

ВИКОРИСТАННЯ КУЛЬТУРИ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН ДЛЯ КОРЕКЦІЇ АНДРОГЕННОГО ДЕФІЦИТУ В ЩУРІВ

Доц. І. М. Антонян

Харківська медична академія післядипломної освіти

Наведено результати дослідження альтернативного методу лікування порушення андрогенної дисфункції із застосуванням стовбурових клітин. Моделювання андрогенної дисфункції проводилося на самцях щурів за допомогою $CdCl_2$ у концентрації 150 мкг/100 г маси тіла тварини. Використання культури стовбурових клітин доцільно для лікування порушення андрогенної дисфункції в кількості 200 000 клітин при введенні в кожне яєчко на тлі ураження $CdCl_2$.

ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТУРЫ СТОЛОВОЙ КЛЕТКИ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ АНДРОГЕННОГО ДЕФИЦИТА У КРЫС

Доц. И. М. Антонян

Приведены результаты изучения альтернативного метода лечения нарушения андрогенной дисфункции с использованием стволовых клеток. Моделирование андрогенной дисфункции проводилось на самцах крыс с помощью $CdCl_2$ в концентрации 150 мкг/100 г массы тела животного. Использование культуры стволовых клеток целесообразно для лечения андрогенной дисфункции в количестве 200 000 клеток при введении в каждое яичко на фоне поражения $CdCl_2$.

STEM CELLS CULTURE USING FOR CURERING OF RAT'S SECONDERY MALE HIPOGONADISM

I. M. Antonyan

In the article are results of alternative method therapy of androgen dysfunction with stem cells. The modeling of androgen dysfunction were made with rats males with $CdCl_2$ in 150 mkg/100 g of animal weight concentration. So, the stem cells culture using is rational for androgen dysfunction therapy in the concentration 200 000 cells in the every testicle.

Демографічна проблема 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 майже 50 % за рахунок порушення фертильності [1, 4]. Одним з найпоширеніших чинників цієї дисфункції є зниження рівня тестостерону [6].

Лікування таких пацієнтів проводиться, як правило, за допомогою замісної терапії андрогенами. Однак така терапія не завжди ефективна і дає нетривалий ефект. Крім того, гормонотерапія дуже часто викликає побічні ефекти, зокрема підвищує ризик онкозахворювань, які унеможливають подальше лікування. Не слід також забувати про економічний аспект будь-якої терапії: ефективна терапія тестостероном коштує досить дорого. Тому актуальною є проблема пошуку нових методів лікування андрогенного дефіциту.

Останнім часом при лікуванні різних патологічних станів багато вчених звертаються до використання стовбурових клітин. Не є винятком і урологія [5, 7]. Експериментальні дані свідчать про те,

що використання стовбурових клітин дає стійкий ефект і приводить до нормалізації сперматогенезу [2].

Мета експерименту — підібрати ефективну кількість стовбурових клітин для лікування гіпогонадизму щурів. Для цього нами було використано модель захворювання, створену за допомогою кадмію хлориду ($CdCl_2$).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Моделювання гіпогонадизму проводилося на статевозрілих щурах-самцях, яких розділили на 5 груп, серед яких 1-ша група — інтактна, 2–5-та групи отримали $CdCl_2$ в концентрації 150 мкг/100 г ваги тварини для моделювання експериментальної патології. Концентрацію токсину, яка використовувалась для моделювання патології, було визначено експериментальним шляхом у попередніх дослідженнях. Експериментальна патологія, створена на тваринах 2-ої групи, не піддавалась коригуванню. Тваринам 3-ої групи культуру стовбурових клітин вводили в кожне яєчко у кількості 80 000 клітин, тваринам 4-ої групи — у кількості 100 000 клітин у

кожне яечко, тваринам 5-ої групи — у кількості 200 000 клітин у кожне яечко. Культуру стовбурових клітин отримували згідно з розробленою методикою [3].

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

Достовірність отриманих показників оцінювали за t-критерієм Стьюдента, вірогідною вважали різницю при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після введення самцям шурів токсину рівень Т значно (на 58,5 %) знизився у порівнянні з інтактною групою, рівень Е значно (на 83,3 %) зріс, співвідношення Т/Е значно (на 81,6 %) знизилось, рівень фруктози знизився на 44,7 %. Такі зміни свідчать про те, що андрогенна насиченість організмів піддослідних тварин значно знизилась.

Таблиця 1

Вплив культури стовбурових клітин на показники гормонального стану шурів на моделі ураження $CdCl_2$

Показник	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*
80 000 клітин	15,1 ± 1,3*,**	0,26 ± 0,02**	59,9 ± 4,6*,**	0,89 ± 0,05**
100 000 клітин	19,0 ± 1,4**	0,26 ± 0,02**	78,8 ± 7,2*,**	0,96 ± 0,05**
200 000 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.

Введення тваринам в яечка культури стовбурових клітин на тлі ураження $CdCl_2$ привело до позитивних змін щодо андрогенної насиченості (табл. 1).

При інтратестикулярному введенні тваринам культури стовбурових клітин у кількості 80 000 клітин було відзначено зростання рівня Т та фруктози порівняно з групою негативного контролю: на 23,1 та на 31,1 %, відповідно. Вміст Е знизився на 75,0 %. Відповідно співвідношення Т/Е зросло на 27,4 %.

Введення клітин у кількості 100 000 клітин в кожне яечко викликало позитивні зміни андрогенної насиченості організму порівняно з групою негативного контролю, а саме рівень Т зріс на 45,7 %, фруктози — на 37,9 %, вміст Е знизився на 75,0 %, а співвідношення Т/Е зросло на 41,8 %.

В експерименті з введенням піддослідним тваринам культури стовбурових клітин в кількості 200 000 клітин в кожне яечко спостерігалися такі

зміни андрогенної насиченості організму порівняно з групою негативного контролю: вміст Т зріс на 55,1 %, фруктози — на 42,7 %, вміст Е знизився на 95,8 %, співвідношення Т/Е зросло на 72,7 %.

Крім визначення андрогенного статусу піддослідних тварин нами проводилось вивчення організмів мішеней до андрогенів — сім'яників, ВЧПЗ, придатків яечок та гіпофізу (табл. 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 яечок — на 20,8 %, а маса гіпофізу залишилась незмінною.

Введення піддослідним тваринам культури клітин у кількості 80 000 спричинило такі зміни: порівняно з експериментальною патологією маса сім'яників зросла на 14,3 %, маса ВЧПЗ — на 24,9 %,

Таблиця 2

Вплив культури стовбурових клітин на масу органів-мішеней шурів на моделі ураження $CdCl_2$

Показник	Маса органів, мг				
	Сім'яники, мг	ВЧПЗ, мг	Сім'яні пухирці, мг	Придатки яечок, 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
80 000 клітин	3367,6 ± 20,8**,*	854,7 ± 22,0***	902,3 ± 16,1***	991,7 ± 17,7***	6,7 ± 0,1
100 000 клітин	3418,7 ± 24,5***	902,0 ± 21,3***	926,3 ± 16,8***	1017,7 ± 19,0***	6,6 ± 0,11
200 000 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.

сім'яних пухирців — на 7,5 %, придатків сім'яників — на 12,7 %, маса гіпофізу не змінилась.

Використання клітин у кількості 100 000 привело 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 зменшилась на 1,5 %.

Після введення тваринам клітин у кількості 200 000 було зареєстровано збільшення маси: сім'яників — на 19,2 %, ВЧПЗ — на 37,9 %, сім'яних пухирців — на 15,9 %, придатків — на 18,2 %, гіпофізу — на 1,5 %.

Результати експерименту свідчать про те, що двостороннє інтратестикулярне введення піддослідним тваринам культури стовбурових клітин у кількості 200 000 на тлі ураження тварин $CdCl_2$ привело до найбільш позитивних зрушень щодо андрогенної насиченості організму тварин і зміни маси статевих органів.

ВИСНОВКИ

1. Введення піддослідним самцям щурів культури стовбурових клітин в кількості 80 000, 100 000

та 200 000 в кожне яєчко вірогідно поліпшило основні показники андрогенного дефіциту порівняно з експериментальною патологією: вміст Т, Е, співвідношення Т/Е, фруктози, а також показники маси органів-мішеней (сім'яників, сім'яних пухирців, ВЧПЗ, придатків яєчок).

2. Максимальний ефект був досягнутий при введенні клітин у кількості 200 000 клітин в кожне яєчко. Після введення клітин різниця між експериментальною патологією та лікованими тваринами була така: вміст Т у групі лікованих тварин майже не відрізнявся від інтактної групи, рівень Е був менший, ніж в інтактній групі на 12,5 %, співвідношення Т/Е мало на 8,9 % менший показник, ніж в інтактній групі, вміст фруктози також майже не змінився.

3. У результаті проведеного експерименту було доведено, що використання культури стовбурових клітин є доцільним і *перспективним* при лікуванні андрогенного дефіциту самців щурів у кількості 200 000 клітин при введенні в кожне яєчко.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрология. Мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы: пер. с англ. / Под. ред. Э. Нишлага, Г. М. Бере. — М.: ООО «Мед. информ. агентство», 2005.— 504 с.
2. *Охоботов Д. А.* Влияние культур, обогащенных стволовыми клетками, на сперматогенез при экспериментальном двухстороннем крипторхизме: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.40 / Д. А. Охоботов; НИИ урологии Росмедтехнологий. — М., 2008. — 36 с.
3. *Щегельська О. А.* Технології виділення клітин строми кісткового мозку людини, розмноження *in vitro* та індукції в нервові клітини та остеобласти: метод. рекомендації / О. А. Щегельська, Ю. Ю. Микулинський, О. А. Омельченко [та ін.] — Х.: Прапор — 2004. — С. 7–10.
4. *Jason T. Strohl* Erectile Dysfunction and Sleep Related Disorders / T. Jason, Jankowski, D. Seftel Allen [et al.] // The Journal of Urology. — 2008. — Vol. 180, Issue 3. — P. 837–841.
5. *Kanatsu-Shinohara M.* 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.
6. *Karpman E.* The therapeutic Challenges of hypogonadism and its comorbidities / E. Karpman, L. I. Lipshultz, D. H. Williams // Managed Care Consultant. 1st report. — 2006. — 8 p.
7. *Lee J.* 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. — Vol. 5, N 1. — P. 76–86.

ПЕРЕЛІК ПЛАТНИХ ЦИКЛІВ, ПРОВЕДЕННЯ ЯКИХ ПЛАНУЄТЬСЯ В 2011 р.

Кафедра КАРДІОЛОГІЇ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ДІАГНОСТИКИ

Зав. кафедри проф. Целуйко В. Й., тел. 710-98-81

Кардіологія (для лікарів, які атестуються
на II, I, вищу категорії)

17.06–18.07

За довідками звертатися до навчального відділу ХМАПО

за тел. (057) 711-80-31