

УДК 61.615.322:616.66:612.67

Л. В. ЯКОВЛЄВА, О. О. ЄГОРОВА, О. Ю. КОШОВА

Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ ЕЛГАЦИНУ НА ВІКОВІ ЗМІНИ СТАНУ RED/OX ПРОЦЕСІВ У ПЕРЕДМІХУРОВІЙ ЗАЛОЗІ ТА СІМ'ЯНИКАХ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАРІННЯ

Досліджено вплив природного поліфенольного препарату прямої антиоксидантної дії таблеток «Елгацин» на вікові зміни стану red/ox системи у передміхуровій залозі та сім'яниках щурів за умови фізіологічного старіння. Встановлено, що з віком у статевих органах щурів самців відбувається порушення балансу red/ox процесів. Введення таблеток «Елгацин» щурам у 12-місячному та повторно 15,5-місячному віці сприяло збереженню рівноваги між red/ox процесами у щурів пізнього зрілого репродуктивного віку (16,5 міс.) та уповільнювало вікові зміни red/ox процесів в організмі щурів передстаречого віку (17,5-18,5 міс.). Отримані результати є підґрунтям для подальшого вивчення таблеток «Елгацин» як геропротектора для підвищення адаптаційного резерву чоловічого організму та корекції вікових змін репродуктивної функції.

Ключові слова: поліфеноли; антиоксиданти; старіння; чоловіча репродуктивна функція

ВСТУП

На теперішній час у світі спостерігаються безпрецедентні темпи старіння населення [1]. Регіоном з найвищою часткою осіб літнього віку є Європа (майже 22 % населення представлено особами у віці 60 років і старше, понад 16 % – віком 65 років і старше). Не винятком є демографічна ситуація України. Поряд зі швидким старінням населення сучасною ознакою динаміки демографічної ситуації в країні є тенденція до пізнього народження як жінками, так і чоловіками, що наближає її до моделі народжуваності, притаманної більш розвинутих європейським країнам [2]. Підвищення віку материнства та батьківства пов'язане зі складними соціально-економічними проблемами. У сучасних умовах найбільший психоемоційний тиск відчувають чоловіки – це прагнення бути успішним у всіх сферах життя, необхідність забезпечення сім'ї фінансово та вибудовування матеріального базису для народження та виховання дітей. Постійний стрес, негативні екологічні умови є чинниками, що призводять до зниження функціональних можливостей організму [5, 6] та раннього прояву збоїв у генеративній функції чоловіків та розвитку захворювань сечостатевої системи [3]. Зважаючи на це, проблема збереження репродуктивного здоров'я чоловіків та подовження їх віку набуває медико-соціальної значущості.

На теперішній час у розвитку дисфункції репродуктивної системи чоловіків доведено важливу роль

окисного стресу [3, 4, 5]. Основними джерелами активних форм кисню (АФК) в спермі є лейкоцити і сперматозоїди. Утворення в сперматозоїдах невеликої кількості АФК відіграє позитивну роль у заплідненні (забезпечення енергією). Проте надмірна кількість АФК є потенційно токсичною щодо якості та функції сперми [6]. АФК-індуковане пошкодження біомембран сперматозоїдів призводить до порушення їх функціональної активності (зниження рухливості, здатності зливатися з яйцеклітинами), пошкодження ДНК сперматозоїдів ставить під загрозу внесок батька в геном ембріону. Недостатня потужність антиоксидантної системи також є причиною чоловічого безпліддя.

Перспективним напрямком вирішення цієї проблеми є пошук та розробка геропротекторів – препаратів, здатних поліпшувати генеративну функцію, подовжувати дітородний період та підвищувати якість життя чоловіків літнього віку, серед сполук з антиоксидантними властивостями.

Об'єктом дослідження стали таблетки «Елгацин» – оригінальний вітчизняний препарат з прямими антиоксидантними властивостями [7], діючими компонентами якого є елаготаніни – дубильні речовини. Субстанція елгацину вилучена з суплідь вільхи клейкої і сирі (Alnus glutinosa L., Alnus cinerea L.) род. Березових (Betulaceae) та представлена комплексом продуктів гідролізу у складі: елагової кислоти (не менше за 70 %), валонієвої кислоти (не більше 10 %) та продуктів їх взаємодії (решта до 100 %). Метою роботи стало вивчення впливу таблеток «Елгацин» на

© Яковлєва Л. В., Єгорова О. О., Кошова О. Ю., 2015

вікові зміни стану red/ox системи у передміхуровій залозі та сім'яниках щурів за умови фізіологічного старіння.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проведені на 86 щурах самцях, яким у віці 12 місяців та потім у 15,5-місячному віці повторно вводили таблетки «Елгацин» у дозі 12 мг/кг. Як контроль використовували інтактних щурів відповідного віку та інтактних щурів репродуктивного віку (6 міс.). Таким чином, на момент тестування вік тварин склав 13, 14, 15 місяців після першого курсу елгацину та 16,5, 17,5 і 18,5 місяців – після повторного введення засобу. Тварин виводили з експерименту декапітацією під інгаляційним наркозом, вилучали передміхурову залозу (ПМЗ) та сім'яники, збирали кров для проведення біохімічних аналізів. У сироватці крові та біологічному субстраті (тканинах сім'яників та ПМЗ) визначали вміст вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-реактивів (ТБК-Р) [8], каталази [9] та відновленого глутатіону (ВГ) [10]. З метою оцінки балансу red/ox процесів використовували коефіцієнт red/ox балансу ($K_{red/ox}$), який розраховували як відношення сумарної кількості прооксидантів до сумарної кількості антиоксидантів [11], виражали у відносних одиницях вмісту прооксидантів (ТБК-Р) до добутку вмісту антиоксидантів (каталази та/або ВГ). За відносну одиницю приймали значення величин, які визначали в інтактних тварин репродуктивного 6-місячного віку.

Під час експерименту тварини знаходилися у стандартних умовах при t° 18-24 $^{\circ}$ C, вологості 50-60 %, природному світловому режимі «день-ніч», на збалансованому харчовому раціоні при вільному доступі до води. Всі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з принципами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Strasbourg, 1986) відповідно до норм GLP [12].

Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакету статистичних програм «Statistica 6.0».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За сучасними уявленнями інтенсифікація процесів ПОЛ є універсальним провідним чинником деструкції біомембран і загибелі клітин при різних патологіях. Доведено важливу роль окисного стресу у прискореному старінні. Поряд з цим існують переконливі докази участі оксидативного стресу у розвитку дисфункції репродуктивної системи чоловіків [4, 5]. Структура плазматичної мембрани зрілих сперматозоїдів та сім'яних канальців складається з трьох шарів або зон: ліпідного бішару, фосфоліпідів водної фази та глікокаліксу. Оскільки плазматичні мембрани сперматозоїдів містять велику кількість поліненасичених жирних кислот, а їх цитоплазма –

низьку концентрацію антиоксидантних ферментів, вони особливо чутливі до пошкодження, викликаного надмірним утворенням АФК [13], які запускають автокаталітичний процес з утворенням побічних продуктів реакції: перекису водню, спирту і ліпідних альдегідів при атаці ненасичених зв'язків мембранних ліпідів. Таким чином, активація перекисного окиснення ліпідів сперматозоїдів руйнує структуру ліпідного матриксу мембрани клітин, що пов'язано з втраченою внутрішньоклітинного АТФ і призводить до їх пошкодження, зниження життєздатності і навіть до повного пригнічення сперматогенезу [14, 15].

Відповідно до отриманих даних (рис.) у процесі онтогенезу у репродуктивних органах щурів зрілого та пізнього зрілого віку відбувається накопичення кінцевих продуктів ПОЛ – ТБК-реактивів, що свідчить про посилення процесів ліпопероксидації та зниження активності утилізації токсичних продуктів внаслідок недостатньої спроможності антиоксидантної системи (АОС). Останнє підтверджується компенсаторним підвищенням активності антиоксидантного захисту у сім'яниках 14-ти та 15-місячних інтактних тварин та зниженням її потужності у пізньому онтогенезі. Розбіжності між вмістом ВГ у статевих органах інтактних тварин репродуктивного віку (6 міс.) та вікових контролів щурів передстаречого та старечого віку набувають статистичної значущості (рис. А, В). Результати розрахунку $K_{red/ox}$ показали, що у 13-місячних тварин баланс red/ox процесів у тканинах сім'яників зберігається на рівні 6-місячних тварин. У тварин зрілого репродуктивного віку (14-15 міс.) внаслідок компенсаторної активації антиоксидантних ферментів у відповідь на підвищення інтенсивності процесів ПОЛ відбувається зсув окисно-відновлювальних процесів у бік відновлення. Особливо виразно ці зміни спостерігаються у сім'яниках 15-місячних тварин (рис. Б, Г). У щурів більш старшої вікової категорії відбувається зрив захисного потенціалу, що відображається істотним підвищенням $K_{red/ox}$ у щурів передстаречого віку майже вдвічі (рис. Б, Г).

Порушення балансу окисно-відновлювальних процесів у статевих органах, сім'яниках та ПМЗ віддзеркалюється дисбалансом на системному рівні (рис. Д, Е). У сироватці крові збільшення вмісту ТБК-реактивів відбувається на тлі поступового зниження вмісту ВГ (рис. Д). Проте як і в сім'яниках у сироватці крові 15-місячних тварин спостерігається тенденція до підвищення рівня цього важливого компонента антиоксидантної системи (рис. Д). Характерно, що динаміка змін досліджуваних показників ПОЛ/АОС співвідноситься з віковими змінами гістоструктури тканин ПМЗ та сім'яників. Раніше ми довели, що початкові порушення гістоструктури сім'яників та ПМЗ спостерігаються у тварин 14-15-місячного віку [16]. Співставлення результатів дослідження показників ПОЛ і АОС та морфоструктури сім'яників і ПМЗ показує, що порушення балансу red/ox процесів та структу-

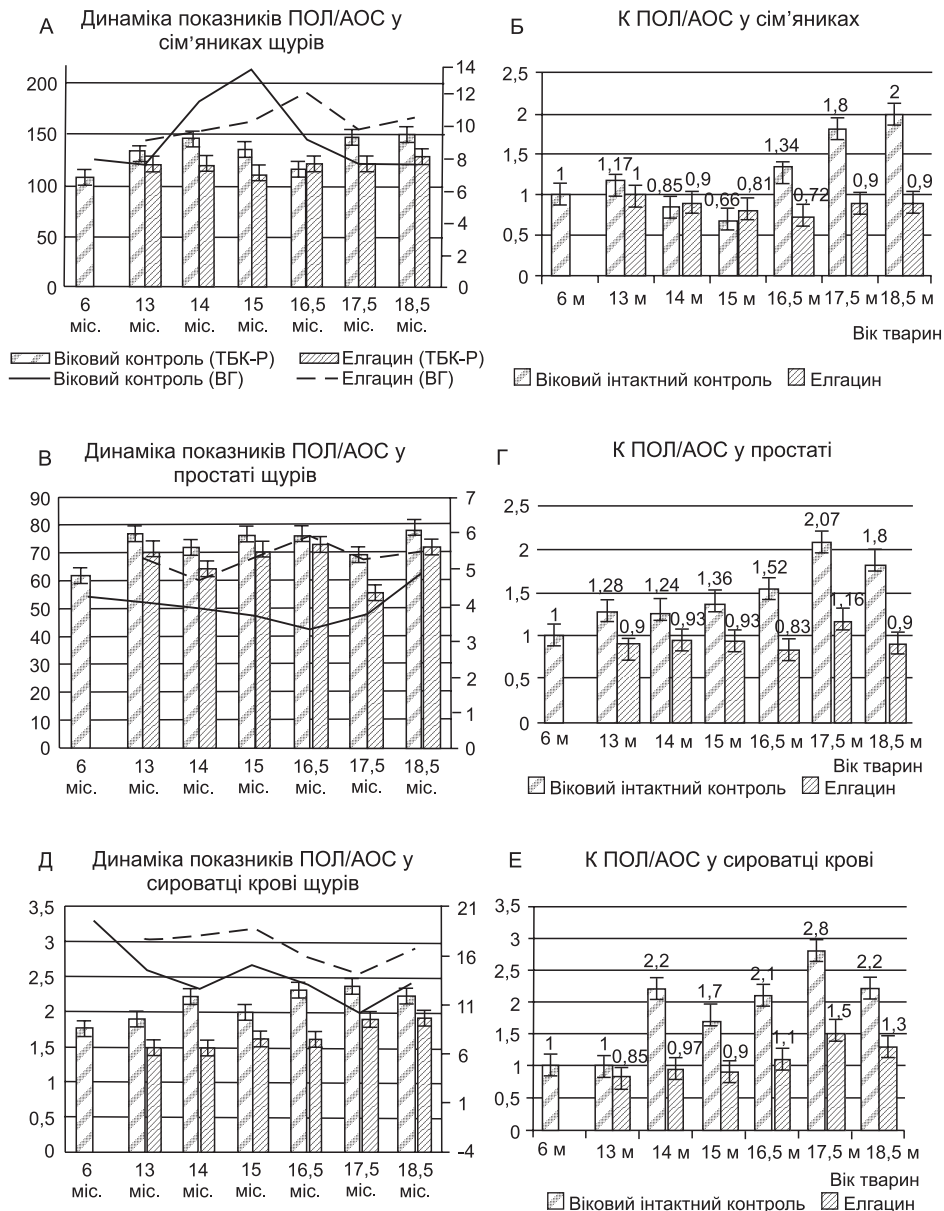


Рис. Вплив таблеток «Елгацин» на динаміку окисно-відновлювальних процесів у сім'яниках, та сироватці крові щурів при старінні.

ри органу знаходяться у тісному взаємозв'язку. Відповідно до отриманих даних порушення рівноваги у red/ox процесах спостерігається у тварин передстаречого віку (17,5-міс.). Найбільш виразні зміни структури органів також зафіксовані у тварин 17,5-18,5-місячного віку [16], тобто у віці, коли відбувається гормональна перебудова старіючого організму [17].

Введення таблеток «Елгацин» щурам у зрілому репродуктивному (12-міс.) та пізньому зрілому репродуктивному (15,5-міс.) віці чинило захисний вплив на мембрани клітин сім'яників та сперматозоїдів. У цих тварин з віком також відбувалося накопичення вторинних продуктів ПОЛ, але це збільшення відбувалося в значно меншому ступені та супроводжува-

лося відповідною активацією антиоксидантного захисту (рис. А, В, Д).

Проте як і у передміхуровій залозі, так і у сім'яниках тварин 16,5-місячного віку, тобто одразу після закінчення другого курсу введення елгацину, спостерігається зниження Kred/ox до 0,72, що вказує на значну активацію ферментів антиоксидантного захисту (рис. Б, Г). Надалі цей дисбаланс усувається і Kred/ox наближається до рівня інтактних тварин 14-місячного віку.

На підставі отриманих даних можна констатувати достатньо виразну тропність таблеток «Елгацин» до органів репродуктивної системи і, насамперед, до сім'яників, у яких за даними літератури [3, 4]

відбуваються інтенсивні процеси ПОЛ. Збереження рівноваги між окисно-відновлювальними процесами у щурів зрілого та пізнього зрілого репродуктивного віку під впливом елгацину та повторне ведення засобу у пізньому зрілому віці сприяє підтримці фізіологічного співвідношення між red/ox процесами в організмі щурів більш старшого віку. Тривалість протекторної дії засобу зберігається протягом 2 місяців. Найбільш виразні протекторні властивості таблеток «Елгацин» виявляються при повторному введенні щурам у зрілому пізньому віці.

ВИСНОВКИ

У процесі онтогенезу у статевих органах щурів самців (простати та сім'яниках) відбувається порушення балансу окисно-відновлювальних процесів. У щурів зрілого пізнього репродуктивного віку внаслідок достатнього фізіологічного резерву інтенсифікація процесів ПОЛ компенсується підвищенням активності антиоксидантного захисту. У пізньому онтогенезі у щурів передстаречого віку відбувається зрушення адаптивних процесів, внаслідок чого надмірні процеси ліпопероксидації перебігають на тлі зниженої потужності антиоксидантної системи.

Двократне введення таблеток «Елгацин» сприяло збереженню рівноваги між окисно-відновлювальними процесами у щурів зрілого та пізнього зрілого репродуктивного віку та уповільнювало вікові зміни red/ox процесів в організмі щурів більш старшого віку. Найбільш виразні протекторні властивості таблеток «Елгацин» виявляються при повторному введенні тваринам у зрілому пізньому віці. Отримані результати є підґрунтям для подальшого вивчення таблеток «Елгацин» як геропротектора для підвищення адаптаційного резерву організму та корекції вікових змін репродуктивної функції чоловіків.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Державна служба статистики України – Режим доступу: <http://www.ukrstat.gov.ua/>
2. Europe in figures-2012 // Eurostat yearbook, 2012. – 698 p.
3. Agarwal A. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update / A. Agarwal, K. Makker, R. Sharma // Am J. Reprod. Immunol. – 2008. – Vol. 59. – P. 2-11.
4. Kothari S. Free radicals: their beneficial and detrimental effects on sperm function / S. Kothari, A. Thompson, A. Agarwal, S. S. du Plessis // Indian J. Exp. Biol. – 2010. – Vol. 48. – P. 425-435.
5. Shittu M. Evaluation of chronic chlorpyrifos-induced reproductive toxicity in male Wistar rat: protective effects of vitamin C / [M. Shittu, S. F. Ambali, J. O. Ayo et al.] // J. Exp. Integr. Med. – 2013. – Vol. 3 (1). – P. 23-30.
6. Agarwal A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction / A. Agarwal, R. A. Saleh, M. A. Bedaiwy // Fertil. Steril. – 2003. – Vol. 79. – P. 829-843.
7. Сахарова Т. С. Експериментальне вивчення фармакодинаміки та механізму дії нової групи природних антиоксидантів на основі елаготанінів: дис....докт. фарм. наук: 14.03.05 / Т. С. Сахарова. – Х., 2008. – 325 с.
8. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 290 с.
9. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С 16-19.
10. Beutler E. Improved method for the determination of blood glu-tathion / E. Beutler, O. Duron, B. M. Kelly // Lab. Clin. Med. – 1963. – Vol. 63, № 5. – P. 882-888.
11. Коган В. Я. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов / В. Я. Коган, Д. М. Орлов. – М.: Итоги науки и техники, 1986. – Т. 18. – 134 с.
12. Западнюк М. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. – К.: Высш. шк., 1983. – 878 с.
13. Ateşşahi A. Modulatory Effects of Lycopene and Elagic Acid on Reproductive Dysfunction Induced by Polychlorinated Biphenyl (Aroclor 1254) in Male Rats / [A. Ateşşahin, G. Türk, S. Yilmaz et al.] // Basic Clinical Pharmacol. and Toxicol. – 2010. – Vol. 106, Issue 6. – P. 479-489.
14. Benedetti S. Differences in blood and semen oxidative status in fertile and infertile men, and their relationship with sperm quality. / [S. Benedetti, M. C. Tagliamonte, S. Catalani et al.] // Reprod. Biomed. Online. – 2012. – Vol. 25 (3). – P. 300-306.
15. Chen S. J. Influence of reactive oxygen species on human sperm functions and fertilizing capacity including therapeutical approaches / S. J. Chen, J. P. Allam, Y. G. Duan, G. Haidl // Arch. Gynecol. Obstet. – 2013. – Vol. 288 (1). – P. 191-199.
16. Яковлева Л. В. Вплив елгацину на вікові зміни морфоструктури сім'яників та передміхурової залози щурів / Л. В. Яковлева, О. О. Єгорова, Ю. Б. Лар'яновська, О. Ю. Кошова // Фармаком. – 2014. – № 2. – С. 99-106.
17. Liu P. Y. Mechanisms of hypoandrogenemia in healthy aging men / [P. Y. Liu, A. Iranmanesh, A. X. Nehra et al.] // Endocrinol. Metab. Clin. North. Am. – 2005. – Vol. 34. – P. 935-955.

УДК 61.615.322:616.66:612.67**Л. В. Яковлева, Е. А. Егорова, Е. Ю. Кошева****ВЛИЯНИЕ ЭЛГАЦИНА НА ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСТОЯНИЯ RED/OX ПРОЦЕССОВ В ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЕ И СЕМЕННИКАХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ**

Исследовано влияние природного полифенольного препарата прямого антиоксидантного действия таблеток «Элгацин» на возрастные изменения состояния red/ox процессов в предстательной железе и семенниках крыс при физиологическом старении. Установлено, что с возрастом в половых органах самцов происходит нарушение баланса red/ox процессов. Введение таблеток «Элгацин» крысам в 12-месячном и повторно в 15,5-месячном возрасте способствовало сохранению равновесия между red/ox процессами у крыс позднего зрелого репродуктивного возраста (16,5 мес.) и замедляло возрастные изменения red/ox процессов в организме крыс предстарческого возраста (17,5-18,5 мес.). Полученные результаты обуславливают целесообразность дальнейшего изучения таблеток «Элгацин» как геропротектора для повышения адаптационного резерва мужского организма и коррекции возрастных изменений репродуктивной функции.

Ключевые слова: полифенолы; антиоксиданты; старение; мужская репродуктивная функция

UDC 61.615.322:616.66:612.67**L. V. Iakovlieva, E. A. Egorova, E. Yu. Koshevaya****THE INFLUENCE ELGACIN ON AGE-RELATED CHANGES OF THE STATE OF RED/OX PROCESSES IN THE PROSTATE GLAND AND TESTES OF RATS DURING PHYSIOLOGICAL AGEING**

We conducted a study of influence of natural polyphenolic preparation of direct antioxidant action, tablets "Elgacin" on the age-related changes of the state of red/ox processes in the prostate gland and testes of rats during physiological aging. It is established that with age in the prostate gland and testes of males is a violation of the balance of red/ox processes. The introduction of tablets "Elgacin" rats in a 12 month of age, and again at 15.5 months of age contributed to the preservation of the balance between red/ox processes in rats Mature late reproductive age (16.5 months) and slowed age-related changes of red/ox processes in the body elderly rats (17.5-18.5 months). This data gives grounds for prospective research of tablets "Elgacin" as a geroprotector to enhance the adaptive reserve of the male body and correction of age-related changes in reproductive function.

Key words: polyphenols; antioxidants; ellagotannins; ageing; male reproductive function

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.

Тел. (0572) 65-88-95. E-mail: janekovaleva@mail.ru.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції

10.04.2015 р.