

ЗАСТОСУВАННЯ ХОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛУ ПРИ СЕРОТОНІНОВІЙ ГОНАДОПАТІЇ САМЦІВ ЩУРІВ

Науково-дослідна група:

Смоленко Наталія Павлівна

ORCID ID: 0000-0003-2064-8608

канд. біол. наук, старший науковий співробітник
відділу експериментальної ендокринології

*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Коренєва Євгенія Михайлівна

ORCID ID: 0000-0002-4570-6563

канд. біол. наук, старший науковий співробітник,
зав. відділом експериментальної ендокринології

*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Мараховський Ігор Олеговіч

ORCID ID: 0000-0002-9744-8324

аспірант відділу експериментальної ендокринології

*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Чистякова Еліна Євгенівна

ORCID ID: 0000-0003-1441-0804

канд. біол. наук, старший науковий співробітник
відділу експериментальної ендокринології

*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Бєлкіна Інна Олеговна

ORCID ID: 0000-0003-0439-0969

канд. біол. наук, науковий співробітник відділу експериментальної ендокринології
*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського Національної
академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Величко Наталія Федорівна

ORCID ID: 0000-0002-3115-8076

канд. біол. наук, науковий співробітник відділу експериментальної ендокринології
*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського Національної
академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Бречка Наталія Михайлівна

ORCID ID: 0000-0001-6132-9705

Д-р. біол. наук, старший науковий співробітник, провідний науковий
співробітник відділу експериментальної ендокринології

*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

Бондаренко Володимир Олександрович

ORCID ID: 0000-0002-9254-3875

Д-р. мед. наук, професор, провідний науковий співробітник
відділу експериментальної ендокринології

*«Інститут проблем ендокринної патології імені В.Я. Данилевського
Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна*

У світі спостерігається наростання депопуляційних процесів, значну частину якого обумовлює чоловіча гіпофертильність. Для покращення репродуктивного потенціалу як людей, так і тварин велике значення має створення безпечних препаратів або розробка схем лікування, які самі по собі не мають андрогенного ефекту, але стимулюють функціонування статевий системи без негативних побічних ефектів. Все більшу увагу дослідників привертають як фітопрепарати, до яких відносяться препарати з якірців сланких (Трібестан) [1], так і вітаміни, а саме вітамін D, який маючи властивості вітаміну, за механізмом дії – загальноновизнаний гормон [2]. Майже в усіх органах та тканинах репродуктивної системи знайдено VDR (вітамін D рецептори) [3]. Включення вітаміну D до комплексного лікування безпліддя при гонадопатіях є вельми актуальним.

Мета роботи: визначення ефективності дії холекальциферолу щодо стану репродуктивної функції самців щурів за умов патології гонад та експериментальної корекції.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконано на сексуально активних семимісячних самцях щурів популяції Вістар масою 250-300 г. Експериментальне ураження сім'яників викликали підшкірними ін'єкціями Серотонін гідрохлориду (3,3 мг/кг) протягом 14-ти діб. Препарат порівняння Трібестан тварини отримували *per os* у дозі 68 мг/кг маси тіла за три доби до початку введення серотоніну, на тлі введення серотоніну (14 діб) та протягом трьох діб після останньої ін'єкції один раз на добу. Вітамін D₃ (холекальциферол) давали в об'ємі 0,5 мл в масляному розчині в дозі 4000 МО (*per os*). Нові лікарські форми відомих активних фармацевтичних інгредієнтів були розроблені та напрацьовані у достатній кількості в Секторі фармтехнології лікарських засобів лабораторії аналітичних та фізико-хімічних досліджень Інституту проблем ендокринної патології імені В. Я. Данилевського НАМН України.

Тварин було рандомізовано поділено на групи: група S контрольна патологія гонадопатія; група S+віт. D₃ (на тлі гонадопатії отримували *per os* вітамін D₃); група S+Тр (на тлі гонадопатії, референтний препарат Трібестан); група S+віт. D₃+Тр (на тлі серотонінового ураження яєчок тварини *per os* отримували сумісно вітамін D₃ та Трібестан). В групу Контроль увійшли інтактні тварини.

Статеву поведінку вивчали впродовж 15 хв у присмерковий час за кількісними та часовими показниками садок, інтромісій та еякуляцій. Фертильність самців визначали за показниками фертильності та плідності інтактних самиць, запліднених піддослідними щурами. За результатами парування з самицями розраховувався інтегральний показник середньої реалізованої плідності (фертильності) самців щурів (Фі). Виводили щурів із експерименту шляхом швидкої декапітації. Дослідження стану сперматогенезу проводили у суспензії придатку сім'яника, визначаючи концентрацію епідидимальних спермій, відсоток їх рухливих та патологічних форм. Рівні статевих гормонів тестостерону, естрадіолу визначали у сироватці крові за допомогою наборів реагентів K209 та K208 для імуноферментного визначення. На гістологічних зрізах сім'яників вивчали морфометричні показники, які відображали сперматогенез у гонадах.

Статистичну значимість відмінностей між групами визначали з використанням критерію t Стьюдента. Розбіжності вважалися значущими при $P < 0,05$

Результати. Аналіз результатів показав, що серотонінове ураження яєчок негативно впливає на всі показники статевої поведінки, особливо страждає її

копулятивна складова. Корекція статевої поведінки самців із гонадопатією за допомогою вітаміну D₃ або Трібестану позначається на ланках периферійного механізму регуляції. Корекція розладів статевої поведінки, що виникли у наслідок серотонінової гонадопатії, вітаміном D₃ сумісно з Трібестаном (група S+віт. D₃+Тр.) призводить до відновлення спроможності до спарювання, покращення ініціації спарювання, що виражалось в зменшенні латентного періоду садки до ($50 \pm 11,5$, $P < 0,05$) с, проти групи S ($145,5 \pm 22,5$) с, а також еякуляторного порогу. Тобто, вплив відображається на елементах статевої поведінки, що регулюються як на центральному так і периферійному рівнях.

Моделювання серотонінового ураження яєчок призводить до пригнічення всіх показників спермограми. Введення на фоні гонадопатії вітаміну D₃ або референтного препарату призводить до підвищення відсотку рухливих гамет. Сумісне введення вітаміну D₃ та референтного препарату на фоні гонадопатії позитивно вплинуло на всі показники спермограми. Так, у самців групи S+віт. D₃+Тр спостерігалось статистично значуще збільшення відсотку рухливих статевих клітин до $42,6 \pm 5,9$ (в групі S він складав $9,8 \pm 1,7$), підвищувалась їхня концентрація до $23,2 \pm 2,0$ (в групі S вона була $11,3 \pm 2,0$, млн/мл), а патологічні форми зустрічались в 2,2 рази рідше, проти спермограми щурів групи S ($17,4 \pm 2,0$, %).

Серотонінове ураження яєчок негативно вплинуло на вміст чоловічого статевого гормону. При цьому знизилась як абсолютна, так і відносна андрогенізація. При визначенні андроген/естрогенового стану було виявлено, що серотонінове ураження сім'яників призводить до дефіциту загального тестостерону в сироватці крові в усіх групах досліджуваних тварин. У групі S дефіцит тестостерону був майже втричі нижчим по відношенню до групи Контроль.

Введення на фоні гонадопатії холекальциферолу не мало ані андрогенного, ані естрогенного ефекту. Сумісне застосування вітаміну D₃ та Трібестану позитивно позначилось на вмісті у сироватці крові самців щурів загального тестостерону та співвідношенні тестостерону до естрадіолу.

Дослідження впливу вітаміну D₃ на стан генеративної функції самців показав, що через три тижні самці досліджуваних груп були спроможні запліднити самиць, хоча індекс запліднення коливався від 46 % у групі з гонадопатією до 90 % контрольних тварин. Однак, вагітними виявилось дещо менше самок. Так, в групі S кількість вагітних була найменшою та складала 73 % (у Контролі цей показник найбільший та становив 100 %).

Корекція гонадопатії сумісним введенням холекальциферолу та препаратом із якірцями сланками призводила до збільшення кількості запліднених та вагітних самок, тоді як вживання цих компонентів окремо не мало такої дії. Це, в свою чергу, відобразилося на кількості живих плодів у самок, які були запліднені самцями з патологією та тих, що отримували препарати для корекції гонадопатії. Середня кількість живих плодів у тварин групи S+віт. D₃+Тр статистично значуще перевищувала аналогічний показник у групах як із патологією, так і тих, які приймали або холекальциферол або Трібестан окремо.

Приймаючи до уваги всі показники фертильності та плідності, що відображають як патерн статевої поведінки та якості сперматозоїдів, зниження Фі було у 6 разів нижчим у групі з гонадопатією. Тоді як у тварин після корекції вітаміном D₃ сумісно з Трібестаном цей показник був менше лише на 16 % відносно контрольних значень (рис.1).

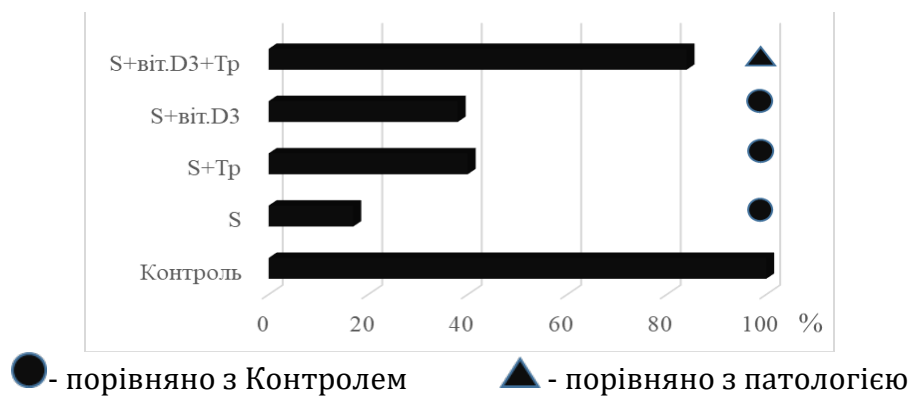


Рис. 1. Показники середньої реалізованої плідності (фертильності) самців щурів

Гістологічні дані показали, що введення серотонін гідрохлориду призводить до виникнення у морфологічній структурі тестикулярній тканині сім'яників щурів патологічних змін, які характеризуються деструктивними змінами кліток Сертолі, деструкцією сім'яних каналців, дистрофією та некробіозом статевих клітин, наслідком чого стає пригнічення процесу сперматогенезу: зниження чисельності стовбурових кліток сперматогоній, затримка диференціювання статевих клітин. У тварин із гонадопатією зменшуються активовані гормонопродукуючі клітини Лейдигу.

Після введення холекальциферолу самцям із гонадопатією спостерігалось покращення стану клітин Сертолі. Простежена активація функціонування клітин Лейдигу, що є найбільш ймовірною причиною підвищення андрогенного статусу організму тварин. За ефектом позитивного впливу на морфологічний стан сім'яників, показники сперматогенезу, андрогенний статус організму вітамін D₃ при окремому введенні практично не поступався референтному препарату, а при комплексному застосуванні з ним ефект потенціювався.

Висновки. При моделюванні гіпофункції сім'яників за допомогою Серотонін гідрохлориду спостерігається пригнічення статевої поведінки та всіх показників спермограми, виникнення у тестикулярній тканині сім'яників щурів патологічних змін та зменшення рівня андрогенного статусу організму, що веде до зниження репродуктивного потенціалу самців. Комбіноване використання вітаміну D₃ сумісно з Трібестаном при експериментальній серотоніновій гонадопатії позитивно відображається на елементах статевої поведінки покращує рівень андрогенного статусу організму та всіх показників спермограми, зменшує дистрофічно-деструктивні прояви з боку статевих клітин у період росту і диференціювання, покращує репродуктивний потенціал самців, відновлюючи їх фертильність та плідність. Корекція серотонінової гонадопатії комбінованим застосуванням вітаміну D₃ та Трібестану діє краще ніж один із зазначених компонентів.

Список використаних джерел:

1. Mukhram, M. A., Rafiq, M., Kumar, N., Jadhav, A. N., Anturlikar, S. D., & Sundaram, R. (2019). Sexual Behaviour in Male Healthy Rats: A Comparison Between Indian Tribulus terrestris Linn. Extracts with Protodioscin Standardized Bulgarian Extract. The Natural Products Journal, 9(1), 32-8. doi : 10.2174/2210315508666180810144454.
2. Saponaro, F., Saba, A., & Zucchi, R. (2020). An Update on Vitamin D Metabolism. International journal of molecular sciences, 21(18), 6573. <https://doi.org/10.3390/ijms21186573>.
3. Cito, G., Cocci, A., Micelli, E., Gabutti, A., Russo, G. I., Coccia, M. E., Franco, G., Serni, S., Carini, M., & Natali, A. (2020). Vitamin D and Male Fertility: An Updated Review. The world journal of men's health, 38(2), 164–177. <https://doi.org/10.5534/wjmh.190057>.