УДК 615.9:616.36-099:576.2.24:577.161.3 https://doi.org/10.33250/15.04.256

Г. М. Шаяхметова, І. С. Блажчук, В. М. Коваленко

Гонадопротекторна ефективність комбінованого застосування метформіну з метовітаном за метаболічного синдрому, індукованого в щурів-самців в ювенільному віці

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: метаболічний синдром, щури, гонади, метформін, метовітан

Серед потенційних ризиків для здоров'я, пов'язаних з розвитком метаболічного синдрому (МС) та ожирінням, на особливу увагу заслуговує негативний вплив на чоловічу статеву функцію [1, 2]. Відомо, що репродуктивна система є однією з найвразливіших систем організму, яка тонко реагує на різні зовнішні впливи та захворювання в дитячому та підлітковому віці, коли відбувається її формування, що є причиною майже половини випадків чоловічої інфертильності [3].

Враховуючи зростаючу кількість дітей і осіб молодого віку з МС, спостерігається збільшення споживання метформіну, який зазвичай призначається за даних умов [4, 5]. Сучасні дані щодо ефективності застосування метформіну за порушень чоловічої репродуктивної функції є суперечливими [6, 7]. Отже, пошук нових мішеней для таргетної терапії патологій, пов'язаних з МС, є одним з найважливіших завдань сучасної фундаментальної та прикладної медицини. Такими мішенями можуть бути, зокрема, біологічні процеси, які відіграють ключову патогенетичну роль у розвитку тих чи інших небажаних змін в організмі. Очевидно, що широта спектра нозологічних форм, які підлягають таргетній корекції, залежить від універсальності патогенетичних чинників. Одним з таких механізмів є окиснювальний стрес, який певною мірою притаманний переважній більшості патологічних станів і, як відомо, відіграє важливу роль як за МС, так і в розвитку порушень чоловічої репродуктивної функції [8–10]. Незважаючи на низьке кисневе навантаження, що характеризує тестикулярне мікросередовище, ця тканина залишається вразливою до оксидативного стресу завдяки наявності систем, що потенційно можуть генерувати АФК: окисно-відновні ферменти, у тому числі ксантин, НАДФН-оксидази, цитохром Р-450. Також сьогодні є дані, що оксидативний стрес, який виник внаслідок МС, може відігравати фундаментальну роль у регуляції апоптозу в сім'яниках [10]. Унаслідок процесів апоптозу відбувається дегенерація сперматогоній, що в свою чергу призводить до зниження сперматогенезу. Таким чином, оксидативний стрес є потенційним фактором розвитку чоловічого безпліддя. Саме тому ідея використання разом з метформіном препарату метаболічної дії – метовітану, що з огляду на його склад має високі антиоксидантні властивості, видається логічною в аспекті зниження стресогенного впливу МС на чоловічі гонади. Тим більше, що раніше нами було встановлено гона-

© Колектив авторів, 2021

допротекторний ефект метовітану за умов його введення щурам на фоні тестикулярних розладів, викликаних введенням комбінації протитуберкульозних лікарських засобів [11].

Мета дослідження – оцінити ефективність метформіну та його комбінації з метовітаном за введення щурам-самцям з МС щодо здатності запобігати розвитку оксидативного стресу в гонадах і розвитку субфертильності.

Матеріали та методи. План досліджень був розглянутий і схвалений Комітетом з біоетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»; усі процедури, пов'язані з гуманним поводженням з тваринами та їхнім використанням у експериментах, були дотримані.

Для відтворення моделі МС було використано фруктозу кристалічну харчову (виробник – Туреччина, постачальник – Голландія, серія LS2P00251506-247) з питною водою.

З фармакотерапевтичною метою використовували метформін ТОВ «Тева Оперейшнз Поланд», Польща, Р. П. №UA/7769/01/01 і препарат метовітан (Methovitan) виробництва ПрАТ «Технолог», Україна, Р. П. № UA/1553/01/01.

Досліджувані препарати вводили тваринам у дозовому режимі, що застосовується в клініці (відповідно до інструкцій) з урахуванням коефіцієнта видової чутливості [12].

У дослідженнях використовували самців щурят з початковою масою тіла 50–70 г, віком 3 тижні. Крім того, для парування з самцями використовували віргільних статевозрілих самиць масою тіла 160–180 г. Тварини були надані розплідником експериментально-біологічної клініки ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Щурів утримували в стандартних умовах віварію за температури 22–24 °С і відносної вологості 30–70 %, з вільним доступом до корму та води. Тварин було розподілено методом рандомізації на 4 групи по 12 щурят у кожній: 1 група – контроль – тварини, що отримували питну воду; 2 група – тварини, які замість питної води отримували 10 % розчин фруктози протягом 60 днів (модель МС) [13]; 3 група – тварини з МС, яким внутрішньошлунково зондом уводили метформін у дозі 266 мг/кг маси тіла в 1 % крохмальному гелі протягом останніх 30 днів споживання фруктози; 4 група – на фоні МС через 28 днів від початку його моделювання введення перорально метовітану протягом 3 п'ятиденних курсів з перервами в 9 днів у дозі 77,3 мг/кг маси тіла (у перерахунку на метіонін) у 1 % крохмальному гелі за 2 год до введення метформіну (у зазначеному вище дозовому режимі).

Через 42 дні від початку експерименту щурів парували з інтактними самицями у співвідношенні самець : самиця – 1 : 1 протягом 3 естральних циклів для визначення фертильності. Після закінчення терміну парування самців щурів піддавали евтаназії шляхом декапітації під анестезією парами діетилового ефіру. Для досліджень брали сім'яники та епідидиміси. Кількість сперматозоїдів визначали, використовуючи суспензію клітин придатка сім'яника, яку готували з дотриманням стандартних методичних вимог [14].

Вплив МС і досліджуваних лікарських засобів на фертильність самців-щурів визначали за формулою:

$$\frac{\text{число запліднених самиць}}{\text{число вагітних самиць}} \cdot 100\ \%.$$

Рівень загального тестостерону в сироватці крові визначали, використовуючи набір Testosterone ELISA виробництва DRG Instruments GmbH

(Німеччина), методом твердофазного імуноферментного аналізу згідно з інструкцією виробника. Вимірювання оптичної щільності калібраторів і зразків проводили на мікропланшетному ридері BioTek (США).

У гомогенаті сім'яників визначали швидкість аскорбат-залежного утворення продуктів реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) [15], активність супероксиддисмутази (СОД) [16] і вміст відновленого глутатіону [17]. У сироватці визначали рівень церулоплазміну методом Равіна [18]. Статистичний аналіз результатів експерименту проводили з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Категоріальні (якісні) змінні порівнювали за кутовим перетворенням Фішера. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною у разі $p \leq 0,05$ [19]. Отримані дані представляли як середнє значення ± похибка середнього (M ± m).

Результати та їх обговорення. Нами було досліджено показники, що характеризують стан про- та антиоксидантної систем у сім'яниках і сироватці крові щурів-самців репродуктивного віку з МС, що розвинувся в ювенільному віці, та за умов введення метформіну та його комбінації з метовітаном (табл. 1).

Наведені в таблиці 1 дані свідчать, що за МС у сім'яниках щурів зростала швидкість індукованого аскорбатом утворення ТБК-реактантів і компенсаторно підвищувалась активність СОД відповідно на 35 % і 37 % ($p < 0,05$). СОД проявляє найвищу активність у каталізі реакції дисмутації, у результаті якої відбувається перетворення високореакційного аніона радикала оксигену (супероксид аніона, O_2^-) у перекис гідрогена і молекулярний оксиген [20]. Разом з каталазою (каталізує реакцію розкладання перекису водню з утворенням води й кисню), СОД відіграє роль внутрішньоклітинного захисту від АФК.

Зміни активності СОД на фоні зростання рівня ПОЛ у групі з МС можуть свідчити про оксидативний стрес у клітинах сім'яників внаслідок МС, індукованого в ювенільному віці.

Одночасно в сім'яниках тварин з МС відзначали незначне, але досто-

Таблиця 1

Показники про/антиоксидантної системи сім'яників і сироватки крові щурів з метаболічним синдромом, що розвинувся в ювенільному віці, та за введення метформіну або його комбінації з метовітаном (M ± m, n ≥ 10)

Показник	Експериментальна група			
	контроль	метаболічний синдром	метаболічний синдром + метформін	метаболічний синдром + метформін+ метовітан
Швидкість утворення ТБК-реактантів у сім'яниках, мкмоль/хв • мг білка	0,31 ± 0,04	0,42 ± 0,02*	0,35 ± 0,05	0,31 ± 0,09#
Активність СОД у сім'яниках, у. о./мг білка	6,47 ± 0,68	8,92 ± 0,79*	6,68 ± 0,83	6,49 ± 0,71#
Вміст відновленого глутатіону в сім'яниках, нмоль/мг білка	3,92 ± 0,13	3,36 ± 0,08*	3,71 ± 0,18	3,79 ± 0,24#
Вміст церулоплазміну в сироватці крові, мг/л	433,68 ± 19,62	357,88 ± 25,63*	371,0 ± 24,01*	414,13 ± 17,66#

*Примітка. *$p \leq 0,05$ порівняно з контрольною групою, #$p \leq 0,05$ порівняно з групою МС.*

вірне ($p < 0,05$) зменшення вмісту відновленого глутатіону (табл. 1). Глутатіон, трипептид, що складається з залишків γ-глутамінової кислоти, цистеїну та гліцину, присутній у всіх клітинах і має антиоксидантні властивості (взаємодіє з АФК), а також відіграє роль донора електронів для деяких антиоксидантних ферментів, включаючи пероксидази (глутатіонпероксидази та пероксиредоксини). Надходження відновленого глутатіону з клітин Сертолі може бути необхідним як для захисту від АФК, так і як джерело амінокислот у процесах сперматогенезу [21]. Очевидно, що зростання рівня пероксидації призводило до структурно-функціональних порушень у клітинах сім'яників, а зниження вмісту відновленого глутатіону може бути пов'язане зі збільшенням його використання для детоксикації надлишків вільних радикалів, що утворювались внаслідок активації ПОЛ.

Крім того, показано, що в сироватці крові за умов МС у 1,2 разу ($p < 0,05$) порівняно з контролем знижувався вміст церулоплазміну – основного позаклітинного антиоксиданту крові. Церулоплазмін, що містить в своєму складі іони купруму, належить до антиоксидантних протеїнів сироватки крові. Функціонально церулоплазмін належить до оксидоредуктаз. Відомо, що церулоплазмін здатен на 50 % інгібувати ПОЛ за рахунок перехвату та інактивації супероксидного радикала [22]. Наші дані стосовно церулоплазміну співпадають з результатами клінічних досліджень, де було показано статистично достовірне зниження вмісту церулоплазміну сироватки за МС і цукрового діабету [23].

Якщо введення щурам метформіну в монорежимі не справило суттєвого позитивного впливу на показники, що характеризують стан про/антиоксидантної рівноваги в сім'яниках і в організмі в цілому (табл. 1), то одночасне його застосування з метовітаном, коригуючи рівень активності СОД і вміст відновленого глутатіону, дозволило нормалізувати активність процесів ПОЛ. Крім того рівень церулоплазміну сироватки крові за цих умов зростав на 17 % ($p < 0,05$), що свідчить про певну мобілізацію компенсаторних можливостей організму, спрямованих на відновлення рівноваги антиоксидантів і прооксидантів.

Позитивну дію метовітану в даному випадку можна пояснити наявністю в його складі метіоніну, метаболіт якого S-аденозилметіонін має антиоксидантні властивості, а також є попередником біосинтезу глутатіону, підвищуючи його рівень у сім'яниках тварин [24]. Окрім того, метіонін може бути пасткою вільних радикалів [25].

Слід зазначити, що антиоксидантні властивості метовітану можуть бути зумовлені не лише наявністю метіоніну в його складі, але й іншими його компонентами: тіаміном, нікотинамідом, α-токоферолацетатом і цинком. Існують докази того, що тіамін здатен частково виступати як пастка вільних радикалів O_2^- (або ·OH) [26]. Нікотинамід, попередник декількох клітинних коферментів, протидіє оксидативному стресу та запаленню [27]. Вітамін Е (α-токоферол), визнаний як потужний ліпофільний антиоксидант, є абсолютно необхідним для підтримки сперматогенезу в ссавців. Він присутній у особливо великих кількостях у клітинах Сертолі й сперматоцитах на стадії пахітени та меншою мірою в круглих сперматидах. Останніми дослідженнями підтверджено, що вітамін Е покращує сперматогенез, регулюючи експресію

FLNA, SPCS3, YBX3 та RARS, білків, які пов'язані з плазматичними мембранами та біосинтезом протаміну сперматозоїдів [28]. Як показано R. J. Aitken та S. D. Roman [1], рівень вітаміну Е в сім'яниках помітно зменшується внаслідок індукції окиснювальних процесів, а його введення сприяє пригніченню ПОЛ у тестикулярних мікросомах і мітохондріях, зменшуючи негативний вплив оксидативного стресу. Що стосується цинку, то це антиоксидантний мікроелемент, присутній у високій концентрації в чоловічих статевих органах, особливо в передміхуровій залозі. Він необхідний для підтримки сперматогенезу та оптимальної функції сім'яників, передміхурової залози та епідидимісів. Цинк може діяти як інгібітор окиснення, зв'язуючи сульфгідрильні групи в білках, і займаючи місця зв'язування заліза та міді в ліпідах, білках і ДНК [29], і сприяти регуляції рівня окисного стресу в чоловічих статевих органах. У свою чергу ефективний контроль розвитку окисного стресу в гонадах має захищати клітини Лейдига від окисного інгібування синтезу тестостерону, поліпшуючи продукцію сперматозоїдів і сприяючи зростанню фертильності.

Деякі дослідження *in vitro* і експерименти на тваринах показали, що пошкодження клітин, викликане окиснювальним стресом, має прямий негативний вплив на синтез тестостерону [30, 31]. І дійсно, за умов нашого експерименту в тварин з МС спостерігався спад стероїдогенної активності сім'яників. У сироватці крові відзначали зниження вмісту тестостерону в 1,6 разу ($p < 0,05$) порівняно з контролем, що може бути розцінено як один з компонентів загального зриву адаптації, пов'язаного з МС (рис. 1).

Синтез чоловічих статевих гормонів, включаючи фолікулостимулюючий гормон (ФСГ), лютеїнізуючий гормон (ЛГ) і тестостерон, за нормальних фізіологічних умов добре збалансований [32–34]. Тестостерон синтезується в клітинах Лейдига під дією ЛГ й є ключовим для продукції сперматозоїдів [35]. Нормальний процес сперматогенезу й виживаність статевих клітин підтримуються за рахунок оптимальних рівнів інтратестикулярного тестостерону [36]. Дисбаланс продукції тестостерону або її повне гальмування може призвести до порушення або повного пригнічення сперматогенезу [37].

Отримані дані стосовно зниження рівня тестостерону в щурів з МС разом з виявленим нами зниженням кількості сперматозоїдів (рис. 2) можуть свідчити про розвиток гіпогонадизму в тварин даної групи.

Варто відзначити, що поряд з чистими формами гіпогонадизму – первинного (гіпергонадотропного) і вторинного (гіпогонадотропного) часто зустрічається їхнє поєднання, так званий змішаний, що розвивається за різних патологічних станів: захворювань печінки, нирок, екзо-

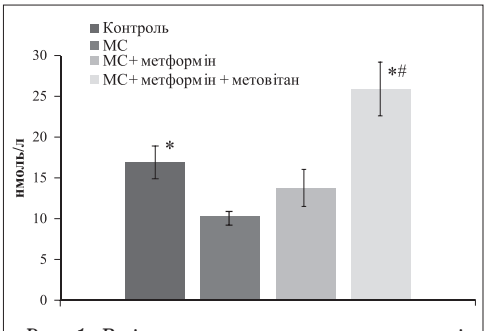

Рис. 1. Вміст тестостерону в сироватці крові щурів-самців з метаболічним синдромом (МС), що розвинувся в ювенільному віці, та за умов введення метформіну або його комбінації з метовітаном (M ± m, n ≥ 10)

*Примітка. Тут і на рис. 2: *$p \le 0,05$ порівняно з контрольною групою, #$p \le 0,05$ порівняно з групою МС.*

генних інтоксикацій, але найчастіше ця форма зустрічається при ожирінні, МС, цукровому діабеті й у літніх чоловіків (віковий гіпогонадизм) [38].

Окреме введення метформіну не справляло позитивного впливу на гормональний фон щурів-самців (рис. 1). Водночас його застосування сумісно з метовітаном сприяло зростанню рівня тестостерону, який навіть перевищував показники контрольної групи.

Дані, наведені на рисунку 2, свідчать, що комбіноване введення досліджуваних препаратів щурам одночасно з обмеженням оксидативного ушкодження гонад і відновленням вмісту тестостерону сироватки крові сприяло й збільшенню кількості сперматозоїдів з хвостової частини епідидиміса.

Щодо стану інтегральних показників гонад (табл. 2), то слід відзначити зміни абсолютної маси й об'єму сім'яників щурів, які починаючи від закінчення підсосного періоду споживали високофруктозну дієту, що, вочевидь, віддзеркалює дегенеративні зміни в сім'яних канальцях [39]. Варто відмітити, що в попередній серії експериментів ми показали відсутність впливу як метформіну, так і метовітану за умов роздільного введення на згадані вище показники

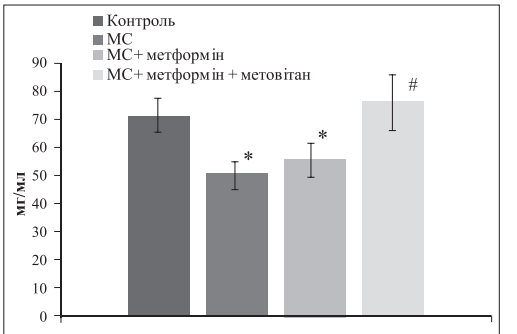

Рис. 2. Кількість сперматозоїдів з хвостової частини епідидиміса щурів-самців з метаболічним синдромом (МС), що розвинувся в ювенільному віці, та за умов введення метформіну або його комбінації з метовітаном (M ± m, n ≥ 10)

(неопубліковані дані). Застосування метформіну з метовітаном за аналогічних доз і тривалості застосування в режимі сумісного введення обмежувало негативні наслідки оксидативного стресу, сприяло нормалізації маси й об'ємів гонад до показників контрольного рівня (табл. 2). Щодо маси придатків сім'яників – епідидимісів, то в попередньому експерименті так само монотерапія метформіном або метовітаном не справила коригуючого впливу (неопубліковані дані), тоді як за їхнього сумісного введення цей показник залишився практично на рівні контролю (табл. 2).

У кінцевому результаті відновлення нормального стану гонад і збільшення кількості сперматозоїдів сприяло зростанню індексу запліднювальної

Таблиця 2

Деякі показники стану гонад щурів-самців з метаболічним синдромом, що розвинувся в ювенільному віці, та за умов введення метформіну або його комбінації з метовітаном (M ± m, n = 10)

Показник	Експериментальна група			
	контроль	метаболічний синдром	метаболічний синдром + метформін	метаболічний синдром + метформін + метовітан
Маса сім'яників, г	3,56 ± 0,12	3,10 ± 0,06*	3,25 ± 0,05*	3,42 ± 0,08$^{\#,\lozenge}$
Об'єм сім'яників, см^3	3,24 ± 0,14	2,78 ± 0,10*	2,84 ± 0,08*	3,17 ± 0,09$^{\#,\lozenge}$
Маса епідидимісів, г	0,89 ± 0,02	0,81 ± 0,02*	0,81 ± 0,01*	0,88 ± 0,02$^{\#,\lozenge}$

*Примітка. *$p \le 0,05$ порівняно з контрольною групою, $^{\#}p \le 0,05$ порівняно з групою МС, $^{\lozenge}p \le 0,05$ порівняно з групою «МС + Метформін».*

Таблиця 3

Індекс запліднювальної здатності щурів-самців з метаболічним синдромом, що розвинувся в ювенільному віці, та за умов введення метформіну або його комбінації з метовітаном (M ± m, n ≥ 6)

Експериментальна група	Кількість самиць, що парувались	Кількість самиць, що були запліднені	Індекс запліднювальної здатності, %
Контроль	24	18	75
Метаболічний синдром	24	15	63
Метаболічний синдром + метформін	24	19	79
Метаболічний синдром + метформін + метовітан	24	20	83#

Примітка. #p < 0,05 порівняно з групою МС.

здатності щурів-самців, які на фоні МС отримували комбіновану терапію метформіном і метовітаном (табл. 3).

У групі самців щурів з індукованим в ювенільному віці МС, спостерігали зниження індексу запліднювальної здатності на 12 % порівняно з контролем. Одночасно підрахунок кількості завагітнілих інтактних самиць, парованих з самцями дослідних груп, показав, що в групі, яка отримувала метформін, індекс запліднювальної здатності склав 79 %. Комбіноване введення метформіну та метовітану позначилось позитивним впливом – індекс запліднювальної здатності склав 83 % (20/24), що достовірно (p < 0,05) вище, ніж у групі з МС – 63 % (15/24).

Відповідно, індекс запліднювальної здатності в разі застосування метформіну зростав на 25 % порівняно з групою без лікування, а в групі з комбінованим введенням метовітану з метформіном зростання даного індексу становило 32 % порівняно з групою МС.

Висновки

1. Додавання метовітану до схеми лікування МС метформіном сприяло відновленню про/антиоксидантного статусу тестикулярного середовища, про що свідчить позитивна модуляція активності компонентів антиоксидантного захисту в сім'яниках і сироватці крові (активність СОД, вміст відновленого глутатіону та церулоплазміну, зниження рівня ПОЛ) піддослідних щурів-самців.
2. За умов сумісного введення метформіну та метовітану відновлювалася стероїдогенна активність сім'яників, свідченням чого стало підвищення рівня тестостерону в сироватці крові щурів даної групи порівняно з тваринами з МС.
3. Застосування метформіну сумісно з метовітаном, на відміну від монотерапії першим, сприяло нормалізації як маси сім'яників та епідидимісів до показників контрольного рівня, так і відновленню продукції сперматозоїдів, що в свою чергу мало позитивний вплив на запліднювальну здатність щурів-самців, у яких в ювенільному віці було індуковано МС.

1. Male urogenital disorders and metabolic syndrome: possible links, characteristics and potential treatment strategies. C. V. Oztekin, E. Kaya-Sezginer, D. Yilmaz-Oral, S. Gur. *Current pharmaceutical design.* 2018. V. 24 (9). P. 1019–1033.
2. Association of Male Infertility to Metabolic Syndrome and Other Related Disorders. S. Kumar, D. Agrawal, K. Sharma, T. R. Swain. *J. Integr. Nephrol. Androl.* 2015. № 2. P. 107–116.

3. *Курашова Н. А.* Оценка репродуктивного потенциала мужского населения. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014. V. 2 (96). P. 104–108.
4. *Saklayen M. G*. The global epidemic of the metabolic syndrome. *Current hypertension reports.* 2018. V. 20 (2). P. 12.
5. Novel therapeutic targets of metformin: metabolic syndrome and cardiovascular disease. R. Ladeiras-Lopes, R. Fontes-Carvalho, N. Bettencourt et al. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2015. V. 19 (7). P. 869–877.
6. Effects of short term metformin administration on androgens in diabetic men. N. S. Shegem, A. M. A. Nasir, A. M. Batieha et al. *Saudi medical journal.* 2004. V. 25 (1). P. 75–78.
7. The effects of metformin and diet on plasma testosterone and leptin levels in obese men. M. Ozata, C. Oktenli, N. Bingol, I. C. Ozdemir. *Obesity research*. 2001. V. 9 (11). P. 662–667.
8. Oxidative stress, aging, and diseases. I. Liguori, G. Russo, F. Curcio et al. *Clinical interventions in aging.* 2018. V. 13. P. 757.
9. The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: a review. N. Asadi, M. Bahmani, A. Kheradmand, M. Rafieian-Kopaei. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2017. V. 11 (5). P. IE01.
10. *Yara S., Lavoie J. C., Levy E.* Oxidative stress and DNA methylation regulation in the metabolic syndrome. *Epigenomics*. 2015. V. 7 (2). P. 283–300.
11. Comparative investigation of methionine and novel formulation Metovitan protective effects in Wistar rats with testicular and epididymal toxicity induced by anti-tuberculosis drugs co-administration. G. M. Shayakhmetova, L. B. Bondarenko, A. K. Voronina, V. M. Kovalenko. *Food and Chemical Toxicology.* 2017. V. 99. P. 222–230.
12. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers US of Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER [Електронний ресурс]. URL: http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm.
13. (−)-Epicatechin mitigates high-fructose-associated insulin resistance by modulating redox signaling and endoplasmic reticulum stress. A. Bettaieb, M. A. V. Prieto, C. R. Lanzi et al. *Free Radical Biology and Medicine*. 2014. V. 72. P. 247–256.
14. *Chitra K. C., Rao K. R., Mathur P. P*. Effect of bisphenol A and co-administration of bisphenol A and vitamin C on epididymis of adult rats: a histological and biochemical study. *Asian Journal of Andrology.* 2003. V. 5 (3). P. 203–208.
15. *Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г*. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. Москва : Медицина, 1977. С. 66–68.
16. *Сирота Т. В.* Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопросы медицинской химии*. 1999. Т. 45 (3). С. 263–272.
17. *Sedlak J., Lindsay R. H*. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*. 1968. V. 25. P. 192–205.
18. *Ravin H. A*. Rapid test for hepatolenticular degeneration. *The lancet*. 1956. V. 267 (6925). P. 726–727.
19. *Glantz S. A*. Primer of biostatistics. New York, NY : McGraw-Hill, 2001. 489 p.
20. *McCord J., Fridovich I.* Superoxide dismutase: the first twenty years (1968–1988). *Free Radical Biology & Medicine*. 1988. V. 5 (5–6). P. 363–369.
21. The expression of glutathione reductase in the male reproductive system of rats supports the enzymatic basis of glutathione function in spermatogenesis. T. Kaneko, Y. Iuchi, T. Kobayashi et al. *Eur. J. Biochem.* 2002. V. 269 (5). P. 1570–1578.
22. Обоснование применения церулоплазмина у пациентов с бронхиальной астмой. В. Проворов, Ю. Филатова, Л. Цветикова, М. Багмутова. *Молодой ученый*. 2016. V. 1. P. 86–89.
23. *Jeppu A. K., Kumar K. A., Augusthy A*. Plasma glucose and serum ceruloplasmin in metabolic syndrome and diabetes mellitus type 2. *Recent Adv Biol Med*. 2016. V. 2. P. 651.
24. Traumatic brain injury alters methionine metabolism: implications for pathophysiology. P. K. Dash, G. W. Hergenroeder, C. B. Jeter et al. *Frontiers in Systems Neuroscience*.2016. V. 10. P. 36.
25. MicroRNA-mediated regulation of glutathione and methionine metabolism and its relevance for liver disease. S. C. Lu, J. M. Mato, C. Espinosa-Diez, S. Lamas. *Free Radical Biology and Medicine*. 2016. V. 100. P. 66–72.
26. *Jung I. L., Kim I. G*. Thiamine protects against paraquat-induced damage: scavenging activity of reactive oxygen species. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2003. V. 15 (1). P. 19–26.
27. *Philips N., Chalensouk-Khaosaat J., Gonzalez S*. Stimulation of the Fibrillar Collagen and Heat Shock Proteins by Nicotinamide or Its Derivatives in Non-Irradiated or UVA Radiated Fibroblasts, and Direct Anti-Oxidant Activity of Nicotinamide Derivatives. *Cosmetics*. 2015. V. 2 (2). P. 146–161.
28. Vitamin E can promote spermatogenesis by regulating the expression of proteins associated with the plasma membranes and protamine biosynthesis. Y. Gao, L. Jian, W. Lu et al. *Gene*. 2021. V. 773. P. 145–364.

29. *Aitken R. J., Roman S. D.* Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Molecular mechanisms in spermatogenesis*. 2009. P. 154–171.
30. *Glade M. J., Smith K., Meguid M. M.* A glance at nutritional antioxidants and testosterone secretion. *Nutrition*. 2015. V. 31 (10). P. 1295.
31. Involvement of oxidative stress in tri-ortho–cresyl phosphate-induced autophagy of mouse Leydig TM3 cells *in vitro*. X. Liu, L. Xu, J. Shen, et al. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2016. V. 14 (1). P. 1–10.
32. *Engelking L., Rebar A. H*. Metabolic and endocrine physiology. CRC Press, 2012.
33. Relationship between male reproductive hormones, sperm DNA damage and markers of oxidative stress in infertility. M. Appasamy, S. Muttukrishna, A. R. Pizzey et al. *Reproductive biomedicine online*. 2007. V. 14 (2). P. 159–165.
34. Clinical urologic endocrinology: principles for Men's health. P. Kavoussi, R. A. Costabile, A. Salonia (Eds.). Springer Science & Business Media. 2012.
35. *Nelson W. O.* The male sex hormone: Some factors controlling its production and some of its effects on the reproductive organs. *Ohio J Sci*. 1937. V. 37. P. 378–393.
36. *Singh J. A., O'Neill C. H., Handelsman D. J*. Induction of spermatogenesis by androgens in gonadotropin-deficient (hpg) mice. *Endocrinology*. 1995. V. 136 (12). P. 5311–5321.
37. Hormonal regulation of spermatogenesis in primates and man: insights for development of the male hormonal contraceptive. R. I. McLachlan, L. O'Donnell, S. J. Meachem et al. *Journal of andrology*. 2002. V. 23 (2). P. 149–162.
38. *Роживанов Р. В.* Синдром гипогонадизма у мужчин. *Ожирение и метаболизм*. 2014. № 2. С. 30–34.
39. *Creasy D. M*. Pathogenesis of male reproductive toxicity. *Toxicologic pathology*. 2001. V. 29 (1). P. 64–76.

Г. М. Шаяхметова, І. С. Блажчук, В. М. Коваленко

Гонадопротекторна ефективність комбінованого застосування метформіну з метовітаном за метаболічного синдрому, індукованого в щурів-самців в ювенільному віці

Відомо, що метаболічний синдром (МС) негативно впливає на чоловічу статеву функцію та часто є причиною чоловічої інфертильності. Особливо вразливою є репродуктивна система, що зазнає негативного впливу зовнішніх факторів і захворювань у дитячому та підлітковому віці, коли відбувається її формування. Дані літератури щодо впливу на чоловічу репродуктивну функцію метформіну, який зазвичай призначається для лікування МС, є досить суперечливими.

Мета дослідження – оцінити ефективність метформіну та його комбінації з метовітаном за введення щурам-самцям з МС щодо здатності запобігати розвитку оксидативного стресу в гонадах і розвитку субфертильності.

Для відтворення моделі МС було використано 10 % розчин фруктози, яку давали замість питної води самцям щурят з початковою масою тіла 50–70 г, віком 3 тижні, яких було розподілено на 4 групи: 1 – контрольну (питна вода); 2 – МС (10 % розчин фруктози 60 днів); 3 – аналогічно попередній групі + метформін (перорально 266 мг/кг останні 30 днів); 4 – аналогічно попередній групі + метовітан (перорально три 5-денних курси 77,3 мг/кг останні 30 днів).

Додавання метовітану до схеми лікування МС метформіном сприяло відновленню активності компонентів антиоксидантного захисту в сім'яниках і сироватці крові. За умов сумісного введення метформіну та метовітану підвищувався рівень тестостерону в сироватці крові щурів даної групи порівняно з тваринами з МС. На відміну від монотерапії застосування метформіну з метовітаном сприяло нормалізації як маси сім'яників та епідидимісів до показників контрольного рівня, так і відновленню продукції сперматозоїдів, що в свою чергу мало позитивний вплив на запліднювальну здатність щурів-самців з індукованим в ювенільному віці МС.

Ключові слова: метаболічний синдром, щури, гонади, метформін, метовітан

А. М. Шаяхметова, И. С. Блажчук, В. Н. Коваленко

Гонадопротекторная эффективность комбинированного применения метформина с метовитаном при метаболическом синдроме, индуцированном у крыс-самцов в ювенильном возрасте

Известно, что метаболический синдром (МС) отрицательно влияет на мужскую половую функцию и часто является причиной мужской инфертильности. Особенно уязвима репродуктивная система, испытывающая отрицательное влияние внешних факторов и заболеваний в детском и подростковом возрасте, когда происходит ее формирование. Данные литературы о влиянии на мужскую репродуктивную функцию метформина, обычно назначаемого при МС, достаточно противоречивы.

Цель исследования – оценить эффективность метформина и его комбинации с метовитаном при

введении крысам-самцам с МС относительно способности предотвращать развитие оксидативного стресса в гонадах и развитие субфертильности.

Для воспроизведения модели МС использовали 10 % раствор фруктозы, которую давали вместо питьевой воды самцам крысятам 3-недельного возраста с изначальной массой тела 50–70 г, которые были распределены на 4 группы: 1 – контрольная (питьевая вода); 2 – МС (10 % раствор фруктозы 60 дней); 3 – аналогично предыдущей группе + метформин (перорально 266 мг/кг последние 30 дней опыта); 4 – аналогично предыдущей группе + метовитан (перорально 77,3 мг/кг, три 5-дневных курса последние 30 дней опыта).

Добавление метовитана в схему лечения МС метформином способствовало восстановлению активности компонентов антиоксидантной защиты в семенниках и сыворотке крови. В условиях совместного введения метформина и метовитана повышался уровень тестостерона в сыворотке крови крыс данной группы по сравнению с животными с МС. В отличие от монотерапии применение метформина с метовитаном способствовало нормализации как массы семенников и эпидидимисов до показателей контрольного уровня, так и восстановлению продукции сперматозоидов, что в свою очередь имело положительное влияние на оплодотворяющую способность крыс-самцов, у которых в ювенильном возрасте индуцировали МС.

Ключевые слова: метаболический синдром, крысы, гонады, метформин, метовитан

G. M. Shayakhmetova, I. S. Blazhchuk, V. M. Kovalenko

Gonadoprotective efficacy of combined metformin and metovitan use under metabolic syndrome induced in juvenile male rats

It is known that metabolic syndrome (MS) negatively affects male sexual function and often it is the cause of male infertility. The reproductive system is especially vulnerable under the negative influence of external factors and diseases in childhood and adolescence when its formation takes place. Literature data on the effect of metformin (which is usually prescribed for MS) on male reproductive function, are rather contradictory.

The aim of the study – to evaluate the effectiveness of metformin and its combination with metovitan when administered to male rats with MS concerning the ability to prevent the development of oxidative stress in the gonads and the development of subfertility.

A 10 % fructose solution was used to reproduce the MS model. It was given instead of drinking water to 3 weeks age male rat pups with initial body weight 50–70 g. Animals were divided into 4 groups: 1 – control (drinking water); 2 – MS (10 % fructose solution for 60 days); 3 – similar to the previous group + metformin (orally 266 mg/kg for the last 30 days of the experiment); 4 – similar to the previous group + metovitan (77.3 mg/kg orally, three 5-day courses for the last 30 days of the experiment).

In the testes of rats with MS, the increase in the rate of ascorbate-induced formation of TBA reactants and the activity of SOD respectively 35 % and 37 %, ($p < 0.05$) were noted. At the same time, in the testes of animals with MS there was a slight but significant ($p < 0.05$) decrease in the content of reduced glutathione. In addition, it was shown that under the conditions of MS the content of ceruloplasmin – the main extracellular antioxidant in the blood was diminishing 1.2 times ($p < 0.05$) as compared with the control. In animals of this group, there was a decrease in the steroidogenic activity of the testes. Serum testosterone decreased 1.6-fold ($p < 0.05$), which can be considered as one of the components of the overall failure of adaptation associated with MS. The data obtained on the decrease in testosterone levels in rats with MS, together with the detected decrease in the number of sperm may indicate the development of hypogonadism in animals of this group. Administration of metformin did not prevent above-mentioned changes. The addition of metovitan to the metformin in the treatment regimen for MS promoted the restoration of antioxidant defense components activity in the testes and blood serum. Under conditions of co-administration of metformin and metovitan, the level of serum testosterone in rats of this group increased in comparison with animals with MS. In contrast to monotherapy, the use of metformin with metovitan contributed to the normalization of both the weight of the testes and epididymis to the control level and the restoration of sperm production, which in turn had a positive effect on the fertilizing ability of male rats under MS induced at juvenile age.

Key words: metabolic syndrome, rats, gonads, metformin, metovitan

Надійшла: 20 липня 2021 р.

Прийнята до друку: 20 серпня 2021 р.

Контактна особа: Шаяхметова Ганна Михайлівна, доктор біологічних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 78 65. Електронна пошта: anna_shayakhmetova@yahoo.com