

АНОТАЦІЯ

Мараховський І. О. Застосування вітаміну D для терапії порушень функції чоловічих статевих залоз (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (галузь знань 09 Біологія). – Державна установа «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», Харків, 2023.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу вітаміну D на експериментальних моделях, які відображають найбільш розповсюджені в клінічній практиці варіанти безпліддя у чоловіків, до яких відносять тестикулярні ураження, а також хронічні запальні процеси в передміхуровій залозі (ПЗ) та сім'яних пухирцях.

Актуальність даного дослідження обумовлена кількістю випадків безплідних подружж, які у промислово розвинутих країнах світу складають приблизно від 10 до 15 %. При цьому аномальні параметри сперми, які є важливими чинниками гіпофертильності, спостерігаються майже у половини безплідних пар. В ідіопатичних випадках причиною безпліддя може бути дефіцит або недостатність вітаміну D. Хронічний дефіцит вітаміну D негативно впливає на сперматогенез шляхом порушення функції клітин Сертолі та Лейдіга. Доведено, що вітамін D необхідний для адекватної продукції стероїдних гормонів. Все це свідчить, що при дефіциті вітаміну D у чоловіків може розвиватися порушення репродуктивної функції. Тому необхідність дослідження впливу вітаміну D на статеву сферу особин чоловічої статі особливо за умов її порушення є вкрай актуальним.

Для теоретичного обґрунтування застосування вітаміну D при різних варіантах безпліддя у чоловіків було відтворено дві моделі гіпофертильності, одна з яких була представлена експериментальним простатитом (холодова модель), а друга – являла собою ураження сім'яників (так звана «серотонінова гонадопатія»).

В результаті моделювання експериментального простатиту (ЕП) виникала простатопатія, яка супроводжувалась порушенням репродуктивної функції та статевої поведінки самців. Пероральне використання вітаміну D (холекальциферолу) в якості монокорекції мало позитивний вплив на вміст ТБК-активних продуктів. У щурів під впливом вітаміну D збільшувались показники залицяльної поведінки. Параметри спермограм та вміст статевих гормонів суттєво не змінювались. Однак мало місце посилення реалізації дії ендогенного тестостерону на сім'яні пухирці, а також відмічався позитивний вплив на гістоструктуру ПЗ експериментальних тварин.

Корекція простатопатії шляхом застосування вітаміну D *per os* разом із простатопротектором Простатиленом позитивно впливала на масу органів репродуктивної системи. Вміст метаболітів циклу азоту в сироватці крові нормалізувався. Застосування простатопротектору разом із вітаміном D у такий спосіб нормалізувало концентрацію сперматозоїдів, підвищувало відсоток рухливих форм статевих клітин, значно знижуючи відсоток патологічних форм сперміїв, відновлювався індекс запліднення та вагітності у самок, що були запліднені самцями цієї групи, зменшуючи загальну внутрішньоутробну втрату плодів. Підвищувався інтегральний показник кількості плодів на самку по відношенню до такого у тварин, що отримували розчинник або один вітамін D.

Відзначалось збільшення кількості інтромісій, позитивні зміни як залицяльної, так і копулятивної поведінки у тварин групи, що отримували Простатилен та вітамін D *per os*.

У гістоморфологічній структурі ПЗ через 21 добу після кріотравмування при використанні комбінованого введення вітаміну D *per os* та Простатиліну ознаки фіброзу ПЗ у всіх досліджених самців цієї групи були зменшені, спостерігалось відновлення типового розміру переважної більшості ацинусів простатичних залозок. Дуже виразно зменшилася запальна реакція та ознаки огрубіння строми, морфометричні показники та стан сперматогенезу в сім'яниках були у межах фізіологічної норми.

Використання фармкомпозиції з протатопротектором та вітаміном D у вигляді ректального гелю призводило до зниження показників запалення, приводячи ШОЕ до значень референтних показників. Рівень внутрішньоутробних втрат у вагітних самок, запліднених самцями, що отримували таку комбінацію препаратів у такий спосіб, знизився до значень групи Контроль. Спостерігалось зменшення кількості патологічних форм сперматозоїдів.

Таким чином дослідження виконане на щурах зі змодельованим ЕП показало ефективність додавання вітаміну D у схеми корекції розладів інкреторної, генеративної та копулятивної функції особин із гіпофертильністю унаслідок запалення ПЗ.

У другій серії експериментальних досліджень було відтворено експериментальну гонадопатію (ЕГП), яка супроводжувалась порушенням репродуктивної функції.

Корекція цього патологічного стану лише вітаміном D не покращила генеративну функцію самців відносно ЕГП. Водночас у статевій поведінці самців із серотоніновим ураженням яєчок при застосуванні вітаміну D збільшувалась частка щурів спроможних до спарювання та зростала кількість інтромісій. На гістологічних препаратах самців з ЕГП, які отримували вітамін D, виявляли поліпшення стану клітин Сертолі. Зафіксована також активація функціонування клітин Лейдіга, що є

найбільш ймовірною причиною підвищення андрогенного статусу тварин. За ефектом позитивного впливу на морфологічний стан сім'яників, вітамін D при окремому введенні практично не поступався референтному препарату (екстракту якірців сланких), а при комплексному застосуванні з ними ефект потенціювався.

Комбіноване використання вітаміну D сумісно з препаратом, що містить екстракт якірців сланких (Трібестан), при експериментальній серотоніновій гонадопатії супроводжується нормалізацією маси гонад, придатків сім'яників, гіпофізів, покращує репродуктивний потенціал самців, відновлюючи їхню фертильність та плідність, більш суттєво зменшує дистрофічно-деструктивні прояви з боку статевих клітин, покращує рівень андрогенного статусу організму, всіх показників спермограми та позитивно відображається на елементах статевої поведінки, які регулюються як на центральному, так і периферійному рівнях. Сумісне застосування вітаміну D разом із Трібестаном більш ефективно щодо корекції репродуктивного потенціалу самців із гонадопатією, ніж один із зазначених компонентів.

В дисертаційній роботі були отримані нові наукові положення, а саме: вперше встановлено, що холекальциферол при застосуванні його *per os* сприяє посиленню реалізації дії екзогенного тестостерону на сім'яні пухирці та позитивно впливає на гістоструктуру ПЗ за умов моделювання її запалення в експерименті. Вперше показано, що ректальне застосування фармкомпозиції Простатилену та холекальциферолу суттєво зменшує кількість патологічно змінених форм сперміїв та є ефективним стосовно спарювальної функції самців щурів з експериментальним простатитом. Доведено, що сумісне застосування холекальциферолу та Простатилену посилює репродуктивну здатність сперми самців щурів зі змодельованим запаленням ПЗ. Вперше встановлено, що холекальциферол потенціює антиоксидантні та простатопротекторні властивості Простатилену, що є

передумовою для відновлення репродуктивної функції особин чоловічої статі за наявності простатиту.

Вперше доведено, що холекальциферол при застосуванні його самцям щурів із серотоніновим ураженням яєчок нормалізує кількість сперматогоніїв та індекс сперматогенезу. Показано, що за ефектом позитивного впливу на морфологічний стан сім'яників холекальциферол не поступається якірцям сланким, а при комплексному їх застосуванні у експериментальних тварин ця позитивна дія потенціюється. Встановлено, що сумісне введення холекальциферолу та якірців сланких самцям щурів із гонадопатією позитивно впливає на всі показники спермограм. Результатом цього стало суттєве зростання кількості живих плодів у самок, які були запліднені самцями із серотоніновим ураженням яєчок. Вперше встановлено, що застосування комбінацій холекальциферолу та якірців сланких самцям щурів із гонадопатією сприяє нормалізації тестостерон-естрадіолового співвідношення.

Проведені дослідження є основою для обґрунтування застосування препаратів вітаміну D в комплексних схемах терапії чоловічих репродуктопатій обумовлених хронічним простатитом та ураженням статевих залоз.

Запропоноване комплексне використання вітаміну D разом із простатопротектором Простатиленом буде сприяти більш суттєвому зменшенню інтенсивності запального процесу, відновленню гістоструктури ПЗ, що є підґрунтям для нормалізації андрогенного статусу та сперматогенезу за умов наявності хронічного простатиту.

Результати роботи можуть бути підґрунтям для рекомендацій щодо використання холекальциферолу з якірцями сланкими для лікування тестикулярних варіантів чоловічої неплідності.

Результати дисертаційних досліджень упроваджено в навчальний процес низки закладів вищої освіти фармацевтичного і медичного профілю України.

Ключові слова: Репродуктивна система, вітамін D, гістоструктура статевих залоз та передміхурової залози, сперматогенез, фармацевтична композиція, гонадотоксичність, простатит, фертильність, статеві гормони, тестостерон, естрадіол, недостатність вітаміну D, еректильна дисфункція, патоспермія, гормональний статус, андрогенна недостатність, гіпогонадізм.

ABSTRACT

Marakhovskiy I.O. The use of vitamin D for the therapy of disorders of the function of males' gonads (experimental research). – The manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 09 «Biology» (091 – Biology). – State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv, 2023.

The dissertation is devoted to the study of the impact of vitamin D on experimental models that reflect the most widespread in clinical practice variants of males' infertility, which include testicular lesions, as well as chronic inflammatory processes in the prostate gland (PJ) and seminal vesicles.

The actuality of this study is determined by the number of cases of infertile marriages, which are approximately from 10 to 15% in the industrialized countries of the world. At the same time, abnormal sperm parameters, which are important factors of hypofertility, are observed in almost half of infertile couples. In idiopathic cases, the deficiency or insufficiency of vitamin D may be the cause of infertility. Chronic deficiency of vitamin D negatively affects the spermatogenesis by disrupting Sertoli and Leydig cells functioning. It has been proven that vitamin D is required for adequate production of steroid hormones.

All of this suggests a deficiency of vitamin D may cause the disturbances of reproductive function in men. Therefore, the necessity of studying the impact of vitamin D on the sexual sphere of males, especially under the conditions of its impairment, is extremely urgent.

For theoretical substantiation of vitamin D using in various cases of infertility in men, two models of hypofertility were reproduced, one of which was represented by experimental prostatitis (cold model), and the second was the testicular damage (the so-called «serotonin gonadopathy»).

As a result of modeling of experimental prostatitis (EP), the prostate pathology accompanied by impaired reproductive function and sexual behavior of males has occurred. The oral administration of vitamin D (cholecalciferol) as a monotherapy has had a positive effect on the concentration of TBC-active products. The indicators of courtship behavior have improved in rats under the influence of vitamin D. The parameters of sperm analysis and sex hormone concentration haven't significantly changed. However, the increasing of the endogenous testosterone' influence on the seminal vesicles and a positive effect on the testicles histostructure of the experimental animals were also detected.

The correction of prostate gland pathologies by using of vitamin D in combination with the prostate protector Prostatilen per os has positively affected masses of the reproductive system' organs. The content of nitrogen cycle metabolites in blood serum has normalized. The using of prostate protector together with vitamin D has normalized the concentration of spermatozoa, the percentage of motile forms of germ cells has increased, the percentage of pathological forms of sperm has significantly reduced, the index of fertilization and pregnancy was restored in females that has been fertilized by males of this group, reducing the total intrauterine loss of fetuses. The integral indicator of number of fetuses per female has increased in comparison to animals that have received solvent or one vitamin D.

The number of intromissions has increased; the positive changes in mating behaviour as well as in the copulation in group of animals which received Prostatilen and vitamin D per os have been detected.

The signs of fibrosis in histomorphological structure of the prostate gland in all examined males which received oral combination of vitamin D and Prostatilen after 21 days of cryotrauma have diminished. The restoring of typical size of the majority of prostate acini has been observed. The inflammatory reaction and signs of stroma thickening were significantly reduced; the morphometric indices and condition of spermatogenesis in the testicles were within the normal values of physiological parameters.

The using of pharmaceutical composition of prostate protector and vitamin D in the form of rectal gel has led to decreasing of erythrocytes sedimentation rate (ESR) and inflammation to the values of reference indices. The level of intrauterine losses in pregnant females inseminated by males which have been treated by oral composition of drugs has decreased to the values of the Control group. A declining of number of pathological forms of spermatozoa was observed.

Thus, the investigation carried out in rats with induced endocrine pathology (EP) has shown the effectiveness of adding of vitamin D to the schemes of treatment of disorders of incretory, generative and sexual function of the individuals with hypofertility caused by prostate gland inflammation.

During second part of experimental studies, the experimental gonadopathy (EGP) accompanied by disturbances of reproductive function has been reproduced.

The correction of this pathological condition with vitamin D as a monotherapy did not improve the generative function of males in compare to EGP. At the same time, after vitamin D administration the sexual behaviour of males with serotonin induced testicles damage has improved – the number of rats which are able for mating and quantity of intromissions have increased. The

histological preparations have shown the condition of Sertoli cells of rats' males with EGP which obtained cholecalciferol has improved. The activation of Leydig cell functioning was observed, which was the most likely reason of increasing of androgenic status of animal organism. As for positive influence on the testicles morphology, the vitamin D administered separately, hasn't practically conceded to the reference drug (Tribulus Terrestris extract), and the effect has potentiated when vitamin D has been used in combination with it.

The combined using of vitamin D and drug containing Tribulus Terrestris extract (Tribestan) in the experimental serotonin gonadopathy has led to normalization of the mass of gonads, epididymis, pituitary glands; has improved the reproductive capacity of males, recovering their fertility and fecundity; has significantly reduced dystrophic and destructive processes in germ cells; has improved androgenic status of the organism and all spermogram' indices and has had a positive effect on the elements of sexual behaviour, which are regulated at central as well as peripheral levels. The combined use of vitamin D and Tribestan was more effective as for correction of reproductive potential of males with gonadopathy than each of these components used alone.

The new scientific propositions were obtained during carrying out this dissertation work: it has been originally established that cholecalciferol applied per os, has helped to enhance the effect of exogenous testosterone on the seminal vesicles and has positively affected the histostructure of the testicles under the conditions of their experimental inflammation. For the first time, it has been detected that the rectal application of the pharmaceutical composition of Prostatilen and cholecalciferol has significantly reduced the number of pathologically altered forms of sperm and was effective in relation to the mating function of male rats with experimental prostatitis. It has been proven that the combined using of cholecalciferol and Prostatilen increased the reproductive capacity of sperm of male rats with the simulated prostate gland inflammation. For the first time, it was established that cholecalciferol has potentiated the

antioxidant and prostate gland protective properties of Prostatilen, which can be considered to be the premise of recovering of the reproductive function of males with prostatitis.

It has been initially proven that cholecalciferol administered to male rats with serotonin induced damage of testicles, has normalized the number of spermatogonia and the index of spermatogenesis. It has been shown that cholecalciferol hasn't conceded to the Tribulus Terrestris extract by its positive effect on the morphological parameters of the testicles, and this positive effect has been potentiated by complex using of these drugs in experimental animals. It has been established that the combined administration of cholecalciferol and Tribulus Terrestris extract in male rats with gonadopathy has had a positive effect on spermogram indices. The significant increasing of number of alive fetuses in females that were fertilized by males with serotonin induced testicles damage has been considered to the result of treatment. For the first time, it has been established that the combined administration of cholecalciferol and Tribulus Terrestris extract in male rats with gonadopathy has led to the normalization of the testosterone-estradiol ratio.

The studies fulfilled are the basis of substantiation of vitamin D using in complex schemes for therapy of male' reproductive system' diseases caused by chronic prostatitis and gonads damage.

The offered combined administration of vitamin D and the prostate gland protector Prostatilen will facilitate the substantial reducing of the intensity of inflammation, recovering of histostructure of prostate gland, which is the basis of the normalization of androgen status and spermatogenesis under the condition of chronic prostatitis.

The results of these scientific researchers can be the basis for recommendations as for combined administration of cholecalciferol with Tribulus Terrestris extract for treatment of testicular depended variants of male infertility.

The results of this dissertation have been implemented into educational process of several pharmaceutical and medical higher education establishments of Ukraine.

Key words: reproductive system, vitamin D, histostructure of gonads and prostate gland, spermatogenesis, pharmaceutical composition, gonadotoxicity, prostatitis, fertility, sex hormones, testosterone, estradiol, vitamin D deficiency, erectile dysfunction, pathospermia, hormonal status, androgen deficiency, hypogonadism.