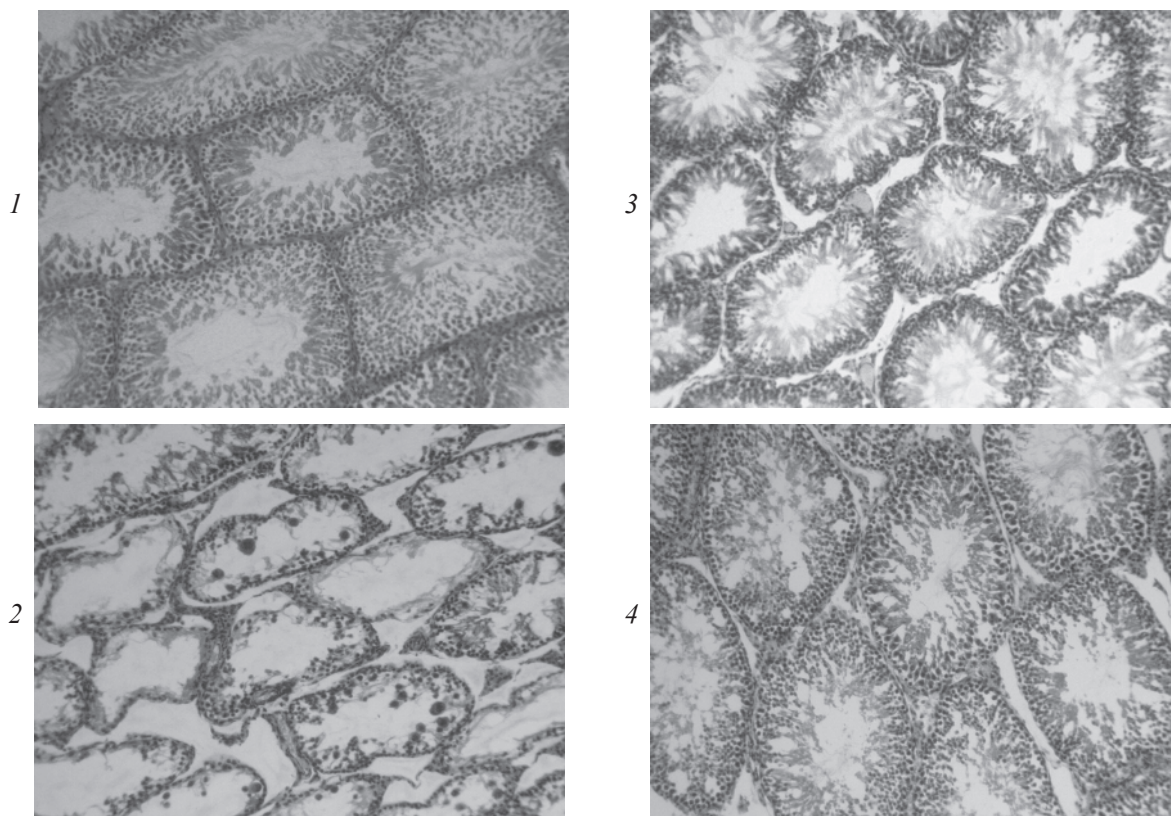


Рис. 1. Мікрофото сім'яників самців щурів:

1 – інтактні – нормальний розмір сім'яних канальців, статеві клітини подані у повному обсязі; 2 – після введення серотоніну гідрохлориду – спустошення сім'яних канальців, зменшення їх розміру, розширення міжканальцевого простору; 3 – після введення трибестану на фоні серотоніну гідрохлориду – сім'яні канальці не змінені, стрічка сперматогенного епітелію нормальна за шириною та представленістю статевими клітинами, відновлення нормального стану тестикулярної тканини; 4 – після введення хондротинсульфату на фоні серотоніну гідрохлориду, відновлення нормально-го стану тестикулярної тканини. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 100$

кових тілець у проясненні канальців була на рівні такої у тварин інтактного контролю. Морфологічна характеристика гландулоцитів у всіх цих самців практично співпадала з такою у здорових самців. Кількісні параметри сперматогенезу після введення хондротинсульфату покращилися порівняно з показниками самців групи контрольної патології, а деякі з них дорівнювали показникам інтактних тварин. Повністю відновилися кількість сперматогоній у канальцях. Значно більше сперматоцитів 2-го порядку змогли вступити у процеси поділу – у 5,57 раза зросла кількість канальців з 12-ю стадією мейозу. Індекс сперматогенезу виріс у 3 рази, хоча і не нормалізувався (табл. 2).

Андрогенна насиченість організму цих щурів також підвищилася порівняно з такою щурів групи контрольної патології, але була

вірогідно нижче, ніж у тварин інтактної групи. Тип структури кристалізації секрету передміхурової залози у самців цієї групи оцінювався у 2,82 бала (рис. 2). Під впливом серотоніну гідрохлориду спостерігали пригнічення гормональної функції яєчок і погіршення андрогенного статусу тварин. Після профілактично-лікувального введення трибестану андрогенна насиченість організму щурів покращилася, хоча рівень її варіював у різних тварин. У цілому в даній групі самців виявлялася лише тенденція до підвищення андрогенізації на відміну від тварин групи контрольної патології, ступінь кристалізації секрету передміхурової залози становив 2,51 бала (рис. 2).

Отже, при моделюванні експериментальної гонадопатії довготривале введення серотоніну гідрохлориду призводить до виник-

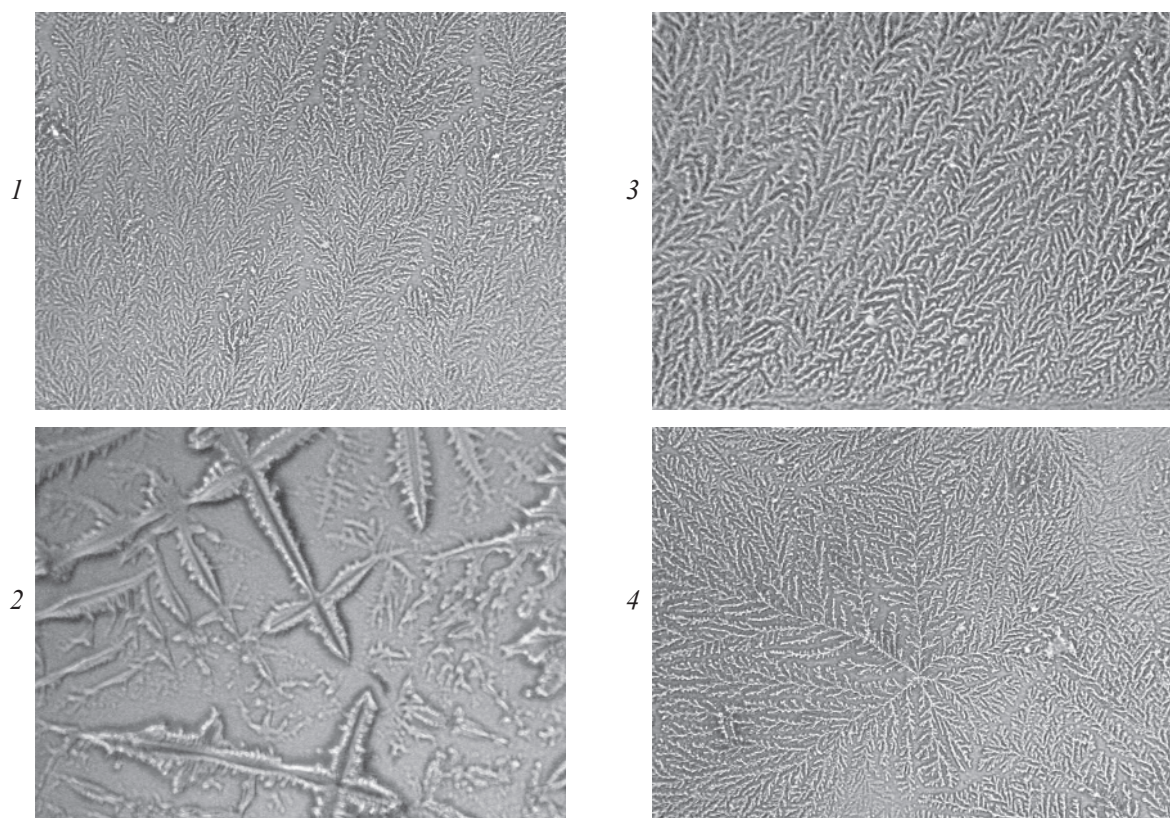


Рис. 2. Мікроструктура відбитків секрету передміхурової залози щурів за типом кристалізації,  $\times 200$ : 1 – інтактні – типовий феномен «листя папороті», андрогенна насиченість організму нормальна; 2 – після введення серотоніну гідрохлориду – поодинокі нетипові кристали на фоні аморфної маси, андрогенна насиченість організму знижена; 3 – після введення трибестану на фоні серотоніну гідрохлориду – нормальний малюнок феномену «листя папороті», нормальна андрогенна насиченість організму; 4 – після введення хондроїтинсульфату на фоні серотоніну гідрохлориду: нормальний малюнок феномену «листя папороті», нормальна андрогенна насиченість організму

нення у тестикулярній тканині сім'яників патологічних змін, які характеризуються різним ступенем деструкції сім'яних каналців, дистрофією та загибеллю статевих клітин. Ймовірно, наслідки цього вазоспазму пов'язані з порушенням трофіки, у першу чергу підтримуючих клітин, бо саме вони забезпечують живлення статевих клітин [6]. Різний ступінь тяжкості патології можна пояснити неоднаковою чутливістю різних щурів до серотоніну гідрохлориду. Патологічні зміни тестикулярної тканини супроводжуються пригніченням процесу сперматогенезу: зниженням чисельності стовбурових клітин (сперматогоній), затримкою диференціювання статевих клітин, внаслідок чого знижується індекс сперматогенезу. При даній патології знижується і рівень андрогенної насиченості організму тварин, що, очевидно, пов'язано зі змінами у синтезі стероїдогенезу в гландулоцитах [5–6].

Застосування хондроїтинсульфату в умовах серотонінового спазму позитивно впливає на якісний стан тестикулярної тканини щурів, підвищує резистентність підтримуючих клітин, поліпшує живлення статевих клітин, знижує процеси дистрофії і деструкції статевих клітин в період їхнього росту і диференціювання, внаслідок чого збільшується резерв сперміогенезу, підвищується індекс сперматогенезу, підвищується концентрація сперматозоїдів. Самі сперматозоїди функціонально більш повноцінні. Більш повноцінні в морфологічному плані гландулоцити, і, як наслідок, збільшується андрогенна насиченість організму.

### Висновки

1. Моделювання експериментальної гонадопатії введенням серотоніну гідрохлориду призводить до виникнення в тестикулярній

тканині сім'яників патологічних змін, деструкції сім'яних каналців, дистрофії та загибелі статевих клітин, погіршення показників спермограми, зниження андрогенної насиченості організму шурів.

2. Лікувально-профілактичне введення хондроїтинсульфату самцям шурів на фоні серотонінового ураження яєчок приводить до

покращення функціонального стану сперматозоїдів, відновлення морфоструктури гонад і сперматогенезу, підвищення рівня андрогенізації.

3. За показниками гонадопротекторної дії хондроїтинсульфат не поступається препарату порівняння Трибестан і може розглядатися як перспективний коректор гонадопатій.

### Список літератури

1. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / под ред. Э. Нишлага, Г. М. Бере; пер. с англ. – М. : Мед. информ. агентство, 2005. – 504 с.
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. Pentosan polysulfate protects brain endothelial cells against bacterial lipopolysaccharide-induced damages / S. Veszelka, M. Pásztoi, A. E. Farkas [et al.] // *Neurochem Int.* – 2007. – 50 (1). – P. 219–228.
5. *Grudet N.* Role of proteoglycans on testosterone synthesis by purified Leydig cells from immature and mature rats / N. Grudet, P. J. Bonnamy, D. Le Goff // *J. Steroid Biochem Mol. Biol.* – 1999. – № 68 (3–4). – P. 153–162.
6. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на сперматогенез шурів при його порушенні серотоніном / Г. В. Зайченко, Л. В. Яковлева, І. Г. Бутенко, Ю. Б. Лар'яновська // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2008. – № 1–3. – С. 74–79.
7. *Райцина С. С.* Современные проблемы сперматогенеза / С. С. Райцина. – М. : Медицина, 1982. – С. 73–107.
8. *Hileihel M.* Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors / M. Hileihel, E. Lunenfeld // *Asian J. Androl.* – 2004. – № 6 (3). – P. 259–268.
9. *Горпинченко И. И.* Применение препарата Трибестан в андрологической практике / И. И. Горпинченко, А. Ю. Гурженко // *Здоровье мужчины.* – 2010. – № 1. – С. 28–32.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіценна, 2001. – 528 с.
11. *Меркулов Г. А.* Курс патолого-гистологической техники / Г. А. Меркулов. – М. : Медицина, Ленингр. отд., 1969. – 424 с.
12. *Вартапетов Б. А.* Предстательная железа и возрастные нарушения половой деятельности / Б. А. Вартапетов, А. Н. Демченко. – К. : Здоров'я, 1975. – 214 с.
13. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // *Ендокринологія.* – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
14. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов // *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.* – М. : Ремедиум, 2000. – С. 349–454.

**Н.М. Бречка, В.О. Бондаренко, Е.М. Коренева, Г.В. Зайченко, Н.Г. Малова, С.С. Ричкова, А.В. Андриянников, М.О. Бойко**

#### КОРРЕКЦИЯ ГИПОФУНКЦИИ СЕМЕННИКОВ ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТОМ

Изучали лечебно-профилактическое действие хондроитинсульфата в дозе 60 мг/кг при экспериментальной гонадопатии, которую вызывали введением самцам крыс серотонина гидрохлорида. Установлено, что применение хондроитинсульфата приводило к улучшению функциональной активности сперматозоидов, восстановлению морфоструктуры гонад, нормализации сперматогенеза и повышению уровня андрогенизации предстательной железы у животных. По гонадопротекторной активности хондроитинсульфат не уступал действию препарата сравнения трибестана.

**Ключевые слова:** сперматогенез, гонады, серотонина гидрохлорид, хондроитинсульфат.

*N.M. Brechka, V.A. Bondarenko, E.M. Koreneva, A.V. Zaychenko, N.G. Malova, S.S. Richkova, A.V. Andriyanenkov, M.O. Boyko*

**CORRECTION OF THE GONADS HYPOFUNCTION BY CHONDROITINE SULFATE**

The therapeutic and prophylactic effects of chondroitine sulfate in a dose of 60 mg/kg in experimental gonadopathia that was caused by the introduction of serotonin hydrochloride in male rats have been studied. It has been established that the application of chondroitin sulfate has lead to increasing of the functional activity of spermatozoones, to the improvement of the morphological structure of gonads, to the restoration of spermatogenesis and to the increasing of the androgenisation level of prostate gland in animals. The gonad protective effect of chondroitine sulfate is proved to be not inferior to the therapeutic effect of the comparison drug Tribestan.

**Key words:** *spermatogenesis, gonads, serotonin hydrochloride, chondroitine sulfate.*

*Поступила 14.06.12*