

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана згідно планової НДР «Корекція розладів репродуктивної функції при експериментальній моделі простатиту у щурів за допомогою наночастинок на основі оксидів рідкісноземельних елементів», № державної реєстрації 0117 У 007188.

Вступ. Простатит є однією з причин безпліддя та дуже поширеною урологічною хворобою, яку згідно з даними ВООЗ діагностують у 40% чоловічого населення в віці 20-40 років. Порушення функції простати, що відбувається при її запаленні, неминуче призводять до розвитку змін у спермограмі і до зниження відтворювальної функції [1]. Нові патогенетично обґрунтовані методи лікування хворих на хронічний простатит (ХП), які позитивно впливають на функціональний стан передміхурової залози (ПЗ), будуть сприяти відновленню якості спермальної плазми, а цьому передують експериментальна робота по відтворенню абактерійних ХП різної етіології та вивчення наслідків корекції за допомогою нових біологічно активних речовин [2].

На даний час перспективним є застосування наночастинок як засобів, що покращують ефективність доставки лікарських препаратів. Недоліком багатьох наночастинок є їх токсичність. Саме тому в нанотехнологіях віддають перевагу низькотоксичним речовинам, до яких належить діоксид церію [3]. Присутність наночастинок діоксиду церію (НЧ CeO_2) в значній мірі запобігає гибелі клітин та формує стан протівірусної резистентності. НЧ CeO_2 мають бактеріостатичну активність, протизапальні властивості та можуть проникати в тканину рани [4]. Однак, дані про властивості наночастинок діоксиду церію стосовно репродуктивної системи чоловіків суперечливі та потребують додаткових досліджень.

Мета роботи. Визначити наслідки впливу наночастинок діоксиду церію для репродуктивної функції самців щурів з хронічним простатитом внаслідок кріотравми.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилися на 32 самцях щурів відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які узгоджуються з положеннями Європейської конвенції [5]. Щури утримувалися у стандартних умовах віварію при природному освітленні, раціоні, та питному режимі *ad libitum*, рекомендованому для даного виду тварин. У самців масою 300-350 г. моделювали абактеріальне запалення ПЗ шляхом кріотравмування вентральної її частини за допомогою кріопристрою Wartner (виробник Omega Pharma International, Бельгія). Наркотизованим тваринам (тіопенат, 45 мг/кг, внутрішньочеревно) при лапараскопії на передню поверхню ПЗ охолоджений аплікатор Вартнер наносили впродовж

5 с [6]. Прооперованих тварин було рандомізовано на групи: ХП-модель (без лікування), ХП+НЧ (гель на основі НЧ CeO_2), ХП+Простатилен (гель на основі Простатилену). Контрольними вважали неоперованих тварин (група Контроль) та щурів з ХП без лікування (група ХП-модель). Сполуки вводили ректально у верхній відділ прямої кишки на глибину 20-25 мм катетером довжиною 25 мм і діаметром 3 мм з 15-ї доби після операцій протягом 2-х тижнів.

Гель на основі НЧ CeO_2 (2 x 7 нм, концентрація 0,1 моль/л), який було створено в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАНУ (м. Київ), застосовували в об'ємі 0,5 мл/тварину, референтний препарат (0,5 % Простатилен) в об'ємі 0,4 мл/тварину.

Концентрацію лейкоцитів у крові з хвостової вени визначали перед операцією, на 7, 14 та 28 добу після неї. У суспензії епідидимальних сперматозоїдів визначали концентрацію клітин, відсоток рухливих та патологічно змінених форм [7], розраховували концентрацію морфологічно нормальних клітин C_n . Тварин виводили з експерименту шляхом швидкої декапітації, на автопсії досліджували стан та визначали масу гіпофізу та статевих органів, розраховували масові коефіцієнти. Вентральну частину ПЗ фіксували у 10% розчині формаліну для дослідження гістологічної структури відповідно [8] та проведення морфометричних вимірів за методом Соколовського.

Статистичний аналіз результатів проводився за допомогою пакету програм Excel 2003 та Statistika 6.0. Достовірність нульової гіпотези про відсутність різниці між групами перевіряли застосовуючи критерій Q Данна [9]. Розбіжності між даними вважалися статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Модель кріотравми – пряме кріоураження тканини ПЗ з порушенням гемодинаміки та запаленням залозистої тканини, що відповідає деяким патогенетичним аспектам розвитку простатиту у чоловіків [10]. Внаслідок кріотравми ПЗ відмічаються гематологічні, біохімічні та морфологічні порушення, характерні для простатиту та порушень сперматогенезу [11]. Результати, що були отримані у досліді, збігаються з даними літератури і свідчать про розвиток загальної запальної реакції, що супроводжувалась лейкоцитозом на 7-му та 14-ту добу експерименту. Концентрація лейкоцитів у прооперованих самців поступово зростала майже у 2 рази на 14-у добу з поступовим зниженням, хоча контрольних значень досягли показники крові лише у тварин групи ХП+Простатилен. Тобто, наприкінці експерименту запальний процес ще продовжувався [12].

Встановлено зміни стану сім'яних пухирців у щурів після моделювання ХП, абсолютна маса яких збільшилась майже на 25% ($p < 0,05$) у порівнянні з

Показники спермограми, $\bar{x} \pm S_x$ (n=7-9)

Група	Показники			
	Загальна концентрація, млн/мл	C_N ^{a)}	Рухливість, %	Патологічні форми, %
1. Контроль	68,43±5,15	65,42±4,46	74,57±4,38	4,14±0,67
2. ХП-модель	38,11±4,88 ^{a)}	34,04±4,62 ^{a)}	37,22±3,41 ^{a)}	11,78±1,44 ^{a)}
3. ХП + НЧ CeO ₂	80,33±7,30 ^{b)}	76,30±7,14 ^{b)}	60,56±6,61	5,22±0,72 ^{b)}
6. ХП + Простатилен	58,00±4,30	54,39±4,13	62,75±6,30	6,25±1,55

Примітки: ^{a)} – Статистично значущі відмінності від групи Контроль; ^{b)} – Статистично значущі відмінності від групи ХП-модель; ^{a)} C_N – концентрація морфологічно нормальних сперматозоїдів, млн/мл.

контролем за рахунок збільшення маси секрету. Як відомо, сім'яний секрет сприяє рухливості сперми, підвищує стабільність спермального хроматину, а зміни його секреції є важливою причиною чоловічої неплідності [13]. Скоріш за все збільшення кількості секрету у самців групи ХП-модель свідчить про порушення, пов'язані з запальним процесом.

Розвиток простатиту характеризувався порушеннями сперматогенезу. У порівнянні з даними групи Контроль зменшилися загальна концентрація сперматозоїдів (на 44%) та концентрація морфологічно нормальних гамет C_N (на 48%), в 2 рази знизилась рухливість спермів, при цьому патологічні клітин зустрічались в 2,8 рази частіше (таблиця). Отримані дані підтверджують розвиток простатиту. Відомо, що сперма з високою в'язкістю має низьку рухливість сперматозоїдів [13]. У щурів з простатитом рухливість сперматозоїдів була низькою, з маятниковоподібним характером рухів. На склі поряд зі сперматозоїдами ми відмічали елементи, які в нормальному стані відсутні. При простатиті в досліджуваних зразках можуть бути виявлені лейкоцити, еритроцити, амілоїдні тільця та слизь [14]. Слизь, поступаючи у великій кількості при простатиті у сім'яну плазму огортає сперматозоїди, сповільнюючи їх рухливість.

Морфометричний аналіз показав, що через 28 днів після кріотравмування ПЗ у паренхімі залозистої тканини виявлено ознаки ХП, який характеризується розтягненням кінцевих відділів більшості простатичних залозок, атрофією залозистого епітелію, згущенням і застоєм секрету, продуктивною запальною реакцією, огрубінням строми. Мікроскопічна картина типова для ХП і відповідає даним літератури [15].

Корекція НЧ CeO₂ у тварин з ХП призвела до нормалізації показників маси органів. У спермограмі самців групи ХП+НЧ CeO₂ у порівнянні з групою ХП-модель збільшилась у 2,1 рази концентрація сперматозоїдів та у 2,2 рази – показник C_N на фоні зменшення

у 2,2 рази частки патологічних форм спермів (табл.). Результати спермограми групи ХП+НЧ CeO₂ статистично достовірно не відрізнялися від даних інтактних тварин. Морфометрія гістологічних препаратів показала, що при корегувальному введеним НЧ CeO₂ дещо зменшувались атрофічні зміни кінцевих відділів простатичних залозок, в певній мірі зменшувались виразність продуктивної запальної реакції, прояви фіброзу строми. Тобто, були наявні ознаки відновлення функції ПЗ, що підтверджує позитивні властивості наноформи діоксиду церію щодо репродуктивної системи. Так, було показано, що 10-ти денне введення старіючим (18 міс.) самцям щурів НЧ CeO₂ у дозі 1 мг/кг збільшувало кількість сперматозоїдів, кількість народжених щурят, підвищує рівень тестостерону [16]. Такий же ефект спостерігається при введенні НЧ CeO₂ 24-місячним щурам [17]. На нашу думку своєчасне введення наночастинок діоксиду церію може запобігати гибелі гамет при простатиті.

Висновок. Отримані експериментальні дані свідчать про коригуючу дію наночастинок діоксиду церію щодо наслідків кріотравми передміхурової залози у щурів. Результатом є зменшення атрофічних змін кінцевих відділів простатичних залоз, проявів фіброзу строми та запальних реакцій, відновлення функції передміхурової залози та нормалізація спермограми.

Перспективи подальших досліджень. Подальше визначення ефективності наночастинок CeO₂ може бути науковим підґрунтям для розробки інноваційних лікарських засобів для корекції чоловічих репродуктивних розладів із широким спектром дії.

Література

- Molochkov VA. Sildenafil i chronicheskij prostatit. Al'manach klinicheskoy medicini. 2014;34:108-11. [in Russian].
- Koreneva EM, Filimonova NI, Brechka NM, Chistyakova EY, Smolenko NP, Belkina IO, et al. Modelyuvanna chronichnogo prostatitu. Abakterial'niy prostatit v aspekti vidtvorennya eksperimental'noyi gipofertil'nosti (oglyad literaturi). Problemi endokrin. patologii. 2019;1:104-15. [in Ukrainian].
- Shidlovska OA. Antivirusna dija nanochastinok dioksidu tseriyu ta nanokompozitiv na yogo osnovi [avtoreferat]. Kiiv: 2018. 25 s. [in Ukrainian].
- Kobyliak N, Abenavoli L, Kononenko L. Neuropathic diabetic foot ulcers treated with cerium dioxide nanoparticles: a case report. Diabetes and metabolic syndrome: clinical research and reviews. 2018 Aug;1:8.
- Zagal'ni etichni printsipi eksperimentiv na tvarinakh. Endokrinologiya. 2003;8(1):142-5. [in Ukrainian].
- Zaychenko GV, Andriyanenkov OV, Soldatova SO, Gevoyan SR. Novi pidkhodi do modelyuvannya kriotravmi peredmikhuurovoї zalozy v yeksperimenti. Informatsiyiny list pro novovvedennya v sferi okhoroni zdorov'ya. K.: 2013;28. [in Ukrainian].
- Barilyak IR, Neumerzhits'ka LV, Bishovets' TF. Vivchennya gonadotoksichnoi dii novikh likars'kikh zasobiv ta ikh vplivu na reproductivnu funktsiyu tvarin. Doklinichni doslidzhennya likars'kikh zasobiv: metodichni rekomendatsii. K.: Avitsena; 2001. s. 139-52. [in Ukrainian].
- Merkulov GA. Kurs patologogistologicheskoy tekhniki. M.: Meditsina; Leningr. otd-niye; 1969. 424 s. [in Russian].
- Glants SA. Mediko-biologicheskaya statistika. M.: Praktika; 1998. 459 s. [in Russian].
- Ravshanov TB, Zaychenko GV, Mishchenko OYa, Zaychenko VS. Porivnyal'na otsinka yeksperimental'nikh modeley prostatitiv. Aktual'ni pitannya biologii ta meditsini. Zbirnik naukovikh prats' za materialami XIV Mizhregional'noї naukovoi konferentsii, Starobil's'k, 22-23 grudn 2016; 2017. s. 133-5. [in Ukrainian].
- Soldatova EO. Farmakologichne doslidzhennya prostatoprotektoinoї diї supozitorii z fitoyekstraktami [avtoreferat]. Kharkiv: 2015. 18 s. [in Ukrainian].

12. Zaychenko AV, Andriyanenkov AV. Doklinicheskoye izucheniye effektivnosti gustogo ekstrakta yarutki polevoy na modeli kriotravmaticheskogo prostatita u kryс. *Lekarstvennyye preparaty i ratsional'naya farmakoterapii*. 2012;1:16-21. [in Russian].
13. Topka YeG, Baybakov VM, Rusin AV. Znachennyya morfunktional'nykh osoblivostey drenaznykh sistem yaechka ta sim'yanikh pukhirsiv u rozvitku prostatovezikulitu. *Medichni perspektivi*. 2011;16(4):15-20. [in Ukrainian].
14. Shtokhina IS, Kuznetsova VS. Issledovaniye eyakulyata. *Uchebnoye posobiye*. Moskva: MONIKI; 2014. 20 s. [in Russian].
15. Gorbachev AG, Tyurin AG. Lecheniye ostrogo i khronicheskogo prostatita peptidnym preparatom iz predstatel'noy zhelezy v eksperimente. *Urologicheskiye vedomosti*. 2015;V(4):20-6. [in Russian].
16. Spivak NYa, Nosenko ND, Zholobak NM. Nanokristallicheskiy dioksid tseriya povyshayet funktsional'nuyu aktivnost' reproduktivnoy sistemy stareyushchikh samtsov kryс. *Nanosistemy: fizika, khimiya, matematika*. 2013;4(1):72-7. [in Russian].
17. Kobylak NM, Falalyeyeva TM, Kuryk OG. Antioxidative effects of cerium dioxide nanoparticles ameliorate age-related male infertility: optimistic results in rats and the review of clinical clues for integrative concept of men health and fertility. *The EPMA Journal*. 2015;6(12):1-22.

НАНОЧАСТИНКИ ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ ПРИ ЛІКУВАННІ ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ ВНАСЛІДОК КРИОТРАВМИ

Смоленко Н. П., Чистякова Е. Є., Белкіна І. О., Щербakov О. Б., Коренева Є. М.

Резюме. Досліджено вплив наночастинок діоксиду церію (CeO_2) на репродуктивну функцію та стан передміхурової залози у самців щурів з хронічним простатитом внаслідок криотравми. Виявлено коригуючу дію сполуки, яка зменшила атрофічні зміни простати, прояви фіброзу стромы та запальні реакції. Покращення функції передміхурової залози призвело до нормалізації спермограми та масових коефіцієнтів органів у щурів.

Ключові слова: наночастинок діоксиду церію, передміхурова залоза, простатит, самці щурів, спермограма.

НАНОЧАСТИЦЫ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПРОСТАТИТА ВСЛЕДСТВИЕ КРИОТРАВМЫ

Смоленко Н. П., Чистякова Э. Е., Белкина И. О., Щербakov А. Б., Коренева Е. М.

Резюме. Исследовано влияние наночастиц диоксида церия (CeO_2) на репродуктивную функцию и состояние предстательной железы у самцов крыс с хроническим простатитом вследствие криотравмы. Выявлено корректирующее действие соединения, которое уменьшило атрофические изменения простаты, проявления фиброза стромы и воспалительных реакций. Улучшение функции предстательной железы привело к нормализации спермограммы и массовых коэффициентов органов у крыс.

Ключевые слова: наночастицы диоксида церия, предстательная железа, простатит, самцы крыс, спермограмма.

NANOPARTICLES OF DIAXIDE ZERIUM IN TREATMENT OF CHRONIC PROSTATITIS AS A RESULT OF CRYOINJURY

Smolenco N. P., Chistyakova E. Ye., Belkina I. O., Shcherbakov O. B., Korenyeva Ye. M.

Abstract. The influence of cerium dioxide nanoparticles (NpCeO_2) on the reproductive function of male males with simulated cryoinjury with chronic prostatitis was studied. Male rats weighing 300-350 g modeled abacterial inflammation of the prostate by cryotraumatism of the ventral part using a Cryo Wartner device (manufactured by Omega Pharma International, Belgium). NpCeO_2 size 2 x 7 nm in a dose of 0.1 mole/liter in an amount of 0.5 ml per animal (group CP + NP CeO_2) and a reference preparation (0.5% Prostatilen, in a volume of 0.4 ml per animal) (group CP + prostatylen) were injected into the upper rectum with a special catheter from the 15th day after surgery for 2 weeks. Control was provided by unordered males (Control group) and those that modeled a chronic prostatitis (group CP-model). In dynamics, leukocytosis was determined. Studied the state of spermatogenesis, determined the mass of the pituitary gland and genital organs. The histological structure of the prostate was studied and its morphometric measurements were performed.

Results. The simulation of chronic prostatitis in male rats affected the condition of seminal vesicles, whose absolute weight increased by almost 25% ($p < 0.05$, vs. 100% in control) by increasing the mass of secretion. The number of leukocytes in males of all groups gradually increased almost twice in the 14th day after the modeling of the CP, and then gradually decreased, but the control values were achieved in blood only in animals of the group CP + prostatilen.

In group CP-model, lower sperm concentration (by 44%) and integral index Cn (by 48%), twice the sperm motility decreased, with pathological cells occurring 2.8 times more often ($p < 0.05$, vs. in control). At morphometric analysis of this group there was a stretching of the finite parts of most prostatic glands, atrophy of the glandular epithelium, congestion and secretion, productive inflammatory reaction, coagulation of the stroma.

Correction NP CeO_2 animals with chronic prostatitis led to a decrease in the mass of investigated organs to the indicators of control animals. Analysis of the spermograms of the CP + NP SeO_2 group revealed an increase of 2.1 times the concentration of sperm and 2.2 fold of the integral index Cn, with a decrease of 2.2 times the pathological forms of sperm ($p < 0.05$, vs. group CP- model). The parameters of the spermogram group CP + NP SeO_2 were close to those of intact animals. The morphometry data showed that LHE SeO_2 at the therapeutic introduction revealed a tendency to decrease the atrophic changes of the terminal organs of the prostatic glands, to a certain extent reduced the severity of the productive inflammatory reaction, manifestations of fibrosis of the stroma, indicating the restoration of the function of prostate.

Conclusions. The experimental data obtained show the corrective effect of cerium dioxide nanoparticles on the effects of CRT in rats. The result is a reduction in atrophic changes in the terminal parts of the prostate gland, manifestations of stroke fibrosis and inflammatory reactions, the restoration of the function of the software and the normalization of the spermogram.

Key words: dioxide cerium nanoparticles, prostate, prostatitis male rat, spermogram.

Рецензент – проф. Саричев Л. П.
Стаття надійшла 08.06.2019 року