



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58018 (13) U  
(51) МПК  
A61K 31/737 (2011.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ХОНДРОЇТИНУ СУЛЬФАТУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ

1

2

(21) u201010983

(22) 13.09.2010

(24) 25.03.2011

(46) 25.03.2011, Бюл.№ 6, 2011 р.

(72) БРЕЧКА НАТАЛІЯ МИХАЙЛІВНА, БОНДАРЕНКО ВОЛОДИМИР ОЛЕКСАНДРОВИЧ, МАЛОВА НАТАЛІЯ ГЕОРГІЙВНА, КОРЕНЄВА ЄВГЕНІЯ МИХАЙЛІВНА, ЗАЙЧЕНКО ГАННА ВОЛОДИМИРІВНА, ЛАР'ЯНОВСЬКА ЮЛІЯ БОРИСІВНА, ІВАННИКОВА СВІТЛАНА ВАЛЕНТИНІВНА, ТАРАНОВА КАТЕРИНА СЕРГІЙВНА, АНДРІЯНЕНКОВ ОЛЕКСІЙ ВІКТОРОВИЧ, ЗАЙЧЕНКО ОКСАНА СЕРГІЙВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) 1. Застосування хондроїтину сульфату для корекції порушень сперматогенезу у щурів.

2. Застосування за п. 1, яке відрізняється тим, що хондроїтину сульфат вводять внутрішньошлунково у дозі 60 мг/кг один раз на добу протягом 21 доби.

Корисна модель відноситься до експериментальної медицини, і може бути використана при розробці засобів для лікування неплідності шляхом відновлення функціональної активності сім'яників.

Показники статистики не тільки в Україні, а й багатьох країнах світу свідчать про збільшення частоти інфертильних станів у чоловіків, які на сьогодні складають, за даними різних авторів, майже 30-50 % [1]. Неплідність у чоловіків виникає в результаті різних патологічних процесів у статевих органах, зокрема і у яєчках, внаслідок чого розвивається патоспермія, яка призводить до погіршення запліднюючої спроможності [2].

Більшість сучасних препаратів для лікування порушень репродуктивного здоров'я у чоловіків відносяться до синтетичних засобів - андрогени, антиестрогени, гонадотропіни та ін., які мають високі показники ефективності лікування, але досить часто при їх використанні виникає побічна дія [3, 4]. Засоби більш м'якої дії включають вітаміни В<sub>6</sub>, Е, С, карнітин та деякі фітопрепарати («Верона», «Спеман», «Трибестан») та адаптогени - елеутерокок, женьшень та ін., але вони не завжди в змозі відновити репродуктивний потенціал [4].

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб лікування неплідності у самців ссавців за допомогою введення глюкозаміна гідрохлориду у дозі 90 мг/кг. Аміноцукор D-глюкозамін є субстратом або стартовою речовиною для синтезу складових сполучної тканини. Серед численних фармакологічних ефектів глюкозаміну є його здатність

впливати на активність цілого ряду ферментів, активізувати анаболічні й затримувати катаболічні процеси [5, 6]. При застосуванні глюкозаміна гідрохлориду нормалізується кровопостачання гонад, збільшується і, відповідно, відновлюється порушена трофіка статевих клітин, знижуються дистрофічні процеси у яєчках щурів, що призводить до корекції порушень сперматогенезу [7].

Але пошук нових високоефективних та нетоксичних засобів для корекції порушень сперматогенезу все ще залишається актуальним.

Задача корисної моделі - розробка ефективного способу корекції порушень сперматогенної функції ссавців, який не призводить до виникнення небажаної побічної дії.

Поставлена задача вирішується тим, що статевозрілим самцям щурів з порушеним сперматогенезом вводять хондроїтину сульфат внутрішньошлунково один раз на добу у дозі 60 мг/кг протягом 21 доби.

Технічний результат - розширення арсеналу засобів для корекції порушень сперматогенної функції сім'яників щурів.

Хондроїтину сульфат має велику терапевтичну широту дії та високий індекс безпеки [8]. Він застосовується для лікування і профілактики остеохондрозу хребта та остеоартрозу периферичних суглобів, викazuje протизапальну і знеболювальну дію, зменшує болі в суглобах і хребті в стані спокою і при ходьбі, сприяє активній регенерації хряща [9]. Існують дані про те, що значна кількість протеогліканів, зокрема хондроїтину сульфат та

(13) U  
(11) 58018  
(19) UA

гепаран сульфат, розташована у тканинах яєчка. Їх біологічна роль в даний час не встановлена, проте, молекулярна характеристика деяких з них свідчить, що вони можуть брати участь у різних регуляторних процесах сперматогенезу [10].

Спосіб апробовано на білих статевозрілих самцях щурів з початковою масою 280-350 г. Тварини були розподілені на 3 групи: 1 група - негативний контроль (інтактні щури), 2 група - позитивний контроль (контрольна патологія) - тварини з модельованим серотоніновим ураженням яєчок [11], 3 група - тварини, яким на фоні модельованого серотонінового ураження яєчок вводили хондроїтину сульфат у дозі, при якій спостерігався максимальний терапевтичний ефект - 60 мг/кг. Введення проводили внутрішньошлунково за допомогою зонду. Евтаназію щурів проводили методом декапітації під ефірним наркозом на 21-ту добу експерименту. У суспензії придатків сім'яників оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (кількість, рухливість, патологічні форми, час збереження рухливості) [12].

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

Рівень андрогенної насиченості організму щурів всіх груп експерименту визначали за типом кристалізації секрету передміхурової залози на її відбитках, так званий феномен "листя папороті" [14].

Статистичну обробку цифрових даних проводили параметричними та непараметричними методами з використанням критеріїв Ст'юдента та Вілкоксона-Манна-Уїтні [15].

Як видно з даних, наведених в таблиці 1, у групі тварин, яким вводили хондроїтину сульфат (3 група) у порівнянні з щурами, з серотоніновим ураженням яєчок, відзначається підвищення кількості спермій на 72,4 % (майже до нормалізації цього показника), а рухливої здатності статевих клітин на 82 %.

Слід відзначити, що у тварин, яким вводили глюкозаміна гідрохлорид (препарат обраний за прототип) спостерігалось збільшення кількості спермій лише на 41 %, а рухливої здатності на 17 % [7].

Поліпшення кількісних параметрів спермограми в групі щурів, які отримували хондроїтину сульфат може бути обумовлено підвищенням рівня чоловічого статевого гормону, а поліпшення рухливості - збільшенням енергетичного субстрату (фруктози) або природою хондроїтину сульфату, який є головним глікозаміногліканом у тканинах яєчка.

Таблиця 1

Вплив хондроїтину сульфату на морфофункціональні показники сперматозоїдів у щурів (n=10)  
з гонадопатією, що викликали серотоніном, ( $\bar{X} \pm Sx$ )

Група тварин	Кількість спермій, млн/мл	Патологічні форми, %	Рухомі спермії, %	Час збереження рухливості, хв.
Негативний (інтактний) Контроль	52,42±3,93	21,86±1,97	81,86±3,48	187,86±12,10
Позитивний (контрольна патологія з серотоніном) контроль	25,85±2,42*	35,14±4,54*	39,57±8,17*	115,71±6,81*
Серотонін + хондроїтину сульфат	44,57±5,60**	23,00±3,48**	72,14±7,87**	212,86±8,32**

Примітка:

\* відхилення показника, достовірне відносно показника тварин груп негативного контролю,  $p < 0,05$

\*\* відхилення показника, достовірне відносно показника тварин груп позитивного контролю,  $p < 0,05$

Відновлення часу збереження рухливості спермій відбувалося і при застосуванні хондроїтину сульфату і глюкозаміна гідрохлориду у порівнянні з позитивним контролем.

При гістологічному дослідженні яєчок щурів групи негативного контролю (інтактні щури) виявлено, що морфометричні параметри сперматогенезу групи інтактних щурів відповідали фізіологічній нормі для цих тварин [13].

Кількісні показники процесу сперматогенезу після введення хондроїтину сульфату вірогідно

покращилися порівняно з контрольною патологією, а деякі зрівнялися з показниками інтактного контролю. Так, повністю відновилася чисельність нормальних сперматогоній у каналцях. Як наслідок, значно більше сперматоцитів 2-го порядку змогло вступити у поділ - зросла кількість каналців з 12 стадією мейозу (у 5,57 рази). Індекс сперматогенезу збільшився у 3 рази, хоча і не досяг ще інтактного рівня, (таблиця 2).

Таблиця 2.

Вплив хондроїтину сульфату на кількісні показники процесу сперматогенезу щурів, яким вводили серотоніна гідрохлорид

Експериментальні групи	Показники			
	Кількість-сперматогоній у каналці	Кількість каналців з 12-ю стадією мейозу, %	Кількість каналців з злущеним епітелієм, %	Індекс сперматогенезу, бали
Інтактний контроль	57,12±1,005	5,0 (4-6)	0,57 (0-3)	3,36 (3,28-3,44)
Контрольна патологія (серотонін)	13,21±6,03*	1,0 (0-7)*	0,43 (3-11)	0,99* (0,36-2,76)
Серотонін + хондроїтину сульфат	56,59±1,22**	5,57 (4-7)**	0,86 (0-3)	2,99 (3,25-3,3)*/**

Примітка:

\* - вірогідно щодо інтактного контролю

\*\* - вірогідно щодо контрольної патології

Лікувально-профілактичне введення хондроїтину сульфату на фоні серотоніна гідрохлориду позитивно вплинуло на стан сім'яників більшості щурів. У сім'яних каналцях сперматогенний епітелій подано у повному обсязі, у вигляді широкої стрічки. Підтримуючі клітини не змінені. Статеві клітини розташовані упорядковано, розмір каналців нормальний, вони тісно розміщені один до одного (Фіг. 3). У 4 з 7 самців загальна гістоархітектура сім'яних каналців, розмір їх збережено. Процес сперматогенезу простежено повністю до зрілих сперматозоїдів, наявність залишкових тілець у просвіті була на рівні інтактного контролю (Фіг. 1). Цікаво, що "повноцінні" клітини-кулі (як у контрольній патології (Фіг. 2) на різних рівнях шарів епітелію) відсутні, а залишки таких клітин простежено тільки у просвіті каналців, що, можливо, пов'язано з більш швидкою, ніж у контрольній патології, елімінацією цих утворень. Морфологічна

характеристика гландулоцитів у всіх цих самців практично співпадала з інтактним контролем.

Оцінка типу кристалізації секрету передміхурової залози інтактних щурів становила 3,58 бала, кристали секрету мали вигляд типового феномену "листя папороті", що відповідало нормальному рівню андрогенізації організму.

У групі тварин з контрольною патологією (яка отримувала серотоніна гідрохлорид) андрогенна насиченість організму, яку визначали за типом кристалізації секрету передміхурової залози, виразно зменшилася і складала 2,04 бали.

Андрогенна насиченість організму щурів, що отримували в лікувально-профілактичному режимі хондроїтину сульфат на фоні серотоніна гідрохлориду, також підвищилася порівняно з контрольною патологією, але ще була вірогідно нижче інтактної. Тип кристалізації секрету передміхурової залози оцінювався по групі у 2,82 бали (таблиця 3).

Таблиця 3.

Вплив хондроїтину сульфату на рівень андрогенної насиченості організму щурів, яким вводили серотоніна гідрохлорид (бали)

Показник	Експериментальні групи		
	Інтактний контроль	Контрольна патологія (серотоніну гідрохлорид)	Серотонін + хондроїтину сульфат
Тип кристалізації секрету передміхурової залози	3,58 (3,2-3,83)	2,04 (1,33-2,66)*	2,82 (2,66-3)*/**

Примітка:

\* - вірогідно щодо інтактного контролю

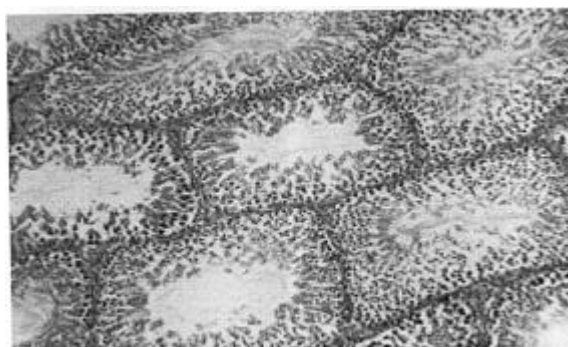
\*\* - вірогідно щодо контрольної патології

Таким чином, аналіз отриманих даних показує, що хондроїтину сульфат позитивно впливає на якісний стан тестикулярної тканини щурів, відновлює порушену трофіку статевих клітин, знижує дистрофічні процеси у яєчках щурів, що призводить

до активації процесу сперматогенезу та підвищує рівень андрогенної насиченості організму. Тому, хондроїтину сульфат може розглядатися як потенційний коректор при репродуктопатіях і сперматопатіях та порушеннях сексуального здоров'я.

Джерела інформації:

1. Лечение экскреторно-токсического бесплодия, вызванного хламидийной инфекцией [Текст] / 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 [Текст] / Под ред. В. И. Кулакова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. - 616 с.
3. Калинченко, С. Ю. Практическая андрология [Текст] / С. Ю. Калинченко, И. А. Тюзиков.- М: Практическая медицина, 2009. - 399 с.
4. Горпинченко, И. И. Исследование эффективности препарата Трибестан в лечении больных с эректильной дисфункцией [Текст] / И. И. Горпинченко, А. Ю. Гурженко // Здоровье мужчины. - 2008. - № 8. - С. 89-94.
5. Поворознюк В. В. Остеопороз позвоночника: механизмы развития, факторы риска, клиника, диагностика, профилактика и лечение // Повреждения позвоночника и спинного мозга (механизмы, клиника, диагностика, лечение) [Текст] / Под ред. Н. Е. Полищука, Н. А. Коржа, В.Я. Фищенко. - К.: Книга плюс, 2001. - С. 272-304.
6. Harman, S. M. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men [Text] / S. M. Harman, E. J. Metter, J. D. Tobin [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metabol. - 2001. - Vol. 86. - P. 724-731.
7. Пат. 40171 Україна МПК51 А61К 31/726 Спосіб корекції порушень сперматогенезу у щурів [Текст] / Зайченко Г. В., Караченцев Ю. І., Зуланець І. А., Бречка Н. М., Коренева Є. М., Ларьяновська Ю. Б., Яковлева Л. В., Сиротенко Л. А., Зайченко О. С., Щербак О. В., Божко Т. С. (UA); заявник і патентовласник Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського Академії медичних наук України» (UA). - № 40171; заявл.07.11.08; опубл. 25.03.09, Бюл. № 6. - 4 с
8. Palmieri, L. Metabolic rate of Exogenous Chondroitin Sulfate in the Experimente! Animals. [Text] / Palmieri L, Conte A. [et al.] // Arzeim. Forsch. Drug Res. - 1990. - Vol. 40, № 3. - P. 345-351.
9. КОМПЕНДИУМ 2008 - лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Вікторова. - К.: МОРИОН, 2008. - том I, с. Л-259.
10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7507743> Proteoglycans in male reproductive tract. Perin JP, Alliel PM, Jolles P, Bonnet F. Laboratoire des Proteines, Universite de Paris V, France. PMID: 7507743 [PubMed - indexed for MEDLINE] EXS. 1994;70:191-7.].
11. Бутенко, І. Г. Корекція препаратами йохімбе-генез та йохімбе-гармонія порушень сперматогенезу у щурів, викликаних серотоніном [Текст] / І. Г. Бутенко, Ю. Б. Ларьяновська // Експериментальна та клінічна медицина. - 2000. - № 3. - С 18-21.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) /За ред. О. В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - 528с.
13. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. - 1969. - 424 с
14. Вартапетов, Б. А. Предстательная железа и возрастные нарушения половой деятельности [Текст] / Б. А. Вартапетов, А.Н. Демченко. - К.: Здоровье, 1975. - 214 с.
15. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов./ В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М.: Ремедиум. - 2000. - С. 349-454.



Фіг. 1

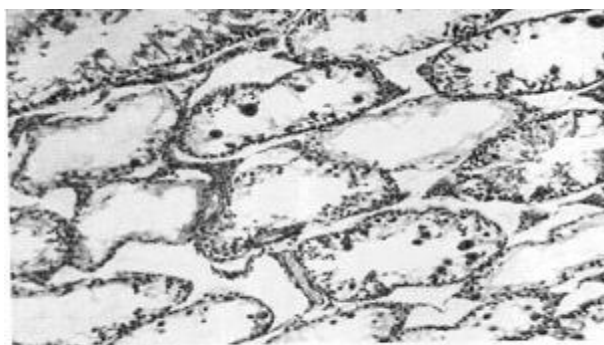


Fig. 2

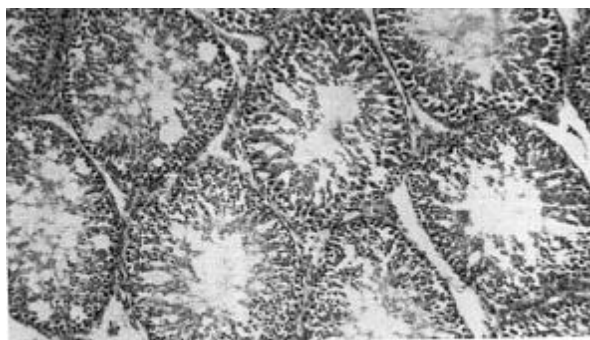


Fig. 3