



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 86662

(13) U

(51) МПК

A61P 15/08 (2006.01)

A61K 38/02 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 07634**
(22) Дата подання заявки: **17.06.2013**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.01.2014**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.01.2014, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):
**Бречка Наталія Михайлівна (UA),
Малова Наталія Георгіївна (UA),
Стрельников Леонід Семенович (UA),
Івахненко Олена Леонідівна (UA),
Щербак Олена Валентинівна (UA),
Стрілець Оксана Петрівна (UA),
Калюжная Ольга Сергіївна (UA),
Іваннікова Світлана Валентинівна (UA),
Комарова Ірина Володимирівна (UA),
Селюкова Наталія Юріївна (UA),
Почерняєва Софія Сергіївна (UA),
Сиротенко Лариса Анатоліївна (UA),
Стебліна Ольга Валеріївна (UA),
Спиридонов Андрій Володимирович (UA),
Курилко Юлія Сергіївна (UA)**
(73) Власник(и):
**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ.
В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
вул. Артема, 10, м. Харків, 61002 (UA)**

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ІНДУКОВАНИХ ЦИТОСТАТИКОМ ПОРУШЕНЬ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ

(57) Реферат:

Спосіб корекції індукованих цитостатиком порушень сперматогенезу у щурів включає введення медичних препаратів. Статевозрілим самцям щурів, на фоні дії цитостатику, вводять препарат "Біоглобін-У" внутрішньом'язово один раз на добу у дозі 200 мкл/кг протягом 33 діб.

UA 86662 U

Корисна модель належить до експериментальної медицини, і може бути використана при розробці засобів для лікування неплідності і відновлення функціонального стану сперматогенезу після застосування цитостатиків.

Відновлення сперматогенної функції неплідних чоловіків має як медичне, так і соціальне значення, оскільки це пов'язано з проблемою збереження репродуктивного здоров'я населення більшості країн Європи, у тому числі й України [1, 2]. В андрологічній та урологічній практиці часто застосовуються цитостатичні препарати для терапії запальних процесів статевих органів (орхіт, орхіепідидиміт, простатит, туберкульоз статевих органів, тощо). Застосування таких препаратів призводить до токсичного впливу на процеси сперматогенезу [1-3]. Отже, необхідним є пошук препаратів, які стримують негативний та токсичний вплив антибіотиків з цитостатичною дією та покращують сперматогенез.

На сьогодні в лікуванні статевих розладів використовуються різноманітні гормональні та негормональні засоби (вітаміни групи Е і С, полівітаміни, препарати цинку), засоби, що поліпшують регіональний кровотік (трентал, актовегін); ряд біологічно активних харчових добавок; гонадотропіни (прегнів, профазі, пергонал, меногон); антиестрогени; препарати тестостерону (андріол, провірон), засоби на основі лікарських трав (трибестан) [4]. Але подібна терапія досить часто неефективна і не завжди сприяє нормалізації сперматогенезу у чоловіків. Тому, на сьогодні важливим є пошук нових терапевтичних підходів до лікування репродуктивних порушень [5-8].

В основу корисної моделі поставлено задачу розробки ефективного способу корекції порушень сперматогенної функції у ссавців, що індуковані застосуванням цитостатику.

Поставлена задача вирішується тим, що статевозрілим самцям щурів на фоні дії цитостатику вводять препарат "Біоглобін-У" внутрішньом'язово один раз на добу у дозі 200 мкл/кг протягом 33 діб.

Технічний результат - зменшення токсичного ефекту цитостатичного впливу на сперматогенну функцію, що призводить до поліпшення ознак репаративної регенерації сперматозоїдів.

В останні роки досить актуальним є призначення препаратів біогенних стимуляторів (муміє, прополіс, екстракт алое) при лікуванні різних патологій. Основна особливість їх застосування полягає в тому, що вони викликають активацію різних захисних систем організму, головним чином ферментних систем, імунобіологічної реактивності, нормалізацію гормональних функцій тощо. Завдяки індукції, репресії, інгібіції, підвищенню енергетичного рівня різних ферментів вони впливають на метаболізм організму, чим і пояснюється широта діапазону їхньої дії [9-10]. Одним з таких препаратів є "Біоглобін-У" (протеїнізований водно-сольовий екстракт з плаценти людини до складу якого входять - поліпептиди 3,5-7 %, амінокислоти 50-60 %, аміноцукри 4-5 %, гексуронові кислоти 8-9 %) [11]. Використання препарату "Біоглобін-У" при гострому та хронічному простатиті перешкоджає дегрануляції тканинних базофілів, тому останнім часом його широко застосовують в урологічній практиці [10].

Спосіб апробовано на білих статевозрілих самцях щурів з початковою масою 340-380 г.

Тварини були розподілені на 3 групи: 1 група - негативний контроль (інтактні щури), 2 група - позитивний контроль (контрольна патологія), 3 група - тварини, які на фоні дії цитостатику отримували "Біоглобін-У".

Для моделювання цитостатичного ураження яєчок, тваринам внутрішньоочеревинно вводили доксорубіцин у дозі 2 мг/кг один раз на тиждень (введення 3 тижні).

"Біоглобін-У" починали вводити за три дні до введення цитостатику, потім три тижня на тлі його та протягом 6 днів поспіль (всього 33 дні). Введення проводили внутрішньом'язово один раз на добу у дозі 200 мкл/кг. Введення цитостатиків здійснювалося з розширенням терміну експозиції [12].

Евтаназію щурів проводили методом декапітації на 34-ту добу експерименту. Дослідження проводилися відповідно до національних „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах“, які узгоджуються з положеннями „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей“ [13].

Виділяли та зважували гіпофіз, сім'яники (СМ) та їх придатки, вентральну передміхурову залозу (ВПЗ) та сім'яні пухирці (СП).

У суспензії придатків сім'яників оцінювали показники морфофункціонального стану сперматозоїдів (кількість, рухливість, патологічні форми та час збереження рухливості спермів) [14].

Сім'яники щурів всіх груп фіксували у 10 % розчині формаліну, проводили по спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін [15-16]. На зрізах, які фарбували

гематоксиліном та еозином, окрім оглядової мікроскопії, проводили морфометричну оцінку процесу сперматогенезу.

Статистичну обробку цифрових даних проводили параметричними та непараметричними методами з використанням критеріїв Ст'юдента та Вілкоксона-Манна-Уїтні за допомогою програми Statistica 5,0 [17].

Отримані дані наведені в таблиці.

Як видно з наведених даних, під дією цитостатичного впливу доксорубіцину гідрохлориду спостерігалися зміни маси органів-мішеней для андрогенів, у групі тварин позитивного контролю (2 група) маса сім'яників зменшувалася майже на 60 %, маси ВПЗ та СП на 50 %.

Це свідчить про негативний цитостатичний ефект доксорубіцину.

Таблиця

Вплив "Біоглобіну-У" на морфофункціональні показники сперматозоїдів та масу органів щурів, з гонадопатією, що викликали цитостатиком доксорубіцину гідрохлорид, $(\bar{X} \pm S\bar{x})$

Показник	Група тварин		
	1. Негативний контроль	2. Позитивний контроль	3. Цитостатичне ураження яєчок + "Біоглобін-У"
Морфо-функціональні показники (n=8)			
Кількість сперматозоїдів, млн/мл	52,00±2,81	38,38±3,34*	40,88±4,34*
Патологічні форми, %	19,00±1,52	29,38±1,52*	25,00±2,37*
Рухомість спермійів, %	71,88±3,26	48,13±3,26*	55,63±3,46
Час збереження рухливості спермійів, хв	288,75±15,97	198,75±10,21*	267,50±20,04*/**
Маса органів (n=8)			
Сім'яники, мг	2893,75±60,83	1631,25±71,34*	1875,00±132,96*
Вентральна частина передміхурової залози, мг	827,50±39,82	489,25±26,97*	507,50±19,43*
Сім'яні пухирці, мг	1118,75±66,80	668,75±56,65*	918,75±58,50*/**
Епідидиміси яєчок, мг	1129,38±52,41	931,25±74,96	1050,00±63,39
Гіпофіз, мг	7,13±0,35	7,75±0,45	7,38±0,38

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

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

При введенні препарату "Біоглобін-У" спостерігалася нормалізація маси такого важливого органа чоловічої репродуктивної системи, як СП, секрет яких є енергетичним субстратом для сперматозоїдів, що в свою чергу покращує фертильність статевих клітин.

При дослідженні морфофункціонального стану сперматозоїдів, відмічено значне зниження кількості сперматозоїдів, рухомості та часу збереження рухливості і збільшення патологічних форм спермійів в групі щурів з модельованим цитостатичним ураженням яєчок (2 група). При введенні "Біоглобіну-У" відбувається значне покращення часу збереження рухливості сперматозоонів, цей факт свідчить про певне нівелювання токсичного ефекту цитостатика на статеві клітини.

Морфологічні дослідження сім'яників показали, що на відміну від інтактного контролю (фіг. 1) після введення доксорубіцину у тварин спостерігається порушення процесу сперматогенезу різного ступеня тяжкості. В першу чергу страждають стовбурові клітини, так як відбувається прогресуюче спустошення клітинної популяції сперматогоній та сперматоцитів 1-го порядку, пригніблення процесів подальшого дозрівання статевих клітин. Статеві клітини більш пізніх етапів розвитку, що знаходилися у канальцях на момент дії токсину, частково зазнають деструктивних та дистрофічних змін і елімінують, але і можуть зазнавати менш руйнівних

пошкоджень і продовжувати свій подальший розвиток. Пригнічення сперматогенезу супроводжується певною перебудовою ендокринної частини яєчок (фіг. 2).

Проведена кількісна оцінка процесу сперматогенезу підтвердила майже повне припинення його після введення цитостатику. Насамперед це пов'язано з різким зниженням кількості сперматогоній (0,54 на один канадець при 59,85 у інтактного контролю), бо саме вони забезпечують безперервність сперматогенного циклу протягом всього репродуктивного періоду життя.

Введення "Біоглобіну У" знижувало виразність порушень процесу сперматогенезу, сприяло відновленню епітелію, але всі ці позитивні зміни у стані сперматогенної тканини у різних щурів варіювали за виразністю. Навіть у одного і того ж щура часто простежували вогнищевість у розташуванні клітин у стінці каналця, прогалини в стрічці епітелію. В цілому ж власна оболонка каналців залишається цілою, суспензії не змінні. В каналцях більше сперматогоній та сперматоцитів, видні мітози клітин у деяких каналцях. Менша деградація, злущення збережених статевих клітин пізніх генерацій розвитку (що вижили після введення токсину), відсутні клітини-кулі. У міжканальцевих локусах значно збільшено кількість інтерстиціальних ендокриноцитів (фіг. 3).

Морфометричні показники стану сім'яродного епітелію у щурів після профілактично-лікувального введення "Біоглобіну У" також свідчать про доволі виразні ознаки репаративної регенерації: відновлення у каналцях сперматогоній (11,48 на каналець) та сперматоцитів вірогідно збільшили індекс сперматогенезу відносно контрольної патології - у 7,76 разу, виявлені ознаки появи мейотичної активності (0,75 %).

На підставі отриманих даних можна зробити висновок, що при лікувально-профілактичному режимі введення "Біоглобін-У" знижує токсичну дію цитостатику на статеві клітини і в першу чергу на стовбурові клітини, внаслідок чого, в певній мірі відновлюється початкова стадія сперматогенезу - популяція сперматогоній та сперматоцитів 1-го порядку, підвищується мейотична активність. Препарат "Біоглобін У" зменшує токсичний вплив і на статеві клітини на більш пізніх етапах розвитку, що під час дії токсину знаходилися у каналцях та перешкоджає їх деструкції та елімінації.

Таким чином, розроблений спосіб сприяє відновленню сперматогенної функції, що зазнала ушкодження при застосуванні цитостатику.

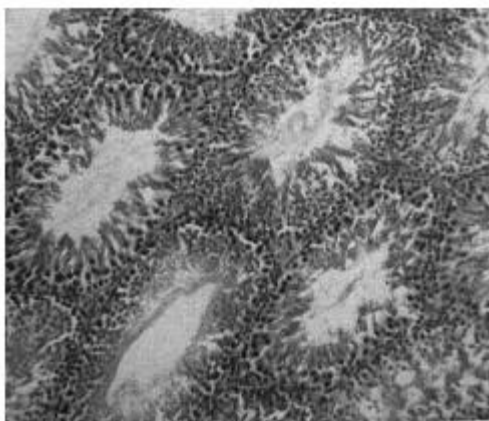
Джерела інформації:

1. Гаврилюк А.М., Мужской фактор в патогенезе женского бесплодия [Текст] / А.М. Гаврилюк, В.В. Чопяк, А.И. Наконечный, Курпиш М. // Медицинские аспекты здоровья мужчины.- 2012. - Т. 3, № 1. - С. 42-48.
2. Гойда Н.Г., Нормативно-правовое регулирование деятельности службы планирования семьи и сохранения репродуктивного здоровья [Текст] / Н.Г. Гойда, О.Ю. Бисярин// Український медичний часопис- 2012.- Т. 90, №4.-С. 20-25.
3. Камышан И.С., Роль лимфотропной химиотерапии в восстановлении фертильности у мужчин при туберкулезе половых органов [Текст] / И.С. Камышан, П.И. Степанов // Материал. IV Всесоюз. Съезда урологов. - М., 1990.-С. 476.
4. Калинин С.Ю., Практическая андрология [Текст] / С.Ю. Калинин, И.А. Тюзиков.- М.: Практическая медицина, 2009.-399 с.
5. 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.
6. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению [Текст] / под ред. В.И.Кулакова.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005.-616 с.
7. 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.
8. Фитотерапия больных с синдромом нижних мочевых путей [Текст] / В.Ф. Куликовский, Н.В. Олейник, П.Г. Осипов, О.И. Степченко // Современные наукоемкие технологии.-2009. - № 6. - С. 41-42.
9. Россихин В.В., Возможности биокоррекции в урологии и андрологии / Ю.И. Козин, В.В. Россихин // Научное и практическое значение биоглобина в медицине, как бионормализатора: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием. - Х., 2001. - С.5-8.
10. Оценка эффективности биоглобина у больных хроническим пиелонефритом/ Ю.И. Козин, В.В. Россихин и др. // Научное и практическое значение биоглобина в медицине как бионормализатора: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием - Х., 2001. - С. 9-15.

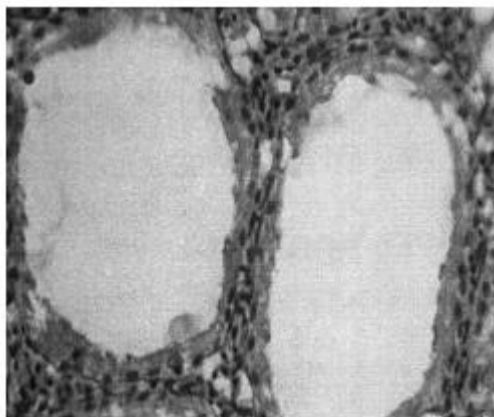
11. Шитов Г.Г., Научное и практическое значение биоглобина в медицине, как бионормализатора [Текст] / Г.Г. Шитов /Мат. науч.-практ. конф. - Х., 2001.-74 с.
12. Холодкова О.Л., Особливості патогенезу порушень морфофункціонального стану репродуктивної системи самців та самок експериментальних тварин та їх корекція за допомогою регенеративних технологій.- Автореф. дис.д.м.н. УДК 612.6:614.87:612-092.9.- Одеса.-2010.-36 с
- 5 13. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // Ендокринологія.-2003. - Т. 8, № 1. - С 142-145.
14. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) [Текст] / за ред. О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001.-528 с.
- 10 15. Меркулов Г.А., Курс патологогистологической техники [Текст]/ Г.А. Меркулов. - М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969.-424 с.
16. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин: [Текст] (метод, рекомендації) /1. Р. Баріляк, Л.В. Неумержицька, Т.Ф. Бишовець, В.С Даниленко. - К., 2000.-24 с.
- 15 17. Райцина С.С., Современные проблемы сперматогенеза [Текст] / С.С. Райцина. - М.: Медицина, 1982. - С. 73-107.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 20 Спосіб корекції індукованих цитостатиком порушень сперматогенезу у щурів за допомогою медичних препаратів, який **відрізняється** тим, що статевозрілим самцям щурів, на фоні дії цитостатику, вводять препарат "Біоглобін-У" внутрішньом'язово один раз на добу у дозі 200 мкл/кг протягом 33 діб.



Фіг. 1



Фіг. 2

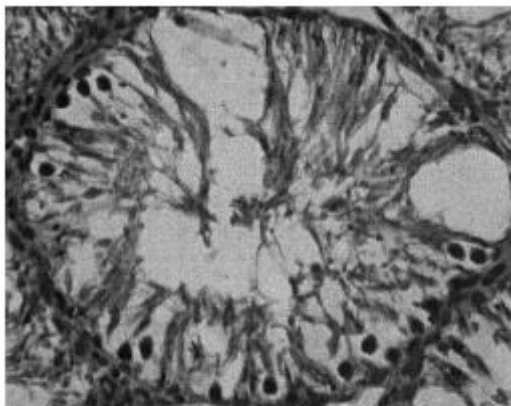


Fig. 3

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601