



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40171 (13) U  
(51) МПК (2009)  
A61K 31/726МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ

1

2

(21) u200812964

(22) 07.11.2008

(24) 25.03.2009

(46) 25.03.2009, Бюл. № 6, 2009 р.

(72) ЗАЙЧЕНКО ГАННА ВОЛОДИМИРІВНА, UA,  
КАРАЧЕНЦЕВ ЮРІЙ ІВАНОВИЧ, UA, ЗУПАНЕЦЬ  
ІГОР АЛЬБЕРТОВИЧ, UA, БРЕЧКА НАТАЛІЯ МИ-  
ХАЙЛІВНА, UA, КОРЕНЄВА ЄВГЕНІЯ МИХАЙЛІВ-  
НА, UA, ЛАРЬЯНОВСЬКА ЮЛІЯ БОРИСІВНА, UA,  
ЯКОВЛЄВА ЛАРИСА ВАСИЛІВНА, UA, СИРОТЕН-  
КО ЛАРИСА АНАТОЛІЙВНА, UA, ЗАЙЧЕНКО ОК-  
САНА СЕРПІЙВНА, UA, ЩЕРБАК ОЛЕНА ВАЛЕН-  
ТИНІВНА, UA, БОЖКО ТЕТЯНА СТЕПАНІВНА, UA(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ПРО-  
БЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИ-  
ЛЕВСЬКОГО АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇ-  
НИ", UA, НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ, UA(57) Спосіб корекції порушень сперматогенезу у  
щурів, що включає застосування негормональних  
засобів, який відрізняється тим, що статевозрі-  
лим самцям з порушеним сперматогенезом вво-  
дять глюкозаміну гідрохлорид внутрішньошлунко-  
во один раз на добу у дозі 90 мг/кг протягом 18 діб.

Корисна модель відноситься до експеримен-  
тальної медицини, і може бути використана при  
розробці засобів для лікування неплідності і відно-  
влення сперматогенезу шляхом поліпшення якості  
сперматозоїдів.

Репродуктопатії як жіночого, так і чоловічого  
організму призводять до зниження народжуваності  
та викликають разом з іншими факторами знижен-  
ня чисельності населення країни [1]. Частка чоло-  
вічого фактора у безплідному шлюбі за даними  
різних авторів складає 30-40 %, причому значний  
відсоток у цьому посідають сперматопатії [2].

Арсенал засобів лікування захворювань чоло-  
вічої статеві системи, незважаючи на стрімкий  
розвиток сучасної фарміндустрії, обмежений гор-  
монами з малою андрогенною активністю (андрі-  
ол, метиландростендіол, ретаболіл, нероболіл та  
ін.), вітамінами (В<sub>6</sub>, Е, С, карнітин) та деякими фі-  
топрепаратами («Верона», адаптогени - елеутеро-  
кок, женьшень та ін.), які не завжди в змозі віднови-  
ти репродуктивний потенціал [3].

Найбільш близьким до способу, що заявляєть-  
ся, є спосіб лікування неплідності у самців ссавців,  
який полягає у застосуванні модафінілу: в експе-  
рименті щурам перорально протягом 30 діб вво-  
дили різні дози модафінілу, після чого спостерігав-  
ся стійкий позитивний результат [4]. Основним  
недоліком цього способу є те, що модафініл крім  
загальної побічної дії (при передозуванні виника-  
ють алергічні реакції гіперчутливості, небажані

шкіряні висипання та ін.) має іншу побічну дію -  
гіперстимулюючий вплив на нервову систему, його  
застосування не можливе при порушеннях серце-  
во-судинної системи [5]. Тому актуальним залиша-  
ється пошук біологічно активних речовин для ко-  
рекції порушень сперматогенної функції, що мають  
високу ефективність та не виказують побічної дії.

Задача корисної моделі - розробка ефективно-  
го способу корекції порушень сперматогенної фун-  
кції ссавців, який не призводить до виникнення  
небажаної побічної дії.

Поставлена задача вирішується тим, що ста-  
тевозрілим самцям щурів з порушеним спермато-  
генезом вводять глюкозаміну гідрохлорид внутрі-  
шньошлунково один раз на добу у дозі 90 мг/кг  
протягом 18 діб.

Технічний результат - розширення арсеналу  
засобів для корекції порушень генеративної функ-  
ції сім'яників щурів.

Аміноцукор D-глюкозамін є субстратом або  
стартовою речовиною для синтезу складових спо-  
лучної тканини. Серед численних фармакологіч-  
них ефектів глюкозаміну є його здатність впливати  
на активність цілого ряду ферментів, активізувати  
анаболічні й затримувати катаболічні процеси [6,  
7]. Аміноцукри посідають одне з провідних місць  
серед ендогенних метаболітів, які є ефективними і  
нетоксичними біологічно-активними сполуками.

Спосіб апробовано на білих статевозрілих са-  
мцях щурів з початковою масою 340-380 г. Твари-

(13) U  
(11) 40171  
(19) UA

ни були розподілені на 3 групи: 1 група - негативний контроль (інтактні щури), 2 група - позитивний контроль (контрольна патологія) - тварини з модельованим серотоніновим ураженням яєчок [8, 9], 3 група - тварини, яким на фоні модельованого серотонінового ураження яєчок вводили глюкозаміна гідрохлорид у дозі, при якій спостерігався максимальний терапевтичний ефект - 90 мг/кг. Введення проводили внутрішньошлунково за допомогою зонду. Евтаназію щурів проводили методом декпітації під ефірним наркозом на 19-ту добу експерименту, виділяли та зважували сім'яники їх придатки, гіпофіз, надниркові залози, ВПЗ та сім'яні пухирці (СП). У СП визначали вміст фруктози за методом Бокуняєвої [10].

У суспензії придатків сім'яників оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (кількість, рухливість, осмотичну і кислотну резистентність, патологічні форми) [9].

Рівень гормонів у сироватці периферичної крові визначали імуноферментним методом.

Статистичну обробку цифрових даних проводили параметричними та непараметричними методами з використанням критеріїв Ст'юдента та Вілкоксона-Манна-Уїтні [11].

В таблиці 1 наведені дані про вплив 18-добового введення субстанції глюкозаміну гідрохлориду на масу органів та показники андрогенної насиченості щурів-самців.

Таблиця 1

Вплив внутрішньошлункового 18-добового введення субстанції глюкозаміну гідрохлориду на масу органів та показники андрогенної насиченості щурів-самців (n=10), ( $\bar{X} \pm Sx$ )

Група тварин	Маса органів					Показники андрогенної насиченості	
	сім'яники, мг	Вентральна частина передміхурової залози, мг	сім'яні пухирці, мг	Придатки сім'яників, мг	Гіпофіз, мг	Тестостерон, нмоль/л	Фруктоза в СП, ммоль/орган
1 група	3510,00 ± 75,76	972,00 ± 40,05	984,00 i 48,70	1077,00 ± 21,65	6,50 ± 0,11	13,62 ± 1,20	1,08 ± 0,10
2 група	3165,00 ± 43,29*	634,00 ± 32,47*	954,00 i 27,06	910,00 ± 21,65*	6,90 ± 0,22	3,78 ± 0,56*	0,18 ± 0,06*
3 група	3265,00 ± 70,35	698,00 ± 40,05*	975,00 d 43,29	977,00 ± 48,70	6,60 ± 0,11	9,00 ± 0,66**/	0,59 ± 0,08**/

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

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

Аналіз наведених даних показує, що моделювання серотонінового ураження яєчок супроводжувалось зміною маси основних органів-мішеней для андрогенів.

При застосуванні глюкозаміна гідрохлориду (3 група) відзначалося, що маса сім'яників, та їх придатків і уайже на 8 % була вищою, ніж у груп з серотоніновим ураженням яєчок (2 група). А маса передміхурової залози за таких умов не відрізнялась від такої, що мала місце при введенні серотоніну.

Маса гіпофізу та сім'яних пухирців за умов експерименту вірогідно не змінювалась.

У таблиці також наведені дані андрогенної насиченості організму тварин. Так, рівень тестостерону при введенні серотоніну вірогідно знижував-

ся, що супроводжувалось падіння вмісту фруктози у СП (2 група - позитивний контроль), що підтверджує зниження андрогенної насиченості організму.

Застосування субстанції аміноцукру глюкозаміну гідрохлориду (3 група) втричі підвищувало рівень тестостерону та кількість фруктози в СП, що свідчить не тільки про можливість впливати на андрогенний баланс, а й про збереження периферичної чутливості органів-мішеней у тварин цієї групи.

Підвищення рівня тестостерону при введенні ГА пояснює нормалізацію маси сім'яників та їх придатків у тварин цієї групи, що співпадає з показниками підвищення рівня фруктози у СП (таблиця 1).

Таблиця 2

Вплив внутрішньошлункового 18-добового введення субстанції глюкозаміну гідрохлориду на морфологічно-функціональні показники сперматозоїдів у щурів (n=10), ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ )					
Група тварин	Кількість спермійв, млн/мл	Патологічні форми, %	Рухоміспермії, %	Кислотна резистентність, pH	Осмотична резистентність, % NaCl
1 група	54,30±1,95	14,70±1,08	71,80±3,68	5,61±0,13	2,26±0,07
2 група	30,50±1,95*	20,80±1,19*	53,20±3,79*	5,50±0,12	2,27±0,07
3 група	43,10±2,05**	23,70±1,62*	62,50±4,87	4,27±0,08**	2,34±0,08

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

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

Як видно з даних, наведених в таблиці 2, у групі тварин, яким вводили ГА (3 група) у порівнянні з щурами, з серотоніновим ураженням яєчок, відзначається підвищення кількості спермійв на 41 %, але не спостерігалось нормалізації цього показника. Поліпшення кількісних параметрів спермограми в групі щурів, які отримували глюкозаміна гідрохлорид може бути обумовлено підвищенням рівня чоловічого статевих гормонів, а поліпшення рухливості - збільшенням енергетичного субстрату (фруктози) або природою глюкозаміну, який є головним аміноцукром сім'яної плазми.

При застосуванні глюкозаміна гідрохлориду (3 група) відмічалось поліпшення рухливої здатності

статевих клітин майже до нормальних величин та покращення кислотної резистентності.

Відсутність гонадотоксичного впливу аміноцукру глюкозаміна гідрохлориду на сперматогенез підтверджується даними, наведеними у таблиці 3. Слід зауважити, що під впливом глюкозаміна гідрохлориду не виявлено порушень диференціації гамет, про що свідчить відсутність патологічних форм у всіх дослідних групах. Це стосується й функції сперматозоїдів, характеристикою якої є рівень їх рухомості - ніяких змін, порівняно з групою тварин позитивного контролю виявлено не було.

Таблиця 3

Показники спермограми щурів (n=10), під впливом глюкозаміна гідрохлориду ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ )

Група тварин	Кількість спермійв, млн/мл	Патологічні форми, %	Рухливість спермійв, %	
			рухомі	нерухомі
Контроль	55,98±2,24	16,90±1,62	67,20±4,87	32,80±4,87
Глюкозаміна гідрохлорид у дозі 50 мг/кг	64,63±2,8	11,90±0,87	70,14±3,36	29,50±3,79
Глюкозаміна гідрохлорид у дозі 100 мг/кг	67,36±3,14*	15,70±0,87	71,20±2,16	28,80±2,17
Глюкозаміна гідрохлорид у дозі 150 мг/кг	63,37±2,95	14,70±0,87	70,50±3,36	29,50±3,36

Примітка - \*відхилення показника, достовірне відносно показника тварин групи контролю,  $p < 0,05$

При гістологічному дослідженні яєчок щурів групи негативного контролю (інтактні щури) виявлено, що морфометричні параметри сперматогенезу групи інтактних щурів відповідали фізіологічній нормі для цих тварин [12].

Кількісна оцінка сперматогенезу у щурів групи контрольної патології показала, що у них було від-

мічено вірогідне збільшення чисельності каналців із злущеним епітелієм, зниження індексу сперматогенезу та чисельності нормальних сперматогоній у каналі. Лікувально-профілактичне введення глюкозаміна гідрохлориду (3 група), на фоні серотонінового ураження яєчок позитивно вплинуло на морфоструктуру яєчок щурів, (таблиця 4).

Таблиця 4

Вплив глюкозаміна гідрохлориду на показники сперматогенезу щурів за умов експериментального порушення сперматогенезу серотоніном  $\bar{X} \pm S_x$ , n=10

Група тварин	Показники		Кількість канальців зі злушенням епітелієм, %	Індекс сперматогенезу, бали
	Кількість сперматогоніїв у канальці	Кількість канальців з 12-ю стадією мейозу, %		
1 група	62,47±0,54	3,29 (2-4)	0,86 (0-2)	3,29 (3,24-3,33)
2 група	47,85±3,39*	4,44 (1-7)	6,00* (3-11)	2,90* (1,86-3,23)
3 група	56,42±0,42	3,89 (3-5)	1,56** (1-3)	3,27** (3,25-3,3)

Примітка - \* відхилення показник\* статистично значуще щодо даних групи негативного контролю,  $p < 0,05$

\*\* – відхилення показника статистично значуще щодо даних групи позитивного контролю,  $p < 0,05$

Візуально на зрізах було вімічено незаперечно більше канальців з більш широкою смугою сперматогенного епітелію (не менш 5-6 рядів статевих клітин), більшою щільністю розташування статевих клітин у самому канальці, а також значно менше сім'яних канальців з відривом статевих клітин від внутрішньої поверхні власної оболонки. Сім'яні канальці були більш щільно розташовані відносно один до одного. Злушення клітин у просвіт мале місце лише у декількох канальцях, і це були окремі клітини, а не пласти чи групи, як на фоні серотонінового ураження яєчок. У просвіті деяких канальців простежувалась наявність клітин-шарів, але вони також були поодинокі. Було відмічено зменшення кількості канальців із залишковими тільцями у просвіті. Морфологічна характеристика гландоцитів практично повністю відповідала негативному контролю (Фіг.1е-ж).

Таким чином, аналіз отриманих даних показує, що при застосуванні глюкозаміна гідрохлориду нормалізується кровопостачання гонад, збільшується і, відповідно, відновлюється порушена трофіка статевих клітин, знижуються дістрофічні процеси у яєчках щурів, що призводить до корекції порушень сперматогенезу. Тому, аміноцукор глюкозаміна гідрохлорид може розглядатися як потенційний коректор при окремих формах репродуктопатій і сперматопатій та порушеннях сексуального здоров'я у чоловіків.

Список використаних джерел:

1. Лесовой В.Н. Аркатов А.В., Книгавко А.В., Пономаренко Н.С. Лечение экскреторно-токсического бесплодия, вызванного хламидийной инфекцией// Здоровье мужчины. - 2007. - Т. 20, № 1. - С. 129-132.
2. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению// Под ред. В.И. Кулакова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. - 616 с.
3. Бондаренко В.А. Опыт совместного применения андриола и витамина Е при лечении некоторых гипофункциональных состояний семенников у мальчиков и мужчин// Актуальні проблеми ендокринології: Тези лекцій 45-ї щорічної наук.-практ. конф., Харків, 24-26 жовтня, 2001 р. - Харків, 2001. - С. 7-8.

кринології: Тези лекцій 45-ї щорічної наук.-практ. конф., Харків, 24-26 жовтня, 2001 р. - Харків, 2001. - С. 7-8.

4. Пат. 2002111361/14, WO 01/22961, CN 00/00087 Новые применения модафинила и его D/L-энантиомеров / ФУ Юнчанг (CN). - № 2002111361/14; Заяв. 04.12.00; Опубл. 10.12.03, Бюл. № 9. - 4 с.

5. Министерство здравоохранения Канады утвердило новую информацию об осложнениях применения модафинила (Алертека) <http://www.labclinpharm.ru/news.html>.

6. Зупанец И.А., Дроговоз С.М., Яковлева Л.В. и др. Физиологическое значение глюкозамина// Физиологический журнал. - 1990. - Т. 36, № 2. - С. 115-120.

7. Компанцев В.А., Алябьев А.А., Маринина Т.Ф., Сергиенко А.В., Ивашев М.Н. Композиция - лекарственная форма противоартрозного средства глюкозамин гидрохлорида для ректального применения. Заявка № 2004111912/15 (012700) приоритет изобретения 19.04.2004г.

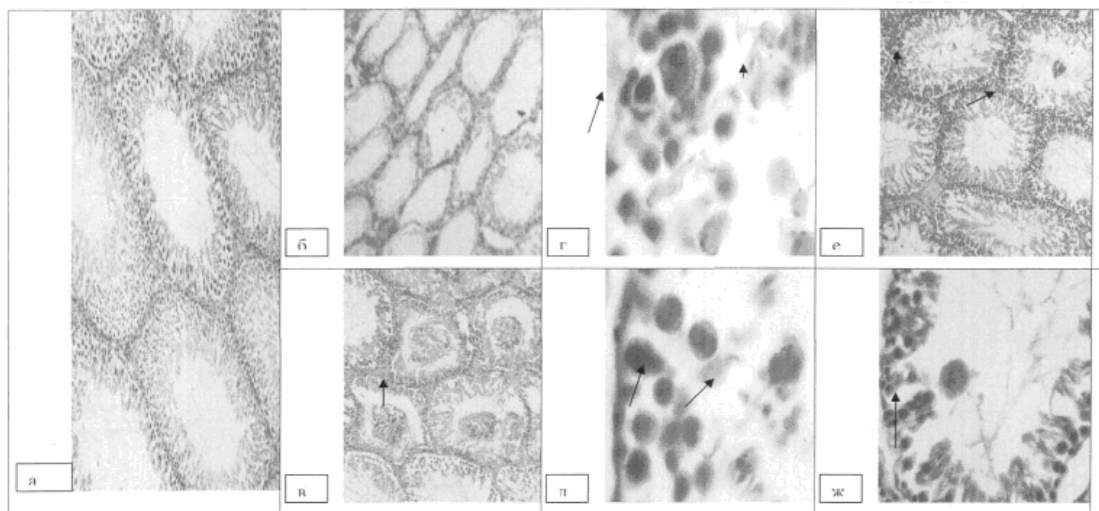
8. Бутенко І.Г., Лар'яновська Ю.Б. Корекція препаратами йохімбе-генез та йохімбе-гармонія порушень сперматогенезу у щурів, викликаних серотоніном// Експериментальна та клінічна медицина. - 2000. - № 3. - С. 18-21.

9. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)// За ред. О.В. Стефанова. -К.: Авіцена, 2001. - 528с.

10. Бокуняева Н.И. Выделения половых органов// Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования / Под ред. Е.А. Кост. -М.: 1975. - С. 331-340.

11. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel. - 2001. - 320с.

12. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. -М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. - 1969. - 424 с.



Фіг. 1 - Яєчко щура: інтактного (а - норма); якому вводили серотонін (б - спустошення ряду каналців, припинення сперматогенезу на стадії сперматоцитів, в - злушення епітелію, г-д - багат шарові структури); якому вводили глюкозаміна гідрохлорид (е - злушення окремих груп клітин у поодиноких кальцях, ж - поодинокі клітина-шар).  
Гематоксилін-еозин. а,б,в,е,з,і x100 г,д,ж - імерсія