



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55740 (13) A

(51) 7 A61K31/40, G01N33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПОСИЛЕННЯ ЗНИЖЕНОЇ З ВІКОМ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ СІМ'ЯНИКІВ

1

2

(21) 2002054435

(22) 30 05 2002

(24) 15 04 2003

(46) 15 04 2003, Бюл. № 4, 2003 р.

(72) Бондаренко Людмила Олександрівна, Губіна-Вакулик Галина Іванівна, Комарова Ірина Володимирівна

(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТО-

ЛОГІ ІМ. В. Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ (ІПЕП)

(57) Спосіб посилення зниженої з віком функціональної активності сім'яників за допомогою лікарських засобів, який відрізняється тим, що вводять мелатонін у дозах 0,05 - 0,5 мг/кг маси тіла щодобово наприкінці світлової фази доби протягом 10 днів

Винахід відноситься до експериментальної медицини і може бути використаний в галузі геронтології та андрології для обґрунтування можливості застосування у чоловіків похилого віку для посилення функціональної активності гонад.

При лікуванні клімактеричних станів у чоловіків в нинішній час використовуються препарати тестостерону (тестобромлецит, метилтестостерон, тестостерону пропіонат, тестенат, сустанон-250, омнадрен) або інгібітори гонадотропінів (амбосекс, декапептил) [1].

Проте широкому застосуванню кожного з них заважають певні обмеження. Так, препарати тестостерону доцільно використовувати лише як замісну терапію, оскільки екзогенно введений тестостерон блокує власну (і так знижену з віком) продукцію гормону, в зв'язку з чим це явище розглядається як "фармакологічна кастрація". Окрім цього, у чоловіків похилого віку введені андрогени здатні стимулювати появу пухлин передміхурової залози.

Інгібітори гонадотропінів саме шляхом гальмування гонадотропної функції гіпофізу опосередковано подавляють знижену з віком андрогенну функцію гонад. У зв'язку з цим гормонотерапію рекомендується проводити з великою обережністю, строго індивідуально та при відсутності протипоказань, таких як новоутворення передміхурової залози, серцева, печінкова або ниркова недостатність, декомпенсована гіпертензія.

В останні роки все більше застосування в лікуванні клімаксу у чоловіків знаходить поліпептидний препарат епіталамін, отриманий з епіфізів молодих бичків [2, 3], який сприяє регулюванню процесів гормонального метаболізму, а також корекції імунітету та системи згортання крові [4]. Епіталаміну притаманна антигонадотропна дія: він

посилює чутливість гіпоталамусу до дії статевих гормонів у старих тварин [5], стимулює біосинтез і секрецію епіфізарного мелатоніну уночі [6, 7] і завдяки такому механізму подовжує тривалість життя [8]. Наведені вище дані дають підставу припустити, що можливо, епіталамін здатен посилювати андрогенну активність гонад на етапі спадного онтогенезу, втім в науковій літературі такі дані відсутні.

Препаратом нового покоління слід вважати тесталамін. Цей препарат отримано з сім'яників великої рогатої худоби. Він являє собою нуклеопротеїнові комплекси, які виявляють вибіркочну дію на клітини чоловічої статеві системи, сприяють посиленню їх функціональної активності та перешкоджають розвитку атрофічних процесів. Тесталамін посилює вміст тестостерону в крові, збільшує кількість спермів та їх рухомість, зменшує число патологічних форм спермів та кількість лейкоцитів у спермі. Рекомендується застосовувати в комплексному лікуванні чоловічого клімаксу, а також у чоловіків похилого віку для підтримки функції сім'яників [4, 9]. Однак, широкому застосуванню тесталаміна заважає його дорожнеча, обмеженість даних всебічного вивчення побічної дії та відсутність в аптечній мережі України.

Задача винаходу - розробка патогенетично обґрунтованого способу підвищення інкреторної та генеративної функції сім'яників шляхом посилення зниженої з віком нічної концентрації циркулюючого в крові мелатоніну.

Поставлена задача вирішується тим, що вводять мелатонін у дозах 0,05 - 0,50 мг/кг маси тіла щодобово наприкінці світлової фази доби внутрішньочеревинно протягом 10 днів.

Мелатонін відноситься до біологічно активних речовин, виділених із пінеальної залози. Він регу-

(19) UA (11) 55740 (13) A

лює адаптаційні властивості організму, забезпечує циркадні ритми (передусім, сну та неспання) через нейрогуморальні механізми центральної нервової системи, посилює розумову та фізичну працездатність, гальмує прояви стресорних реакцій. Йому притаманна антиоксидантна та імуностимулююча дія, здатність нормалізувати проникність судинної стінки тощо. Завдяки тому, що він здійснює комплексний вплив на організм, рекомендований для клінічного використання як геропротектор.

Мелатонін випускається фармацевтичною промисловістю (віта-мелатонін, Україна, мелапур, Росія, мелапур, США, мелапур, ЕС тощо), є в аптечній мережі, недорогого коштує і доступний для людей похилого віку навіть з невеликим достатком.

Спосіб апробовано на 23 старих щурах популяції Wistar (вік 18 міс, маса 250 - 270г), контролем були старі щури аналогічного віку та молоді статевозрілі (вік 3 міс, маса 180 - 200г) (таблиця).

Аналіз даних таблиці показав, що у старих

щурів концентрація тестостерону в крові зменшена, а структура сім'яників свідчить про гальмування в них процесів сперматогенезу і морфофункціональної активності клітин Лейдіга, що синтезують андрогени. Результати хроноендокринологічного вивчення андрогенної активності гонад свідчать про певні добові особливості. Так, у старих щурів порівняно з молодими, концентрація циркулюючого в крові тестостерону зменшена і удень, і уночі, проте у щурів, виведених із експерименту опівдні, вона зменшується удвічі, в той час як опівночі - в 3,5 рази.

Визначення рівня естрадіолу в крові у старих тварин показало, що удень він збільшений у 4 рази, в той час як уночі трохи зменшений (на 22,7%). Внаслідок цього співвідношення тестостерон/естрадіол у старих тварин удень складає 3,67 проти 32,26 у молодих, а уночі - 4,70 проти 12,81 відповідно.

Таблиця

Добові особливості впливу мелатоніну на концентрацію статевих гормонів в крові у старих щурів

Вік міс	Групи тварин	Умови до- слідду	Стат по- казн	Концентрація гормонів, нмоль/л				Коефіцієнт Т/Е ₂	
				Тестостерон		Естрадіол			
				День	Ніч	День	Ніч	День	Ніч
3	I (n=7)	Контроль	$\bar{x} \pm S_x$	6,13±0,87	2,82±0,89	0,19±0,01	0,22±0,01	32,26	12,81
18	II (n=8)	Контроль	$\bar{x} \pm S_x$ P _{I II}	2,94±0,71 < 0,02	0,80±0,12 < 0,05	0,80±0,19 < 0,01	0,17±0,03 < 0,001	3,67	4,70
18	III (n=9)	Мелатонін 0,05мг/кг	$\bar{x} \pm S_x$ P _{II III}	2,96±0,75 -	3,04±0,63 < 0,01	0,25±0,07 < 0,001	0,15±0,02 -	11,84 -	20,26 -
18	IV (n=8)	Мелатонін 0,50мг/кг	$\bar{x} \pm S_x$ P _{II IV} P _{III IV}	2,80±1,26 - -	3,48±0,96 < 0,02 -	0,22±0,05 < 0,001 -	0,43±0,14 < 0,001 < 0,001	12,72	8,09

Наведені дані свідчать про абсолютне і відносне гальмування андрогенної активності гонад у старих щурів, а також про наявність добових особливостей тестикулярного гормоногенезу.

Мелатонін, введений старим щурам наприкінці світлової фази доби в указаних дозах, не викликає змін вмісту тестостерону удень, проте вірогідно підвищує його концентрацію уночі (при застосуванні препарату в дозі 0,05мг/кг - в 3,8 рази, а 0,50мг/кг - в 4,35 рази). Паралельно під впливом мелатоніну у старих щурів спостерігається дозозалежне зменшення концентрації естрадіолу удень (у 3,2 рази та 3,6 рази при застосуванні препарату в дозі 0,05 та 0,50мг/кг м.т. відповідно), в той час як уночі мелатонін в дозі 0,05мг/кг не викликає змін концентрації циркулюючого в крові естрадіолу, а в дозі 0,50мг/кг навіть її збільшує (у 2,5 рази).

Внаслідок виявлених змін продукції статевих гормонів у старих щурів під впливом мелатоніну суттєво збільшується співвідношення між тестостероном і естрадіолом у бік вираженої переваги першого, причому як удень, так і уночі.

Аналіз ефективності застосованих доз вказує на те, що вже з дози 0,05мг/кг м.т. відчутно посилюється функціональна активність сім'яників.

Таким чином, результати вивчення гормональної активності сім'яників під впливом мелатоніну

вказують на те, що він здатен, навіть в невеликих дозах, посилювати андрогенну та гальмувати естрогенну функцію гонад у старих щурів, тобто викликати зміни, націлені на відновлення інкреторної активності статевих залоз.

Гістологічне вивчення структури яєчок контрольних старих щурів відповідає описаному в літературі. В сім'яних каналцях відбувається сперматогенез на різних стадіях, проте лише у 30 - 40% випадків від загалу усіх поперечних зрізів сім'яних каналців спостерігається вихід зрілих сперматозоїдів у їх просвіт.

Клітини Лейдіга, які прилягають до судин мікроциркуляції, формують малі островці, що складаються лише з 5 - 12 клітин. Цитоплазма щільна, інтенсивно еозинофільна. Ядра різного розміру, деякі з них дуже малі і гіперхромні, а інші - декілька крупніші і світліші, хоча в ядрах переважає гетерохроматин у вигляді малих глибок. Наведена картина надає можливість констатувати, що в структурі гонад старих щурів представлені як неактивні клітини, так і клітини, які ще залишаються в стані активної гормональної стероїдної продукції, але на низькому рівні (фиг 1), співвідношення між активними та неактивними клітинами складає 1:2, тобто нефункціонуючих клітин вдвічі більше, ніж функціонуючих.

Клітини Сертолі (суспенцити) мають трикутну

форму, однією із сторін торкаються базальної мембрани сім'яного каналця. Ядро округле, темнувате, хроматин виглядає однорідним.

В групі старих щурів, які протягом 10 діб отримували мелатонін в дозі 0,05 мг/кг м.т., кількість клітин в інтерстиціальних гормонопродуруючих острівцях не збільшується, проте привертає увагу той факт, що більшість світлоядерних клітин змінила ступінь дисперсності хроматину в ядрах, внаслідок чого весь хроматин став мати дрібнодисперсний (а не глибокий, як у контролі) характер, і ядро виглядає дифузно-темнуватим. Виявлені зміни хроматину ядер клітин Лейдига свідчать про активацію гормоногенезу в сім'яниках. Співвідношення активних і неактивних клітин Лейдига в цій групі складає 1:1. Водночас збільшується і кількість сім'яних каналців (до 50 - 60%), в яких спостерігається вихід зрілих сперматозоїдів в їх просвіт. Сустиноцити мають більш дрібнодисперсний характер хроматину. Поперечний діаметр їх ядер збільшується.

В групі щурів, які отримували мелатонін в дозі 0,50 мг/кг м.т., в полі зору мікроскопу спостерігається домінування клітин Лейдига, що мають дрібнодисперсний, дифузний хроматин. Співвідношення активних і неактивних клітин складає 2:1. У 70 - 80% випадків від загальної кількості сім'яних каналців, умовно прийнятих за 100%, спостерігається процес виходу зрілих сперматозоїдів в їх просвіт (фиг. 2).

Слід відзначити, що у старих тварин, виведених із експерименту як удень, так і уночі, під впливом мелатоніну спостерігалась аналогічна структурна перебудова в статевих залозах.

Наведені дані щодо вивчення морфофункціонального стану гонад у старих щурів дають право зробити висновок про те, що мелатонін в малих дозах уночі здійснює виражений дозозалежний стимулюючий вплив на тестикулярний гормоногенез за рахунок кількісного збільшення стероїдопродуруючих клітин Лейдига та морфологічних ознак активації їх ядер, що проявляється вірогідним підвищенням концентрації тестостерону в крові і тенденцією до нормалізації співвідношення Т/Е₂.

Таким чином, даний спосіб дає можливість у старих щурів введенням екзогенного мелатоніну

суттєво посилити знижену з віком функціональну активність статевих залоз, що може стати обґрунтуванням застосування препарату у чоловіків похилого віку на етапі вікової інволюції гонад.

Використана література

1 Горпинченко І.І. Клімакс у мужчин // Сексологія і андрологія - К. Абрис, 1997 - С. 534 - 545.

2 Хавинсон В.Х., Морозов В.Г., Анисимов В.Н. Свойство пептидов эпифиза проявляют биологическую активность в отношении эндокринной и иммунной систем организма человека и животных // Диплом на открытие №47. Выдан 28.03.97г. РАЕН и международная ассоциацией авторов научных открытий.

3 Анисимов В.Н. Средства профилактики преждевременного старения (геропротекторы) // Успехи геронтологии - 2000 - вып. 4 - С. 55 - 74.

4 Морозов В.Г., Рыжак Г.А., Малинин В.В. Цитамини (Биорегуляторы клеточного метаболизма) - СПб, 2000 - 117с.

5 Анисимов В.Н., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г. Роль пептидов эпифиза в регуляции гомеостаза: 20-летний опыт исследования // Успехи соврем. биол. - 1993. Т. 113, вып. 6 - С. 752 - 762.

6 Anisimov V.N., Bondarenko L.A., Khavinson V.Kh. Effect of pineal peptide Preparation (Epithalamin) on life Span and Pineal and Serum Melatonin Level in Old Rats // Ann. of New-York Academy of Sciences - 1992 - Vol. 673 - P. 53 - 57.

7 Бондаренко Л.А., Анисимов В.Н. Возрастные особенности влияния эпифаламина на метаболизм серотонина в шишковидной железе крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. - 1992 - №2 - С. 194 - 195.

8 Anisimov V.N., Bondarenko L.A., Khavinson V.Kh. The pineal Peptides Interaction with Indoles and the Role in Aging and Cancer // Neuroendocrinology. New Frontiers - London-Tubingen, 1990 - P. 317 - 325.

9 Цитамини. Биологически активные добавки к пище. Метод рекомендации / Институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Сост. В.Г. Морозов и др. - СПб, 1999 - 33с.



Фиг. 1



Фиг. 2