



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62911 (13) U
(51) МПК
A61K 35/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ АНДРОГЕННОГО ДЕФІЦИТУ У ЩУРІВ

1

2

(21) u201100632

(22) 20.01.2011

(24) 26.09.2011

(46) 26.09.2011, Бюл.№ 18, 2011 р.

(72) АНТОНЯН ІГОР МИХАЙЛОВИЧ

(73) ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯ-
ДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ

(57) Спосіб лікування андрогенного дефіциту у щурів, який здійснюють шляхом введення препарату, який відрізняється тим, що здійснюють двостороннє інтратестикулярне введення піддослідним тваринам культури стовбурових клітин у кількості 200 000 клітин.

Корисна модель належить до медицини, а саме до урології, репродуктивної медицини, і може бути використана для лікування порушення андрогенної дисфункції та пригнічення сперматогенезу.

Демографічна проблема на сьогодні є досить суттєвою для нашої країни. Збільшується кількість безплідних шлюбів, причому нерідко причиною такої ситуації є андрогенна дисфункція, яка за даними різних авторів складає близько 50 % за рахунок порушення фертильності. Одним з найбільш поширених чинників цієї дисфункції є зниження рівня тестостерону (Karpman E. The therapeutic Challenges of hypogonadism and its comorbidities/E. Karpman, L. I. Lipshultz, D. H. Williams // Managed Care Consultant. 1st report.-2006. – p.8).

Відомий спосіб лікування чоловічого гіпогонадізму, який носить комплексний характер і включає в себе замісну гормонотерапію препаратами тестостерону: 1) при гіпергонадотропному гіпогонадізмі та вираженій андрогенній недостатності; 2) при умові достатньої резервної функції яєчок; 3) при умові попередньої санації органів, у яких відбувається обмін андрогенів (печінка, простата) (Горпинченко І.І., Имшинецкая Л.П. Гормонотерапия половых расстройств и другие методы медикаментозного лечения. К: Комполис, 2001.-48 С.).

Але така терапія не завжди є ефективною та дає нетривалий ефект. Крім того, гормонотерапія дуже часто викликає побічні ефекти, серед яких підвищення ризику онкозахворювань, які роблять неможливим подальше лікування. Також не слід забувати й про економічний аспект будь-якої терапії: ефективна терапія тестостероном коштує досить дорого. Тому виникає потреба в пошуку нових методів лікування андрогенного дефіциту.

Відомий спосіб лікування гіпогонадізму у чоловіків за допомогою трансдермальної форми тестостерону Андрогель (1 % гель тестостерону) у кількості 5,7,5 чи 10 г на добу протягом багатьох місяців (Wang C, Cunningham G., Dobs A. et al. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2004. - № 89(5). - Pp.-2085-2098.).

Але вказані методи вимагають детального не-одноразового обстеження на рівень гонадотропних та статевих гормонів, не можуть бути застосовані при важкому ураженні печінки (гепатит, цироз), не можуть бути застосовані при аргументованій підозрі на можливість неопластичної трансформації простати.

Найбільш близьким та вибраним за прототип є спосіб (Пат. № 19093, Україна), при якому статевозрілим самцям мишей лінії ICR віком 5-6 міс. із адрибластинним гіпогонадізмом, внутрішньоочеревинно однократно вводять гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (граноцит). Спосіб виконується наступним чином. На 10-у добу після другої ін'єкції адрибластину статевозрілим самцям мишей лінії ICR віком 5-6 міс. вводять ін'єкційно внутрішньоочеревинно гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (граноцит) у дозі 100 мкг/кг.

Недоліки способу пов'язані з тим, що введення зазначеної дози препарату внутрішньоочеревинно не дозволяє відновити функцію яєчок.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу лікування андрогенного дефіциту у щурів, в якому за рахунок зміни самого препарату, місця його введення та дози, досягаються позитивні зміни андрогенної насиченості організмів, а саме вмісту тестостерону, естрадіолу, відношення тестостерон/естрадіол, фруктози,

UA (11) 62911 (13) U

а також масові показники органів-мішеней (сім'яники, сім'яні пухирці, ВЧПЗ, придатки яєчок).

Поставлена задача вирішується тим, що в способі лікування андрогенного дефіциту у щурів, який здійснюють шляхом введення препарату, згідно з корисною моделлю, здійснюють двостороннє інтратестикулярне введення піддослідним тваринам культури стовбурових клітин у кількості 200000 клітин.

Останнім часом багато вчених звертаються при лікуванні різних патологічних станів до використання стовбурових клітин. Не є виключенням й урологія (Kanatsu-Shinohara M, Takehashi M, Shinohara T. Brief history, pitfalls, and prospects of mammalian spermatogonial stem cell research // M. Kanatsu-Shinohara, M. Takehashi, T. Shinohara // Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 2008. – Vol. 73. – P. 17-23; Genetic reconstruction of mouse spermatogonial stem cell self-renewal in vitro by Ras-cyclin D2 activation / J. Lee, M. Kanatsu-Shinohara, H. Morimoto [et al.] // Cell Stem Cell. 2009. – № 5(1). – P. 76-86.).

Експериментальні дані свідчать про те, що їх використання дає стійкий ефект й призводить до нормалізації сперматогенезу.

Спосіб, що заявляється, пояснюємо на прикладі.

Завданням нашого експерименту було підібрати ефективну кількість стовбурових клітин для лікування андрогенного дефіциту у щурів. Для цього нами була використана модель захворювання, створена за допомогою хлориду кадмію

(CdCl₂) (Рішення про видачу патенту на к/модель з-ка № U201008563 від 08.07.2010).

Моделювання гіпогонадізму проводилось на статевозрілих щурах-самцях, яких розділили на 5 груп, де 1 група - інтактна, групи 2-5 отримали CdCl₂ в концентрації 150 мкг/100 г ваги тварини задля моделювання експериментальної патології. Концентрація токсину, яка використовувалась для моделювання патології, була визначена експериментальним шляхом у попередніх дослідженнях. Тваринам 3 групи культуру стовбурових клітин вводили в кожне яєчко у кількості 80000 клітин, тваринам 4 групи - у кількості 100000 клітин в кожне яєчко, тваринам 5 групи - у кількості 200000 клітин в кожне яєчко.

Культуру стовбурових клітин отримували згідно з розробленою методикою (Технології виділення клітин стромы кісткового мозку людини, розмноження in vitro та індукції в нервові клітини та остеобласти: Метод. рек. / Щегельська О.А., Микулинський Ю.Ю., Омельченко О.А. та ін. – ХМАПО – Харків, 2004. – С. 7-10.).

Ефективність терапії оцінювалась за такими показниками сироватки крові: тестостерон (Т), естрадіол (Е), Т/Е, фруктоза, а також маса сім'яників, вентральної частини передміхурової залози (ВЧПЗ), сім'яних пухирців, придатків яєчок та гіпофізу. Оцінка усіх показників в групах 3-5 проводилась на 28 добу експерименту.

В результаті проведеного експерименту були отримані результати, наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Вплив культури стовбурових клітин на показники гормонального стану щурів на моделі ураження CdCl₂.

	Т, нмоль/мл	Е, нмоль/мл	Т/Е	Фруктоза, нмоль/мл
Інтактна група	23,4±2,0	0,24±0,02	130,8±23,5	1,03±0,06
Експериментальна патологія	9,7±0,7*	0,44±0,02*	24,1±3,0*	0,57±0,05*
80000 клітин	15,1±1,3**	0,26±0,02**	59,9±4,6**	0,89±0,05**
100000 клітин	19,0±1,4**	0,26±0,02**	78,8±7,2**	0,96±0,05**
200000 клітин	22,6±1,6**	0,21±0,02**	119,2±11,0**	1,01±0,05**

Примітки: * - вірогідна відмінність від інтактної групи; ** - вірогідна відмінність від експериментальної патології.

Як видно із табл. 1, після введення самцям щурів токсину рівень тестостерону значно знизився у порівнянні з інтактною групою - на 58,5 %, рівень естрадіолу значно зріс - на 83,3 %, відношення Т/Е значно знизилось - на 81,6 %, рівень фруктози знизився на 44,7 %. Такі зміни свідчать про те, що андрогенна насиченість організмів піддослідних тварин значно знизилась.

Введення тваринам в яєчки культури стовбурових клітин на тлі ураження CdCl₂ привело до позитивних змін щодо андрогенної насиченості (табл. 1).

При інтратестикулярному введенні тваринам культури стовбурових клітин у кількості 80000 клітин було відмічено зростання рівня тестостерону та фруктози у порівнянні з групою негативного

контролю: на 23,1 % та на 31,1 %, відповідно. Вміст естрадіолу знизився на 75,0 %. Відповідно, відношення Т/Е зросло на 27,4 %.

Введення клітин у кількості 100000 клітин в кожне яєчко викликало такі позитивні зміни андрогенної насиченості організмів у порівнянні з групою негативного контролю: рівень тестостерону зріс на 45,7 %, фруктози - на 37,9 %, вміст естрадіолу знизився на 75,0 %, а відношення Т/Е зросло на 41,8 %.

В експерименті з введенням піддослідним тваринам культури стовбурових клітин в кількості 200000 клітин в кожне яєчко спостерігалися наступні зміни андрогенної насиченості організму у порівнянні з групою негативного контролю: вміст тестостерону виріс на 55,1 %, фруктози - на 42,7 %,

вміст естрадіолу знизився на 95,8 %, відношення Т/Е зросло на 72,7 %.

Крім визначення андрогенного статусу піддослідних тварин нами проводилось вивчення орга-

нів-мішеней до андрогенів: сім'яників, вентральної частини передміхурової залози (ВЧПЗ), придатків яєчок та гіпофізу. Результати цього вивчення наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Вплив культури стовбурових клітин на масу органів-мішеней щурів на моделі ураження CdCl_2 .

	Маса органів, мг				
	сім'яники, мг	вчпз, мг	сім'яні пухирці, мг	Придатки яєчок, мг	гіпофіз, мг
Інтактна група	3546,3±15,5	1004,9±20,2	1006,1±17,6	1079,1±15,0	6,7±0,14
Експериментальна патологія	2861,8±17,5	604,3±18,1	827,2±22,3	854,5±21,6	6,7±0,12
80000 клітин	3367,6±20,8*	854,7±22,0*	902,3±16,1**	991,7±17,7**	6,7±0,1
100000 клітин	3418,7±24,5**	902,0±21,3**	926,3±16,8*	1017,7±19,0*	6,6±0,11
200000 клітин	3543,7 ±, 19,9	985,5±19,1	987,4±17,9	1051,0±20,9	6,8±0,1

Примітки: * - вірогідна відмінність від інтактної групи; ** - вірогідна відмінність від експериментальної патології.

Як видно з таблиці 2, динаміка змін маси статевих органів також була позитивною після введення тваринам стовбурових клітин на тлі ураження CdCl_2 .

Після введення токсину маса статевих органів знизилась: маса сім'яників - на 19,3 %, ВЧПЗ - на 39,9 %, сім'яних пухирців - на 17,8 %, придатків яєчок - на 20,8 %, а маса гіпофізу залишилась незмінною.

Введення піддослідним тваринам культури клітин у кількості 80000 призвело до таких змін: у порівнянні з експериментальною патологією маса сім'яників зросла на 14,3 %, маса ВЧПЗ - на 24,9 %, сім'яних пухирців - на 7,5 %, придатків сім'яників - на 12,7 %, маса гіпофізу не змінилась.

Використання клітин у кількості 100000 призвело до таких змін: маса сім'яників зросла на

15,7 %, ВЧПЗ - на 29,6 %, сім'яних пухирців - на 9,8 %, придатків сім'яників - на 15,1 %, маса гіпофізу виявилась нижчою на 1,5 %.

Після введення тваринам клітин у кількості 200000 були зареєстровані наступні зміни: маса сім'яників зросла на 19,2 %, маса ВЧПЗ - на 37,9 %, сім'яних пухирців - на 15,9 %, придатків - на 18,2 %, маса гіпофізу виявилась більшою на 1,5 %.

Таким чином, результати експерименту свідчать про те, що двостороннє інтратестикулярне введення піддослідним тваринам культури стовбурових клітин у кількості 200000 на тлі ураження тварин CdCl_2 привело до найбільш позитивних змін щодо андрогенної насиченості організму тварин й вагових змін статевих органів.