

# Влияние аллотрансплантации криоконсервированной тестикулярной ткани на уровень тестостерона при гипофункции яичек в эксперименте

В.Е. ЧАДАЕВ

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков*

## Effect of Cryopreserved Testicular Tissue Allotransplantation on Testosterone Level at Testes Hypofunction in Experiment

V.E. CHADAYEV

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

Яички, тестисы или семенники представляют собой мужские половые железы, главными функциями которых являются продуцирование сперматозоидов и синтез тестостерона как основного мужского полового гормона. Известно, что сперматогенный эпителий чрезвычайно чувствителен к повреждающим воздействиям. Цель работы – изучение влияния аллотрансплантации криоконсервированной тестикулярной ткани на уровень тестостерона при гипофункции яичек.

Эксперименты проводили на 18-месячных кроликах породы Шиншилла. Оценивали поведение 20 кроликов-самцов. Живая масса составляла 3000–3500 г. Вся работа с животными проводилась в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2007) и согласованными с положениями “Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985).

Тестостерон-продуцирующую способность половых желез исследуемых групп животных изучали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для количественного определения тестостерона применяли набор реагентов, представляющий собой тест-систему, “Тестостерон-ИФА-БЕСТ”. При этом для анализа использовали по 20 мкл как сыворотки крови, так и предварительно полученного и осветленного центрифугированием в течение 20 мин при 3000 г гомогената тестикулярной ткани (1:4 по весу в стерильном физиологическом растворе). Результаты получали посредством спектрофотометрического анализа на приборе STATFAX-3000 (США) при длине волны 450 нм. Измерения проводили сразу после остановки реакции. Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента-Фишера.

Спектрофотометрический анализ содержания тестостерона в гомогенате тестикулярной ткани экспериментальных животных показал, что при сроке половой абстиненции 2 месяца его концентрация составляет  $30 \pm 12$  нг/г, что в 10,6 раза ниже контроля ( $320 \pm 190$ ). Через 4 недели после трансплантации криоконсервированной ткани яичек животным со сроком половой абстиненции 2 месяца уровень содержания тестостерона в их тестикулярной ткани значительно повысился (в 4,8 раза) и составил  $145 \pm 17$  нг/г. Та же положительная динамика отмечалась и в группе экспериментальных животных, которым при сроке половой абстиненции 2 месяца производилась трансплантация криоконсервированной тестикулярной ткани и которые после трансплантации в течение 4 недель получали препарат “Ноофен”. При этом содержание тестостерона в гомогенате их тестикулярной ткани составило  $163 \pm 24$  нг/г. Аналогичные результаты были получены при определении концентрации тестостерона в сыворотке крови контрольных и экспериментальных животных.

Таким образом, метод трансплантации криоконсервированной тестикулярной ткани позволяет восстанавливать тестостерон-продуцирующую систему и поведенческие реакции у животных.

Testes are the male sexual glands, which main functions are the spermatozoa production and testosterone synthesis, being the major male sexual hormone. Spermatogenic epithelium is known to be an extremely sensitive to damaging effects. The research was aimed to study the effect of cryopreserved testicular tissue allotransplantation on testosterone level at testes hypofunction.

The experiments were performed in 18 months' Chinchilla rabbits. The behaviour of 20 male rabbits was estimated. Living mass was 3,000–3,500 g. All manipulations with animals were carried-out according to the “General ethical principles of experiments in animals”, approved by the 3<sup>rd</sup> National Congress on Bioethics (Kiev, 2007) and agreed with the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985).

Testosterone-producing ability of sexual glands in studied animal groups was investigated by the immune enzyme analysis (IEA) method. The “Testosterone-IEA-BEST” reagent kit in the form of test-system was used for quantitative determination of testosterone. At the same time 20  $\mu$ l of both blood serum and testicular tissue homogenate, preliminary obtained and lightened by centrifugation within 20 min at 3000 g (1:4 by weight in sterile physiological solution) were used for analysis. The results were obtained by spectrophotometrical analysis with STATFAX-3000 device (USA) at 450 nm wavelength. Measurements were carried-out right after reaction arresting. Data were statistically processed with Student-Fisher method.

Spectrophotometrical analysis of testosterone content in testicular tissue homogenate of experimental animals has demonstrated that under 2 months' sexual abstinence its concentration is  $30 \pm 12$  ng/g, that is in 10.6 times lower, than the control ( $320 \pm 190$ ). Four weeks after transplantation of the cryopreserved testicular tissue to animals with 2 months' sexual abstinence the level of testosterone content in their testicular tissue significantly increased (in 4.8 times) and was  $145 \pm 17$  ng/g. The similar positive dynamics was noted in the group of experimental animals with transplanted cryopreserved testicular tissue at 2 months' abstinence term and “Noophen” preparation uptake within 4 weeks after transplantation. At the same time the testosterone content in their testicular tissue homogenate was  $163 \pm 24$  ng/g. The same results were received under the certain testosterone concentration in blood serum of the control and experimental animals.

Thus, the method of cryopreserved testicular tissue transplantation enables the recovering of testosterone-inducing system and behaviour responses in animals.