

Андрогенна функція сім'яників і стан сперматозоїдів молодих і старіючих щурів після тривалого інгібування ароматази стероїдів та його відміни

Л.І. Полякова, О.В. Сачинська, О.А. Фалюш, О.Г. Резніков

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка НАМН України», Київ;
e-mail: polyakova_lubov@ukr.net

В експериментах на самцях щурів лінії Вістар досліджено вплив інгібітора ароматази стероїдів летрозолу, який застосовували в дозі 1 мг/кг через день протягом 3 міс, на вміст тестостерону в плазмі крові та кількість сперматозоїдів у придатках сім'яників, морфологічний і функціональний їх стан у молодих (8 міс) і старіючих (18 міс) тварин. Зміни досліджених показників відбувалися переважно у старіючих тварин. Інгібування конверсії тестостерону на естрадіол призводило до збільшення кількості сперматозоїдів у придатках сім'яників ($34,3 \pm 2,4 \cdot 10^6/\text{мл}$ у контрольних тварин щодо $44,0 \pm 2,1 \cdot 10^6/\text{мл}$ у дослідних), покращення якісного складу (морфологічно нормальних $53,4 \pm 1,4\%$ у контрольних тварин щодо $68,9 \pm 2,6\%$ у дослідних) та зростання дихального індексу сперматозоїдів ($0,45 \pm 0,08$ у контрольних тварин порівняно з $0,67 \pm 0,10$ у дослідних). Через 2 міс після відміни летрозолу вміст тестостерону, кількість сперматозоїдів, дихальна активність і відсоток нормальних морфологічних форм у дослідних щурів не відрізнялися від контрольних значень. Ключові слова: тестостерон; летрозол; сперматозоїди; щури.

ВСТУП

Зменшення фертильного потенціалу населення багатьох країн – загальноновизнана проблема, яка є одним з визначальних факторів, що впливають на демографічну ситуацію, через що нею опікуються ООН та ВООЗ. Провідними причинами цього негативного явища є екологічне забруднення хімікатами господарського і промислового призначення, відходами виробництва, радіаційний чинник, психоемоційний стрес, хвороби сечостатевої системи, цукровий діабет, неправильний спосіб життя, малорухливість, ожиріння тощо.

У чоловіків збільшуються випадки передчасного розвитку вікового дефіциту андрогенів, відомого у світовій літературі під назвою ЛОН-синдром (від англ. late-onset hypogonadism), для якого типовим є зменшення тестикулярної продукції андрогенів,

низький вміст загального (<8–12 нмоль/л) і вільного тестостерону (<220–240 пмоль/л) у сироватці крові [1–3]. При вираженому ЛОН-синдромі ризик смерті підвищується у 5 разів [4]. У його патогенезі значну роль відіграє надмірна маса жирової тканини, у якій циркулюючий в крові тестостерон за допомогою ароматази стероїдів перетворюється на естрадіол, а андростендіон – на естрон. Естрогени протидіють андрогенам подвійним шляхом: по-перше, пригнічують продукцію гонадотропних гормонів гіпофіза, по-друге – стимулюють синтез у печінці тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну і підвищують його вміст у крові, що призводить до зменшення вмісту вільної, тобто активної, фракції тестостерону. Тому замісна терапія тестостероном ЛОН-синдрому має тимчасову, а

© Л.І. Полякова, О.В. Сачинська, О.А. Фалюш, О.Г. Резніков

подекуди низьку ефективність, особливо при надмірній масі тіла. У разі високого вмісту естрогенів розвивається синдром естрогенної домінанти, для якого характерним є зсув співвідношення вмісту андрогенів та естрогенів у бік останніх, олігоспермія, погіршення запліднювальної здатності сперми, нерідко безпліддя.

Для успішного запліднення яйцеклітини потрібна достатня концентрація сперматозоїдів, а також їх активна рухливість. Концентрація сперматозоїдів залежить від активності сперматогенезу у сім'яниках, а рухливості вони набувають під час дозрівання у епідидимісі. Обидва ці процеси є андрогензалежними. Показано, що у чоловіків з нормальною масою тіла замісна андрогенотерапія може призводити до зростання концентрації естрогенів у крові завдяки конверсії екзогенного тестостерону на естрадіол [5].

Іншим шляхом відновлення андрогенного балансу може стати підвищення вмісту ендогенного тестостерону через фармакологічне інгібування ароматази стероїдів, наприклад, летрозолом, який значно гальмує його перетворення на естрадіол [6]. Раніше нами було досліджено вплив 2-тижневого [7] та 3-місячного [8] застосування інгібітора ароматази стероїдів на репродуктивну систему молодих і старіючих щурів і показано його коригувальний вплив на гормональну рівновагу, а також стимулюючу дію щодо клітин Лейдига і додаткових статевих залоз, переважно у щурів з віковою інволюцією андрогенної функції. Для продовження роботи було визнано доцільним вивчити кількість та якість сперматозоїдів як визначального фактора фертильності при тривалому гальмуванні ароматази та процес відновлення їх змін через деякий час після скасування фармакологічної дії на фермент.

Метою нашої роботи було дослідити вплив тривалого застосування інгібітора ароматази стероїдів летрозолу на вміст тестостерону, концентрацію та якісний стан

сперматозоїдів у молодих і старіючих щурів, а також здатність до відновлення показників у відтермінований час після відміни препарату.

МЕТОДИКА

Дослідження було розпочато на молодих самцях щурів лінії Вістар (5-міс; 170–225 г) та старіючих тваринах (15-міс; 225–320 г). Згідно з віковою періодизацією лабораторних щурів, 5-місячний вік відповідає 22 рокам людини, а 15-місячний – 64 рокам [9]. Експерименти проводили з дотриманням біоетичних рекомендацій Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в наукових та інших експериментальних цілях (Страсбург, 1986 р.) та рекомендаціях I Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001 р.). За допомогою рандомізації щурів сформували 4 групи по 20 тварин у кожній: 1-ша та 2-га група – контрольні та дослідні молоді тварини (середня маса тіла $195,25 \pm 3,13$ і $197,25 \pm 3,37$ г відповідно); 3-тя та 4-та – контрольні та дослідні старіючі тварини (середня маса тіла $273,15 \pm 5,03$ і $266,25 \pm 6,24$ г відповідно). Тварин утримували в стандартних умовах виварію ($20\text{--}22^\circ\text{C}$, відносна вологість $50\text{--}60\%$, світловий режим: темрява – 10 год, світло – 14 год) на стандартному раціоні харчування та вільному доступі до питної води. Дослідним тваринам летрозол (ПАТ «Фармак», Україна) вводили перорально за допомогою шлункового катетера у вигляді суспензії таблеткової маси в гелі Дорфмана (0,9%-вий розчин натрію хлориду, що містить 0,5% натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, 0,4% твіну-80 та 0,9% бензилового спирту). Щури одержували летрозол один раз на 2 дні в дозі 1 мг/кг маси тіла протягом 90 днів. Індивідуальні дози розраховували згідно з масою тіла тварин, визначеною безпосередньо перед введенням препарату. Тваринам контрольної групи вводили носій субстанції у відповідному об'ємі. Через 24 год після останнього введення тварин декапітували. На цей момент вік молодих

тварин становив 8 міс, а старіючих – 18 міс. Частину тварин, які отримували летрозол, залишали без препарату на 2 міс, після чого повторювали всі дослідження. Вік молодих тварин на цей час становив 10 міс, а старіючих – 20 міс.

Евтаназію тварин здійснювали гільйотинуванням під легким ефірним наркозом. Кров забирали у гепаринізовані пробірки, центрифугували і відокремлювали плазму. Аліквоти плазми зберігали при -18°C до проведення гормональних аналізів. У плазмі крові контрольних та дослідних тварин визначали імуноферментним методом вміст тестостерону за допомогою наборів ELISA Testosterone («DRG», Німеччина) та імуноферментного аналізатора Stat Fax (США).

Для аналізу сперматогенної функції сім'яників щурів та функціонального стану сперматозоїдів використовували суспензію, яку отримували дозованим (протягом 2 хв) вимиванням сперматозоїдів 0,9%-вим розчином натрію хлориду (2 мл), яке проводили активним перемішуванням розрізаного вздовж придатка сім'яника у малих чашках Петрі діаметром 3,5 см. Концентрацію сперматозоїдів після 20-кратного розведення суспензії визначали у 5 великих квадратах камери Горяєва. Виготовляли мазки суспензії сперматозоїдів для підрахунку відносної кількості нормальних і патологічних форм за допомогою світлового мікроскопа Leica DME («Leica Microsystems», Німеччина).

Стан окисно-відновних процесів у сперматозоїдах вивчали *in vitro* методом Шергіна, який базується на реакції суспензії сперматозоїдів з 0,01%-вим розчином метиленового синього [10]. На предметне скло наносили по 20 мкл 0,01%-го розчину метиленового синього і суспензії, перемішували скляною паличкою і набирали суміш у скляну трубку діаметром 1 мм. Трубки поміщали у кювету, застелену білим папером і відмічали час знебарвлення середини стовпчика (кінці залишалися голубими). Час знебарвлення суміші є обернено пропорційний кількості

сперматозоїдів та інтенсивності окисно-відновних процесів у них. Вираховували індекс інтенсивності окисно-відновних процесів (X) за формулою: $X = A/t$, де A – концентрація сперматозоїдів, t – час знебарвлення середини стовпчика суміші.

Отримані результати статистично обробляли з використанням критерію t Стьюдента. Різницю між досліджуваними показниками у дослідних і контрольних групах вважали статистично достовірною при значенні $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У контрольних тварин 18-місячного віку, досліджених у грудні, вміст тестостерону у плазмі крові був більш як у 2 рази нижчим за такий у тварин 8-місячного віку (табл. 1). Це свідчить про вікове згасання андрогенної функції статевих залоз. Більш високі значення цього показника у контрольних тварин 10- і 20-місячного віку, які вимірювали напередодні весни (наприкінці лютого), порівняно з попередніми пояснюються сезонною активацією гонад. Застосування летрозолу і його відміна не призводили до статистично значущих змін вмісту андрогену у плазмі крові молодих і старіючих тварин.

Концентрація сперматозоїдів у змивах придатків сім'яників 18-місячних контрольних щурів мала тенденцію до зменшення порівняно з тваринами віком 8 міс. Після введення летрозолу у молодих щурів цей показник майже не змінювався, а у старіючих зростав на 28,3% ($P < 0,05$) порівняно з відповідною контрольною групою і сягав значень у нормальних молодих щурів. Ця різниця була відсутня через 2 міс після відміни летрозолу (табл. 2).

Морфологічне дослідження виявило, що у молодих щурів контрольної групи було на 16,4% більше сперматозоїдів нормальної будови, ніж у старіючих ($P < 0,05$), на 30% менше незрілих сперматозоїдів ($P < 0,05$) та на 23% – сперматозоїдів з патологією хвостової частини (табл. 3). У молодих тварин, які

Таблиця 1. Концентрація тестостерону (нмоль/л) у плазмі крові щурів різного віку, що отримували летрозол (M ± m)

Група тварин, схема досліджу	Після введення летрозолу	Через 2 міс після відміни летрозолу
Молоді щури		
контроль	8,69 ± 2,66 (1,70 – 22,45)	21,67 ± 3,81 (3,71 – 45,73)
летрозол	11,34 ± 2,75 (3,05 – 30,29)	14,24 ± 1,77 (2,26 – 19,78)
Старіючі щури		
контроль	4,00 ± 1,18 (1,70 – 7,77)	17,78 ± 4,37 (4,37 – 43,51)
летрозол	4,60 ± 0,94 (2,67 – 8,74)	17,70 ± 2,58 (8,88 – 39,04)

Примітка: у дужках – діапазон коливань

протягом 3 міс отримували летрозол, кількість нормальних сперматозоїдів порівняно з контролем не змінювалася, так само, як і співвідношення патологічних форм. У старіючих тварин, яким вводили летрозол, цей показник перевищував контрольні значення на 22% ($P < 0,001$) і був навіть вищим, ніж у молодих щурів як контрольних, так і тих, що отримували летрозол ($P < 0,05$). У них значно зменшувалася кількість незрілих форм сперматозоїдів, а також сперматозоїдів з патологією хвостового відділу, що свідчить про нормалізацію процесів їх дозрівання в епідидимісі і кращий стан гамет, накопичених у хвостовому відділі придатка (див. табл. 3). Через 2 міс після відміни летрозолу відносна кількість нормальних сперматозоїдів була однаковою в контрольних і дослідних групах, а патологічних форм дещо змінювалась у різних напрямках.

У молодих щурів контрольної групи індекс активності окисно-відновних процесів (дихальний індекс) був удвічі більшим, ніж у старіючих ($P < 0,01$), а після застосування летрозолу він не змінювався ($0,1 > P > 0,05$). Натомість результати функціональної проби з метиленовим синім з визначення активності окисно-відновних процесів у сперматозоїдах засвідчили покращення їхньої якості у старіючих щурів, які отримували летрозол, що узгоджується з морфологічною характеристикою. Дихальний індекс зростає у них на 49%, що корелює зі збільшенням кількості нормальних сперматозоїдів, здатних до активного поступального руху, і свідчить про нормалізацію процесів дозрівання в епідидимісі. Різниця активності окисно-відновних процесів між молодими і старіючими тваринами нівелювалась. Таким чином, гальмування активності ароматази

Таблиця 2. Концентрація сперматозоїдів (10^6 /мл) у змивах епідидимісів щурів різного віку, що отримували летрозол (M ± m)

Група тварин, схема досліджу	Після введення летрозолу	Через 2 міс після відміни летрозолу
Молоді щури		
контроль	41,0 ± 2,6	42,9 ± 2,0
летрозол	46,8 ± 3,0	38,0 ± 4,3
Старіючі щури		
контроль	34,3 ± 2,4	50,1 ± 1,5
летрозол	44,0 ± 2,1 *	46,4 ± 3,7

* $P < 0,05$ порівняно з контролем відповідного віку

Таблиця 3. Нормальні і патологічні форми сперматозоїдів у щурів, які протягом 3 міс отримували летрозол (M ± m)

Умови досліджу	Форми сперматозоїдів, %				
	норма	«м'які» звивисті	дуго-подібні	патологія шийки	патологія хвоста
Після введення летрозолу					
Контроль (8 міс, n = 10)	62,7 ± 1,8	13,0 ± 2,1	6,6 ± 1,5	3,2 ± 0,5	14,5 ± 0,7
Летрозол (8 міс, n = 10)	60,5 ± 2,3	14,1 ± 1,5	8,7 ± 0,8	2,8 ± 0,4	13,9 ± 1,1
Контроль (18 міс, n = 8)	53,4 ± 1,4*	18,3 ± 1,1*	5,3 ± 0,6	4,3 ± 0,4	18,8 ± 0,8*
Летрозол (18 міс, n = 7)	68,9 ± 2,6***	8,5 ± 2,2**	9,4 ± 1,4**	4,0 ± 0,5	9,1 ± 1,3**
Через 2 міс після відміни летрозолу					
Контроль (10 міс, n = 10)	63,4 ± 2,8	6,3 ± 1,4	12,5 ± 1,5	2,9 ± 0,6	14,9 ± 1,5
Летрозол (10 міс, n = 10)	65,0 ± 5,5	1,6 ± 0,8*	13,4 ± 1,5	11,7 ± 6,4	8,3 ± 1,2*
Контроль (20 міс, n = 10)	69,6 ± 1,2	1,7 ± 0,5	18,7 ± 1,7	3,8 ± 0,7	6,2 ± 0,6
Летрозол (20 міс, n = 10)	68,1 ± 2,1	4,7 ± 1,1*	6,5 ± 1,0*	5,0 ± 1,0	15,7 ± 0,8*

***P < 0,05 порівняно з молодими та старіючими контрольними тваринами відповідно

стероїдів летрозолом активувало сперматогенез у сім'яниках і дозрівання сперматозоїдів у придатку, можливо, через локальне підвищення концентрації тестостерону і зменшення вмісту естрадіолу. Через 2 міс після відміни летрозолу дихальні індекси в контрольних і дослідних групах були однакові (табл. 4).

За результатами морфологічного дослідження сперматозоїдів із суспензії, отриманій з цілого епідидиміса, незрілі сперматозоїди,

які шойно потрапили у його каналці, були нерухомі і мали вигляд скрученої спіралі. Це може бути відображенням недостатньої жорсткості їх структури через малу кількість інтегральних білків у плазматичній мембрані. Також у суспензії знаходили дугоподібні сперматозоїди, які мали різну кривизну дуги і були здатні лише до коливальних рухів. Можливо, така форма є перехідною при подальшій модифікації гамет. У звивистих сперматозоїдів спостерігалось по-

Таблиця 4. Індекс окисно-відновної активності (дихальний індекс) сперматозоїдів щурів різного віку, що отримували летрозол (M ± m)

Група тварин, схема досліджу	Після введення летрозолу	Через 2 міс після відміни летрозолу
Молоді щури		
контроль	0,95 ± 0,12	1,04 ± 0,20
летрозол	0,73 ± 0,09	1,15 ± 0,10
Старіючі щури		
контроль	0,45 ± 0,08	1,16 ± 0,20
летрозол	0,67 ± 0,10 *	1,27 ± 0,10

*P < 0,05 порівняно з контролем відповідного віку

вільна поступальна рухливість. Здатними до активного поступального руху були сперматозоїди, що мали вигляд жорстких, і у яких рухливою була лише дистальна частина хвостового відділу. Такі морфологічні зміни сперматозоїдів, які вочевидь пов'язані з процесами дозрівання, свідчать, що застосування інгібітора ароматази стероїдів летрозолу у старіючих тварин призводить до нормалізації чи/або активації функціонування епітелію каналців епідидимісу. У молодих тварин вплив летрозолу був виражений слабше, що може відображати вищий поріг їх чутливості до естрогенів.

Гамети, що виходять з яєчка, функціонально незрілі і набувають повної функціональної активності лише після завершення процесу посттестикулярного дозрівання в придатках. Дозрівання в епідидимісі можна визначити як зміни, що роблять сперматозоїди здатними до капаситації в жіночому тракті. Примітно, що цих функцій вони набувають у той час, коли транскрипційно і трансляційно неактивні і, отже, повністю залежать від посттрансляційних модифікацій свого білкового компоненту [11]. У порожнині каналців епідидимісу клітинами епітелію підтримується специфічне середовище, яке значно відрізняється за своїм складом у різних його частинах. Ця різниця виникає внаслідок комбінованої секреторної і абсорбційної активності епітеліальних клітин епідидимісу. У проксимальній (голівка) і центральній (тіло) частинах відбувається модифікація, а в дистальній (хвіст) – накопичення і зберігання зрілих сперматозоїдів [12].

Сперматозоїди мають дуже малий об'єм цитоплазми і після виходу з сім'яника несуть на своїй поверхні лише мінімальну кількість білків. У процесі посттестикулярного дозрівання вони зазнають низки біохімічних і фізіологічних змін, які вимагають включення нових молекул, отриманих з епітелію епідидимісу, а також посттрансляційних модифікацій ендогенних білків, синтезованих під час сперматогенезу в яєчках. Дозріван-

ня в епідидимісі залежить від тестостерону. Під контролем андрогенів епітелій епідидимісу секретує білки, які послідовно взаємодіють з поверхнею гамет. Деякі з білків сперматозоїдів, отриманих під час дозрівання, є інтегральними мембранними білками. Наявність іонів цинку в порожнині каналців епідидимісу, або в середовищі інкубації під час досліджень *in vitro*, істотно підвищує ефективність переносу білків. Показано, що вони секретуються епітелієм епідидимісу апокринним шляхом і пов'язані з екзосомами, які називають епідидимосомами. Білок P25b, що належить до сімейства білків поверхні сперматозоїдів (P26h/P34H), необхідних для зв'язування з поверхнею яйцеклітини, також з'являється на поверхні сперматозоїда через взаємодію з епідидимосомами. До асоційованих з екзосомами білків, перенесених на сперматозоїди, належать і два ферменти – альдозоредуктаза і сорбітолдегідрогеназа, що беруть участь у поліоловому шляху перетворення глюкози. Цитокін, названий інгібуючий фактор макрофагальної міграції (MIF), є іншим білком, пов'язаним з екзосомами, котрий переноситься на сперматозоїди під час транзиту по епідидимісу. Вважають, що як ферменти перетворення глюкози, так і MIF, які секретуються апокринним способом клітинами епітелію епідидимісу, модулюють рухливість сперматозоїдів під час транзиту по чоловічому репродуктивному тракту [13]. Дезінтегрин і металопротеази (ADAM7) експресуються в епітелії придатка яєчка і переносяться на поверхню сперматозоїдів під час просування по каналцям епідидимісу. Білок ADAM7 є інтегральним білком плазматичної мембрани сперматозоїдів і переноситься до них безпосередньо з епідидиміальних везикул [14]. HSPA2, білок із сімейства, що зв'язує рецептори андрогенів, координує ремоделювання спеціалізованих доменів сперматозоїдів, які покривають передню зону їх головки. Він задіяний і в розпізнаванні ооцитів. Унікальні структурні

та біохімічні характеристики HSPA2 дають можливість цьому білку теплового шоку відігравати свої важливі ролі в оркеструванні морфологічної диференціації чоловічих статевих клітин під час сперматогенезу, а також їх функціонального перетворення під час дозрівання сперматозоїдів [15]. Хоча багато деталей біохімічної модифікації не повністю зрозумілі, дослідження, проведені в декількох лабораторіях, переконливо показують, що під час проходження сперматозоїдів від проксимального до дистального сегментів епідидимісу модифікуються гліканові фрагменти глікопротеїнів їх плазматичної мембрани ферментами, що знаходяться у рідині порожнини каналців [16]. Протеомний аналіз, проведений із застосуванням двомірної хроматографії показав, що з 8 білків сперматозоїдів, виділених з головки епідидимісу, 3 були молекулярними шаперонами, а 3 – структурними білками. З 9 білків сперматозоїдів з каудальної частини епідидимісів 6 були ферментами енергетичного обміну [17]. Це придбання додаткових білків у каналцях епідидиміса, який є частиною репродуктивного шляху, компенсує повну транскрипційну та трансляційну бездіяльність морфологічно зрілих сперматозоїдів [18].

Таким чином, завдяки низці біохімічних процесів сперматозоїди набувають функціональної зрілості у проксимальних сегментах епідидимісу перед тим, як зберігатися в спокійному стані в дистальному сегменті в процесі підготовки до еякуляції. Такий чітко виражений поділ функцій досягається завдяки комбінуванню секреторної і абсорбційної активності епітеліальних клітин, що вистилають кожний сегмент [19].

Під час посттестікулярного дозрівання сперматозоїди стикаються з біохімічними та морфологічними процесами, які можуть завдати їм окисного ураження. Цьому протидіють антиоксидантні ферменти, потрібні для усунення реактивних форм кисню (РФК), що утворюються внаслідок власного аеробного

метаболізму, а також вироблених аномальними сперматозоїдами. Антиоксидантну систему епідидимісу складають супероксиддисмутази, каталаза, глутатіонпероксидази, пероксиредоксини, глутатіон-S-трансферази, тіоредоксини і тіоредоксинредуктази. Нокаут-моделі показали, що відсутність хоча б одного з ферментів впливає на якість сперми, модифікує білки, що беруть участь у моториці, здатності до запліднення ооцитів, і сприяє окисному пошкодженню ДНК сперматозоїдів [20]. Аналіз сперматозоїдів з цілого епідидимісу, на відміну від отриманих лише з хвостової його частини, дає можливість більш точно оцінити ефекти досліджуваних препаратів. Проведені нами дослідження активності окисно-відновних процесів у сперматозоїдах показали, що у старіючих щурів, які отримували летрозол, індекс активності окисно-відновних процесів зростає, що свідчить про їх кращу захищеність від РФК.

ВИСНОВКИ

1. Незважаючи на відсутність суттєвого підвищення вмісту тестостерону у плазмі крові при тримісячному інгібуванні ароматази стероїдів летрозолом, у старіючих щурів, на відміну від молодих, спостерігалися чіткі біологічні ефекти андрогенної стимуляції сперматогенезу і дозрівання сперматозоїдів у епідидимісі, а також покращення їх дихальної активності і зменшення кількості патологічних форм.

2. Через 2 міс після закінчення введення летрозолу зазначені показники не відрізнялися від контрольних.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

**Л.И. Полякова, О.В. Сачинская, О.А. Фалиш,
А.Г. Резников**

АНДРОГЕННАЯ ФУНКЦИЯ СЕМЕННИКОВ И СОСТОЯНИЕ СПЕРМАТОЗОИДОВ МОЛОДЫХ И СТАРЕЮЩИХ КРЫС ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ИНГИБИРОВАНИЯ АРОМАТАЗЫ СТЕРОИДОВ И ЕГО ОТМЕНЫ

В экспериментах на самцах крыс линии Вистар исследовано влияние ингибитора ароматазы стероидов летрозола, используемого в дозе 1 мг/кг через день на протяжении 3 мес, на содержание тестостерона в плазме крови и количество сперматозоидов в придатках семенников, морфологическое и функциональное их состояние у молодых (8 мес) и стареющих (18 мес) животных. Изменения исследованных показателей происходили в основном у стареющих животных. Ингибирование конверсии тестостерона в эстрадиол приводило к увеличению количества сперматозоидов в придатках семенника ($34,3 \pm 2,4 \cdot 10^6/\text{мл}$ у контрольных животных против $44,0 \pm 2,1 \cdot 10^6/\text{мл}$ у опытных), улучшению качественного состава (морфологически нормальных $53,4 \pm 1,4$ у контрольных животных против $68,9 \pm 2,6\%$ у опытных) и индекса дыхательной активности сперматозоидов ($0,45 \pm 0,08$ у контрольных животных против $0,67 \pm 0,10$ у опытных). Через 2 мес после отмены летрозола содержание тестостерона, количество сперматозоидов, дыхательная активность и процент нормальных морфологических форм в экспериментальных группах не отличались от таких у контроля. Ключевые слова: тестостерон; летрозол; сперматозоиды; крысы.

**L.I. Polyakova, O.V. Sachynska, O.A. Faliush,
A.G. Reznikov**

ANDROGENIC FUNCTION OF TESTES AND STATE OF SPERMS IN YOUNG AND AG- ING RATS AFTER LONG INHIBITION OF STEROID AROMATASE FOLLOWED BY ITS WITHDRAWAL

Effects of letrozole, a steroid aromatase inhibitor, administration (1 mg/kg b.w. every two days for 3 months) and withdrawal in the blood plasma testosterone level and quantity, morphology and quality of epididymal sperms were studied in young (8 months) and aging (18 months) Wistar male rats. Changes of the features under study occurred prevalently in aging animals. Inhibition of testosterone to estradiol conversion resulted in stimulation of spermatogenesis, an increase of sperm quantity in epididymis and an improvement of sperm quality composition and respiration. In 2 months after letrozole withdrawal, there was no difference between experimental and control groups with regard to testosterone level, sperm quantity and respiration, and percentage of normal morphological forms.

Key words: testosterone, letrozole, sperm, rat

*V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology
and Metabolism of NAMS Ukraine, Kyiv;
e-mail: polyakova_lubov@ukr.net*

REFERENCES

1. Luchytskyy YeV, Luchytskyy VYe. Modern concept of age androgendeficiency in males. *Endokrynologia*. 2012;4:56–60. [Ukrainian].
2. Basaria S. Reproductive aging in men. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013;42:255-70.
3. Reznikov AG. The point of view of pathophysiological-endocrinologist on the problem of age-related androgen deficiency in men (LOH-syndrome). *Mizhnarod Endocrin Zh*. 2014;62(6):11-18. [Russian].
4. Pye SR, Huhtaniemi IT, Finn JD, Lee DM, O'Neill TW, Tajar A, et al. Late-onset hypogonadism and mortality in aging men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:1357-66.
5. Bhasin S, Cunningham GR, Hayes FJ, Matsumoto AM, Snyder PJ, Swerdloff RS, et al. Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocr Metabol*. 2010;95(6):2536-59.
6. Tarasenko LV, Reznikov AG. The role of the ovarian steroidaromatase in pathogenesis of reproductive cycles disorders. *Fiziol Zh*. 2007;53(1):11-15. [Ukrainian].
7. Reznikov OG, Chaikovska LV, Polyakova LI, Sachynska OV, Yanishevsky OV. Age-related peculiarities of the response of male rat reproductive system to letrozole. *Endokrynologia*. 2015;20(1):425-30. [Ukrainian].
8. Reznikov OG, Sachynska OV, Polyakova LI, Faliush OA, Yanishevsky OV. The state of reproductive organs of young and aged male rats with the prolonged administration of letrozole and after its withdrawal. *Pathologia*. 2018;15(3):268-77. [Ukrainian].
9. Gelashvily OA. Variant of periodization of biologically similar stages of human and rat's ontogenesis. *Saratov Nauchno-med Zh*. 2008;4(4):125-6. [Russian].
10. Sanotsky IV. Methods of experimental research on elimination of thresholds of the effect of industrial poisons on generative function for the purpose of hygienic rationing. *Method Recommendations, USSR Ministry of Health*. M.; 1978.
11. Dun MD, Aitken RJ, Nixon B. The role of molecular chaperones in spermatogenesis and the post-testicular maturation of mammalian spermatozoa. *Hum Reprod Update*. 2012;18(4):420-35.
12. Zhou W, Sipilä P, De Iuliis GN, Dun MD, Nixon B. Analysis of epididymal protein synthesis and secretion. *J Vis Exp*. 2018;25(138).
13. Sullivan R, Saez F, Girouard J, Frenette G. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cells Mol Dis*. 2005;35(1):1-10.
14. Oh JS, Han C, Cho C. ADAM7 is associated with epididyl-

- mosomes and integrated into sperm plasma membrane. *Mol Cells*. 2009;28(5):441-6.
15. Nixon B, Bromfield EG, Cui J, De Iuliis GN. Heat shock protein A2 (HSPA2): regulatory roles in germ cell development and sperm function. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 2017;222:67-93.
 16. Tulsiani DR, Orgebin-Crist MC, Skudlarek MD. Role of luminal fluid glycosyltransferases and glycosidases in the modification of rat sperm plasma membrane glycoproteins during epididymal maturation. *J Reprod Fertil Suppl*. 1998;53:85-97.
 17. Ijiri TW, Merdiushev T, Cao W, Gerton GL. Identification and validation of mouse sperm proteins correlated with epididymal maturation. *Proteomics*. 2011;11(20):4047-62.
 18. Kuo YW, Li SH, Maeda K, Gadella BM, Tsai PS. Roles of the reproductive tract in modifications of the sperm membrane surface. *J Reprod Dev*. 2016;62(4):337-43.
 19. Zhou W, De Iuliis GN, Dun MD, Nixon B. Characteristics of the epididymal luminal environment responsible for sperm maturation and storage. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:59.
 20. O'Flaherty C. Orchestrating the antioxidant defenses in the epididymis. *Andrology*. 2019.

Матеріал надійшов до редакції 26.06.2019