

УДК 615.014:615.451.35

А.А. ДРОЗДОВА¹, Л.Л. ДАВТЯН¹, Г.Б. НАДЕН², М.В. СМАГУЛОВА², З.Б. САКИПОВА²¹Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, г. Киев, Украина,²Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Республика Казахстан

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СПЕРМИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕННОГО АЭРОЗОЛЯ МЕТОДОМ IN VIVO

В данной статье приведены результаты исследования специфической спермицидной активности пенного аэрозоля, содержащего антимикробные вещества (метронидазол, хиназол, молочная кислота). Изучение спермицидного действия лекарственного средства проводили методом *in vivo* на кроликах породы шиншилла. На основании полученных результатов было установлено, что разработанное лекарственное средство – пенный аэрозоль выполняет контрацептивную функцию за счет блокирования проникновения сперматозоидов во влагалище и их инактивации.

Ключевые слова: пенный аэрозоль, подвижность, жизнеспособность сперматозоидов, головка, шейка, хвост.

На сегодняшний день социальные проблемы очень сильно влияют на душевное и физическое состояние людей. Регулирование рождаемости с помощью искусственного прерывания беременности (аборты) должно уйти в прошлое, т.к. имеет много серьезных осложнений и часто заканчивается впоследствии бесплодием. Планирование семьи и проблема аборт являются очень важной проблемой семьи и общества в целом. Сохраняется высокий уровень осложнений после абортов: более 70% женщин страдают воспалительными заболеваниями женской половой сферы, высок уровень эндокринных нарушений, бесплодия.

Невзирая на реализацию в Украине в течение последних 15 лет мероприятий, направленных на охрану репродуктивного здоровья и планирование семьи, уровень абортов, как метод регулирования рождаемости, остается высоким. Согласно данным официальной статистики, в Украине в 2010 году было сделано более чем 150 тысяч абортов. Искусственное прерывание беременности – один из наиболее значительных факторов расстройства здоровья женщины, а вызванные им осложнения приводят почти к каждой десятой потере в показателе смертности, связанной с беременностью и родами [1, 3].

В связи с существующими показателями абортов Украина переместилась в рейтинге стран мира по их количеству из категории стран с высоким уровнем распространения (больше 20 прерываний на 1000 ЖФВ) в категорию стран со средним уровнем распространения (15-20 абортов на 1000 ЖФВ). Однако, аборт в Украине остается одним из методов регулирования рождаемости для значительного числа семей – 2% женщин репродуктивного возраста [2, 4].

К сожалению, очень часто за всем этим стоят неэффективные методы контрацепции или полное их отсутствие, приводящие к росту числа абортов, которые оказывают неблагоприятное воздействие на организм женщины. Выход из данной ситуации заключается в использовании эффективных и безопасных методов предохранения от нежелательной беременности.

Актуальным является применение местных контрацептивов (негормональных) в виде мягких, твердых лекарственных форм, а также аэрозолей. Преимущества данных препаратов в том, что они практически выполняют функцию как барьерную, так и спермицидную (химическую).

Разработан новый комбинированный лекарственный препарат в виде пенного аэрозоля, содержащий антимикробные вещества (метронидазол, хиназол, молочная кислота) со спермицидной активностью.

Изучение спермицидного действия лекарственного средства проводили методом *in vivo* на кроликах породы шиншилла.

Цель нашего исследования – изучение специфической

спермицидной и антимикробной активности разработанного нового комбинированного лекарственного средства (ЛС) в виде пенного аэрозоля.

Материал и методы

Изучение спермицидного действия ЛС проводили методом *in vivo* на кроликах породы шиншилла при их интравагинальном применении по сравнению с препаратом «Фарматекс[®], крем влагалищный» (Лаборатория Инотек Интернациональ, Франция). Экспериментальные животные содержались согласно правилам, прописанным в Хельсинкской декларации, Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях и Законе Украины «О защите животных». Животные были разделены на группы по 5 животных в каждой: 1 группа – интактные (без введения препарата); 2 группа – аэрозоль; 3 группа – плацебо аэрозоля; 4 группа – Фарматекс[®], крем влагалищный (препарат сравнения).

При изучении спермицидного действия модельных образцов методом *in vivo* препараты и их основы вводили интравагинально перед помещением самок с самцами в одну клетку. Через 60 мин при отсутствии коитуса введение препаратов повторялось. Анализ мазков из влагалища брали через 10 и 20 мин после коитуса.

Для полного подтверждения беременности или ее отсутствия ожидали определенный срок беременности и только при отсутствии родов делали вывод о спермицидном действии препаратов.

Предварительная макроскопическая оценка содержимого из влагалища после коитуса. Фиксированный объем слизи из влагалища наносили на чистое предметное стекло и накрывали покровным стеклом (22x22 мм).

Свежеизготовленный препарат оставляли при близости к одной мин. для стабилизации. Температуру подвижности сперматозоидов проводили при температуре 37°C на предметном столике с подогревом, так как температура сильно влияет на подвижность и скорость сперматозоидов.

Препарат исследовали под микроскопом сначала при 100-кратном увеличении, при этом получили общие данные о равномерности распределения сперматозоидов на стекле. Потом препарат исследовали при 400-кратном увеличении.

Оценку подвижности сперматозоидов проводили после предварительного осмотра 100 сперматозоидов не менее чем в 5 полях зрения микроскопа. Подвижность каждого сперматозоида классифицировали по категориям (а), (б) и (с), используя такие критерии:

- быстрое поступательное движение;
- круговые, колебательные (медленные и вялопоступательные движения) и непоступательное движение;
- неподвижные сперматозоиды.

Вторичная макроскопическая оценка мазка из влагалища после коитуса. Окрашивание препарата для оценки жизнеспособности сперматозоидов.

Под жизнеспособностью подразумевают процент «живых» сперматозоидов, которые определялись по исключению красителя. Пропорцию живых и мертвых сперматозоидов определяли с помощью метода окрашивания препарата, который базировался на принципе поглощения мертвыми клетками с поврежденными плазматическими мембранами определенного красителя. В световом микроскопе проводили подсчет 100 сперматозоидов, дифференцируя живые (неокрашенные) и мертвые (окрашенные) сперматозоиды.

Оценка морфологии сперматозоидов. Изготовление мазка. Готовили не менее двух мазков для двукратной оценки. Препараты окрашивали по Папаниколау. Головка сперматозоида в акросомальной области окрашивалась в блекло-синий, а в постакросомальной – в темно-синий цвет. Средняя часть сперматозоида окрашивалась в красный цвет. Хвост также окрашивался в синий или красный оттенок.

Морфологическая классификация сперматозоидов. Размер головок сперматозоидов в закрашенных препаратах слегка меньше, чем размер головок живых сперматозоидов в эякуляте, однако их форма существенно не изменяется. Для определения понятия морфологической «нормы» сперматозоидов использовали такие критерии. Сперматозоид оценивался как нормальный, если его головка, шейка, средняя часть и хвост, были нормальными, то есть морфологическое описание отвечало следующим критериям:

1. Головка сперматозоида овальной формы, отношение длины к ширине от 1,50 до 1,75. Длину и ширину сперматозоидов измеряли с помощью окулярного микрометра;

2. Хорошо очерченная акросомная область, которая составляла 40-70% площади головки;

3. Средняя часть (шейка) – тонкая, составляет 1,5 длины головки и прикрепленная к головке по длине ее оси;

4. Хвост сперматозоида прямой, одинаковой толщины по всей длине, меньший по ширине средней части, незакрученный.

Сперматозоид рассматривали как патологический, если его головка, шейка, средняя часть и хвост имели изменения:

1. Дефекты головки – сперматозоиды имеют большие, маленькие, конусные, грушевидные, круглые и аморфные головки, головки с вакуолей (>20% площади головки заполнено незакрашенной вакуолей), головки с маленькой акросоматической областью (<40% площади головки) с двойными головками или другая их комбинация.

2. Дефекты шейки и средней части, а именно, «согнутая» шейка (шейка и хвост образуют угол около 90° по отношению к длине оси головки), асимметрическое прикрепление средней части к головке, утолщенная или неравномерная средняя часть, патологически тонкая средняя часть или другая их

комбинация. Если головки подвергались абсорбции, в эякуляте обнаруживались только отдельные хвосты или так называемые «булавочные головки». «Булавочные головки» не учитывали при подсчете как дефект головки, а учитывали как дефект шейки и средней части.

3. Дефекты хвоста: короткие, многочисленные, в форме булавок, сломанные, согнутые (угол больше 90°), хвосты неравномерной толщины, закрученные или другая их комбинация.

Порядок подсчета сперматозоидов при оценке их морфологии. При проведении исследования закрашенных препаратов под микроскопом с иммерсией использовали объектив с увеличением $\times 100$ с ярко освещенным полем зрения и линза с увеличением не менее $\times 10$.

Морфологическую оценку проводили в нескольких последовательно выбранных участках мазка. По мере того, как препарат систематически подвергался обзору от одного поля зрения ко второму, оценивали и подсчитывали все нормальные сперматозоиды, а также отмечали все их дефекты. Не учитывались сперматозоиды, которые были наложены друг на друга с головками, лежащими на ребрах. Их можно было оценить при изменении фокуса микроскопа.

Статистическую обработку результатов проводили по методике, приведенной в ГФУ 1 изд.

Результаты и обсуждение

Результаты макроскопического анализа влагалища самок после коитуса как до введения обработанного ЛС, так и после его введения приведены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что слизи из влагалища интактных животных вместила жизнеспособные сперматозоиды, способные к оплодотворению.

После интравагинального введения ЛС количество как подвижных, так и жизнеспособных сперматозоидов значительно снизилось (табл. 2) уже через 10 мин.

Таблица 1 – Результаты макроскопического анализа влагалища самок после коитуса

Группа животных	Подвижность, %			Жизнеспособность через, %	
	а	в	с	10 мин	60 мин
1 гр. – интактные	80,7 $\pm$ 9,6	8,6 $\pm$ 2,2	7,1 $\pm$ 1,5	76,8 $\pm$ 8,7	65,7 $\pm$ 9,6
2 гр. – аэрозоль	0	0	100	0,65 $\pm$ 0,17	0
3 гр. – основа аэрозоля	0	0	100	0,61 $\pm$ 0,21	0
4 гр. – Фарматекс®	0	0	100	0,68 $\pm$ 0,45	0

Таблица 2 – Морфология сперматозоидов после интравагинального применения

Группа животных	Норма	Патология		
		головки	шейки	хвоста
1. Исходные данные	86,8 $\pm$ 3,5	3,3 $\pm$ 0,7	1,2 $\pm$ 0,3	8,7 $\pm$ 1,6
2. Аэрозоль (n=5)	10 мин	8,6 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 1,5	61,7 $\pm$ 2,7
	20 мин	8,1 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 1,1	61,7 $\pm$ 3,1
3. Плацебо аэрозоля (n=5)	10 мин	9,8 $\pm$ 0,4	2,7 $\pm$ 1,51	61,4 $\pm$ 1,7
	20 мин	9,1 $\pm$ 0,3	2,8 $\pm$ 1,4	63,0 $\pm$ 2,4
4. Фарматекс®, крем	10 мин	7,8 $\pm$ 2,1	9,1 $\pm$ 0,2	58,0 $\pm$ 3,6
	20 мин	5,3 $\pm$ 5,8	10,3 $\pm$ 1,5	58,63 $\pm$ 5,01

Таблица 3 – Спермицидная активность ЛС

Группа	Беременность	Отсутствие беременности	Эффективность спермицидного действия, %
Аэрозоль (n=5)	-	5	100
Фарматекс®, крем (n=5)	-	5	100

Результаты морфологического анализа мазков, позволяющие выявить структурные изменения сперматозоидов, после применения препаратов в течение 10 и 20 мин, представлены в таблице 2. В исследованиях принимали участие только те животные, у которых после коитуса во влагалище были обнаружены сперматозоиды. Выявленные в мазках сперматозоиды чаще всего были обездвижены и разрушены в группах с использованием как ЛС, так и их плацебо.

При применении как ЛС, так и его плацебо, а также препарата «Фарматекс[®], крем вагинальный» происходит быстрое разделение головки и хвоста за счет морфологических нарушений в области головки и шейки, что, возможно, обусловлено значительным снижением поверхностного натяжения мембраны и ее разрушением при действии этих препаратов. Наблюдаются отек головки и шейки, а иногда и разрывы в местах их соединения с образованием «булавочной» головки.

Результаты спермицидного изучения ЛС приведены в таблице 3.

Установлено, что разработанное ЛС обладает выраженным спермицидным действием у кроликов, которое сравнивается с действием препарата сравнения «Фарматекс[®], крем вагинальный».

Таким образом, спермицидная активность разработанного пенного аэрозоля начинается с момента увеличения текучести системы, что происходит благодаря температуре влагалища (37°C). При такой температуре срок растекания основы не превышает 5-7 мин. Основа заполняет задний свод влагалища и закрывает зев шейки матки. Благодаря этому блокируется сразу несколько механизмов, обеспечивающих проникновение сперматозоидов в полость влагалища (барьерная функция):

- происходит предотвращение перемещения сперматозоидов из-за повышения вязкости влагалищного содержимого и сдвига щелочной реакции слизи шейки матки в кислую сторону за счет молочной кислоты, входящей в состав ЛС;

- благодаря высокой вязкости основы ЛС возможно создается механический барьер для контакта сперматозоидов со слизистым слоем шейки матки.

Влияние на сперму связано как с непосредственным спермицидным действием (за счет хинозола), так и изменением химических свойств самой спермы, что исключает выживание в ней сперматозоидов. Это, по всей видимости, достигается непосредственно сдвигом реакции спермы в кислую сторону за счет молочной кислоты.

Таким образом, разработанное лекарственное средство – пенный аэрозоль выполняет контрацептивную функцию за счет блокирования проникновения сперматозоидов во влагалище и их инактивации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Камаева С.С. Изучение контрацептивного действия лекарственного средства на основе этония / С.С. Камаева, И.В. Мухина, Л.А. Поцелуева, Н.В. Жемарина, Н.Н. Проданец // Вестник Санкт-Петербургского университета. – Сер. 11. – 2009. Вып. 1. – С. 168 – 174

2 Кулаков В.И. Руководство по планированию семьи / Под ред. В.Н. Серова. – Русфармамед, 2004. – 298 с.

3 Про затвердження Державної програми «Репродуктивне здоров'я нації» на період до 2015 року, затверджено Постановою Кабінету Міністрів України від 27 грудня 2006 року №1849

4 Alekseev O.M., Widgren E.E., Richardson R.T., O'Rand M.G. Association of NASP with HSP90 in mouse spermatogenic cells: stimulation of ATPase activity and transport of linker histones into nuclei // J. Biol. Chem. – 2005. – Jan. – №280(4). – P. 2904-2911

Т Ъ Ж Ы Р Ы М

А.А. ДРОЗДОВА¹, Л.Л. ДАВТЯН¹, Г.Б. НАДЕН², М.В. СМАГУЛОВА², З.Б. САҚИПОВА²

¹П.Л. Шупика атындағы Ұлттық дипломнан кейінгі білім беру медициналық академиясы, Киев қ., Украина,

²С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медициналық университеті, Алматы қ.,

Қазақстан Республикасы

IN VIVO ӘДІСІМЕН КӨПІРШІКТІ АЭРОЗОЛЬДЫҢ АЙРЫҚША СПЕРМИЦИДТІК БЕЛСЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

Бүгінгі күні әлеуметтік проблемалар адамдардың жаны мен тәнінің күйіне қатты әсер етеді. Жүктілікті жасанды үзудің (аборт) көмегімен тууды ретке келтіру өткен шақта қалуы керек, өйткені көптеген маңызды асқинулары бар және соның салдарынан көбіне бедеулікпен аяқталады. Отбасын жоспарлау мен аборттар проблемасы отбасының және тұтастай алғанда мемлекеттің аса маңызды проблемасы болып табылады. Аборттан кейін асқинулардың жоғары деңгейі сақталады: әйелдердің 70% астамы жыныс аясының қабынушылық ауруларына шалдыққан, эндокриндік бұзылыстардың, бедеуліктің деңгейі жоғары.

Украинада соңғы 15 жылдың ішінде ұрпақты болу саулығын сақтауға және отбасын жоспарлауға бағытталған іс-шаралардың іске асырылуына қарамастан тууды ретке келтірудің әдісі ретінде аборттардың деңгейі жоғары болып қалуда.

Өкінішке қарай, көбіне-көп осының бірінің артында тиімсіз контрацепциялау әдістері немесе аборттар санының артуына әкелетін контрацепциялаудың мүлдем жоқтығы тұрады, бұл әйел ағзасына келеңсіз әсерін тигізеді. Аталған жағдайдан шығудың жолы қалаусыз жүктіліктен сақтанудың тиімді әрі қауіпсіз әдістерін пайдалануда.

Жұмсақ, қатты дәрі-дәрмек пішімдері, сондай-ақ аэрозольдер түріндегі жергілікті контрацептивтерді (гормональды емес) қолдану өзекті болып табылады. Аталған препараттардың артықшылығы олардың мүлдем кедергілік және спермицидтік (химиялық) функция атқаруында.

Спермицидтік белсенділігі бар микробқа қарсы заттарды (метронидазол, хиназол, сүт қышқылы) қамтитын көпіршікті аэрозоль түріндегі жаңа құрама дәрі-дәрмек препараты әзірленді.

Дәрі-дәрмек құралының спермицидтік әсерін зерттеу Шиншилла тұқымының кролдарында in vivo әдісімен жүргізілді.

Әзірленген дәрі-дәрмек құралы көпіршікті аэрозольдың сперматозоидтардың қыпаққа енуін бұғаттау және олардың белсенділігін жою есебінен контрацептикалық функция атқаратыны анықталған болатын.

Негізгі сөздер: көпіршікті аэрозоль, сперматозоидтардың қозғалмалылығы, тіршілікке икемділігі, басы, мойны, құйрығы.

S U M M A R Y

A.A. DROZDOVA¹, L.L. DAVTYAN¹, G.B. NADEN¹, M.V. SMAGULOVA¹, Z.B. SAQIPOVA²

¹National Medical Academy of Postgraduate Education n.a. P.L. Shupyk, Kiev c., Ukraine,

²Kazakh National Medical University n.a. S.D. Asfendiyarov, Almaty c.

STUDY OF SPECIFICES OF ACTIVITY OF FOAMY AEROSOL BY METHOD OF IN VIVO

Today social problems very strongly influence a sincere and physical condition of people. Birth rate regulation by means of artificial interruption of pregnancy (abortions) has to consign to the past since has many serious complications and often comes to an end subsequently with infertility. Planning of a family and problem of abortions is very important problem of a family and society as a whole. High level of complications after abortions remains: more than 70% of women have inflammatory diseases

of the female sexual sphere, level of endocrine violations, infertility is high.

Unfortunately, very often behind all this there are inefficient methods of contraception or their total absence leading to growth of number of abortions which make an adverse effect on an organism of the woman. The exit from this situation consists in use of effective and safe methods of protection from undesirable pregnancy.

The modern is application of local contraceptives (negormonalny) in the form of soft, firm medicinal forms, and

also aerosols. Priimushchestva of these preparations that they practically carry out function both barrier, and spermitsidny (chemical).

We developed the new combined medicine in the form of the foamy aerosol, containing antimicrobial substances (metronidazole, хиназол, milk acid) with spermitsidny activity.

Studying of spermitsidny effect of medicine carried out in the vivo method on girlfriends of breed the Chinchilla.

Key words: Foamy aerosol, mobility, viability of spermatozoa, head, neck, tail.

УРОЛОГИЯ И НЕФРОЛОГИЯ

УДК 616.682-002-089.819.843

М.К. АЛЧИНБАЕВ, У.Ш. МЕДЕУБЕКОВ, С.М. КУСЫМЖАНОВ,
А.К. БУЙРАШЕВ, Б.Г. ТОКТАБАЯНОВ

Научный центр урологии им. Б.У. Джарбусынова, г. Алматы

РЕЗУЛЬТАТЫ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ОРХОЭПИДИДИМИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Объектом исследования являются экспериментальные животные (15 лабораторных кроликов мужского пола). В процессе работы всем животным проводили ультразвуковое исследование органов мошонки, ультразвуковое доплерографическое исследование сосудов органов мошонки, гистоморфологическое исследование биоптатов из органов мошонки. После гистоморфологического подтверждения наличия хронического орхоэпидидимита производили забор костного мозга у лабораторных животных из правого гребня крыла подвздошной кости, который вводили в несколько точек паренхимы яичка, имеющих достоверные признаки хронического неспецифического орхоэпидидимита.

Ключевые слова: орхоэпидидимит, стволовые клетки, ультразвуковое исследование, гистоморфологическое исследование.

Острое воспаление яичка и придатка (орхоэпидидимит) является одним из наиболее частых урологических заболеваний. Более 27% мужчин на протяжении жизни переносят эпидидимоорхит [1]. Как осложнение после различных перенесенных инфекционных заболеваний, эпидидимит и эпидидимоорхит встречаются по данным различных авторов с частотой от 6,3 до 18% случаев [2]. Среди острых воспалительных заболеваний мочеполовых органов острый эпидидимоорхит и эпидидимит занимают первое место по частоте. Уже эти статистические данные о частоте заболеваний свидетельствуют об актуальности его изучения с различных точек зрения: патогенетической, диагностической, лечебной, профилактической.

Переход острого орхоэпидидимита в хронический чреват многими последствиями, среди которых наиболее серьезные нарушение проходимости придатка яичка, развитие склеротического и дистрофического процессов в яичке, что приводит к нарушению репродуктивной функции этих органов на стороне поражения. При двустороннем поражении, что бывает особенно часто при орхоэпидидимите как следствии хронического простатита, т.е. наличии исходного очага инфекции в предстательной железе, как правило, наступает аспермия [1, 2].

Несмотря на частоту и тяжесть течения орхоэпидидимита и его осложнений, многие аспекты его патогенеза, диагностики, лечения и профилактики остаются недостаточно изученными.

Цель работы – изучение регенераторных возможностей ткани яичка после трансплантации недифференцированных стволовых клеток в паренхиму половых желез экспериментальных животных при хроническом

неспецифическом орхоэпидидимите с нарушением репродуктивных функций.

Материал и методы

В эксперименте использованы беспородные кролики (самцы) массой 4-5 кг в количестве 60 животных.

Животных в начале эксперимента содержали на карантине в течение 20 суток для исключения инфекционных заболеваний. Животные содержались в одинаковых условиях обычного виварного режима при смешанном освещении. Кормление производили 2 раза в день в соответствии с установленными нормами, обеспечение водой не ограничивали.

Для моделирования хронического неспецифического орхоэпидидимита использовалась бактериальная культура – стафилококк + стрептококк в титре 10^6 .

Исследуемой группе, после предварительной обработки 70% спиртовым раствором хлорексидина, производили инъекции бактериальной культуры инсулиновым шприцем по 0,2 мл на глубину 3 мм в каждую половую железу.

В исследовании использовали следующие лекарственные средства, растворы и реактивы: 1) Раствор Хенкса СТ ТОО 980340000548-016-2010; 2) Питательная среда Mesencult – Lot: 12BU3016; 3) Диметилсульфоксид ГОСТ/ТУ: ТУ 2635-114-44493179-08; 4) Гепарин РК-ЛС-5-№003295; 5) Лизирующий раствор ГОСТ Р89002; 6) Этиловый спирт ГОСТ 17299-78; 7) Цефазолин ГОСТ 52249-2009.

Выделение моноклеарных клеток костного мозга. Все манипуляции с животными проводили под наркозом с применением 2% раствора рометара и 2,5% аминазина по 0,3 см³. Для обезболивания внутрикостно вводили 0,5 см³ лидокаина гидрохлорида. Аспират костного мозга лабо-