

DOI 10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-240-248

UDC 612.616+591.463.12: 612.613+591.512.14

Smolienko N.P., Korenyeva Ye. M., Marakhovskiy I.O., Chystyakova E. Ye., Velychko N.F., Belkina I.O., Bondarenko V.O.

SEXUAL BEHAVIOR OF MALE RATS WITH GONADOPATHY AFTER CORRECTION BY VITAMIN D₃ AND TRIBESTANE**State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine» (Kharkiv, Ukraine)**

smtaska@ukr.net

Research and implementation of new drug compositions solve the pressing problem of sexual dysfunction in men. Our study aimed to determine the effectiveness of vitamin D₃ in combination with Tribestan to correct sexual dysfunction in male rats caused by experimental gonadopathy. The study was performed on sexually active seven-month-old males of the Wistar population weighing 250–300 g. Male rats were injected subcutaneously with Serotonin hydrochloride once a day for 14 days at a 3.3 mg/kg dose to simulate serotonin gonadopathy. Tribestan was administered per os at a 68 mg/kg body weight dose three days before serotonin hydrochloride administration, serotonin administration (14 days), and three days after the last serotonin injection once daily. Vitamin D₃ was given in a volume of 0.5 ml at a dose of 4000 IU (per os). Sexual behavior was studied at the end of serotonin injections in quantitative and temporal indicators of mountings, intromission, and ejaculation.

It was shown that in male rats, experimental serotonin damage to the testes caused suppression of sexual behavior with the development of erectile dysfunction. The use of vitamin D₃ or Tribestan affected the functioning of the peripheral mechanism of sexual behavior regulation of males with gonadopathy, which was reflected in an increase in the proportion of rats capable of mating and the number of intromissions. Co-administration of vitamin D with Tribestan restores mating capacity, improves mating initiation, and lowers the ejaculatory threshold, i. e. elements of sexual behavior that are regulated at both the central and peripheral levels.

Key words: vitamin D₃, gonadopathy, sexual health, sexual behavior, Tribestan.

Relationship of the publication with the planned research works. The work was performed according to the planned research «Determination of the role of vitamin D deficiency and insufficiency in the development of gonads dysfunction, justification of approaches to their therapy», state registration № 0119U 102387.

Introduction. Sexual dysfunction in men is a pressing medical and social problem. Prolonged exposure to harmful factors (including hypokinesia, deficient conditions in the body, failures in the prooxidant-antioxidant system, exposure to toxic substances, radiation, etc.) develops dystrophic changes in the gonads, which reduce their generative and endocrine functions and lead to diminished reproductive capacity not only disorders of spermatogenesis, but also the sexual health of men [1]. The occurrence of disorders is due to both somatogenic and psychogenic factors. The presence of problems in the sexual sphere of men seriously affects not only their fertility but also reduces life quality. Sexual problems can lead a man to a stress condition and even depression.

Various therapies are used to correct reproductive disorders, most recently the effects of vitamin D, which is now considered a hormone. Both clinical and experimental data have shown that vitamin D deficiency leads to sexual dysfunction [2]. Adequate vitamin D levels can even activate the transcription of the serotonin-synthesizing gene with a subsequent increase in brain serotonin, a high level of which suppresses sexual behavior [3].

Tribestan is one of the well-known and widely used drugs to treat some fertility disorders and sexual dys-

function in men. The positive effect of this drug on the male reproductive system of humans and experimental animals has been proven [4]. Furthermore, several authors note the positive impact of Tribestan on sexual behavior in both humans (enhancing the ability to get an erection and libido sexualis) [5] and animals, enhancing some components of sexual behavior [6]. The above explains why the study and implementation of new compositions of these drugs that can normalize sexual function acquire relevant features.

The aim is to determine the effectiveness of vitamin D₃ co-administration with Tribestan in correcting sexual behavior disorders in male rats caused by experimental gonadopathy.

Object and methods of research. The study was performed on seven-month-old sexually active male Wistar rats weighing 250–300 g. The research was conducted following the national «General Ethical Principles of Animal Experiments» (Ukraine, 2001) and is consistent with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1985). Rats were kept in cages alone in standard vivarium conditions.

Acquisition of sexual experience by males is essential for successfully implementing a complete copulatory cycle [7]. Each male had contact with the receptive female three times once a week for 15 minutes to obtain sexual experience in rats and to form stereotyped reactions before the experiments in which the measurements were performed. The results of the fourth test were taken as initial. Males who achieved ejaculation during the test were considered sexually active.

The total number of experimental animals was 39. Male rats were randomized into groups: group S (n=12) – control pathology – gonadopathy, which included animals with experimental pathology with simulated serotonin testes lesions and animals that received solvent on the background of gonadopathy because the analysis of the results showed that the data do not differ); group S+vit. D₃ (n=7) – on the background of gonadopathy received per os vitamin D₃; group S+Tr (n=8) – on the background of gonadopathy, the reference drug – Tribestan; group S+vit. D₃+Tr (n=7) – on the background of serotonin testes damage the animal per os received vitamin D₃ and Tribestan together. Controls were considered intact animals (control group (n=5)).

Male rats were injected subcutaneously once a day with Serotonin hydrochloride (ShanDong Octagon Chemicals Limited, China) for 14 days at a 3.3 mg/kg dose to simulate gonadopathy (serotonin testis damage).

Tribestan was administered per os at a 68 mg/kg body weight dose three days before serotonin hydrochloride administration, on the serotonin administration background (14 days), and three days after the last serotonin injection once daily. The drug dose was calculated using the coefficient of species resistance, based on the daily dose for humans.

Vitamin D₃ was given in a volume of 0.5 ml at a dose of 4000 IU (per os). Solutions of vitamin D₃ in pit oil were made from vitamin D₃ (powder) (China, which meets the quality standard GB 9840–2017).

After serotonin injections, the sexual animal behavior was studied when mating with an ovariectomized receptive female for 15 minutes at dusk on the quantitative and temporal indicators of mountings, intromission, and ejaculation. The duration of the post-ejaculatory refractory period and the ratio of mountings/intromission was calculated. The receptivity of ovariectomized females was achieved by sequential administration of an oily solution of estradiol dipropionate (10 µg per animal) for 48 h and progesterone (500 µg per animal) for 4–5 h before testing. At the end of the study, the animals were removed from the experiment by rapid decapitation.

The distribution normality of quantitative data was verified using the Shapiro-Wilk test. The probability of discrepancies in the average values was determined by Student's t-test. Data are presented as arithmetic average (\bar{x}) and its error ($\pm S\bar{x}$). Discrepancies were considered significant at P<0.05. In the comparative analysis

of relative values, the criterion χ^2 was used.

Statistical analysis of the results was performed using Excel 2003 and Statistics 6.0.

Research results and their discussion. Analysis of the data showed that in the Control group, the sexual behavior of male rats was characterized by stable indicators with the presence of all its elements (**table**). All animals in this group ejaculated during the test; however, none of the males started the second series of mating.

Table – Sexual behavior of experimental animals, $\bar{x}\pm S_x$

Indicator		Group				
		Controp n=5	S, n=12	S+vit. D ₃ , n=7	S+Tt, n=8	S+vit.D ₃ +Tr n=7
Mountings	amount	6,6±1,4	5,3±0,9	6,8±1,1	6,6±0,7	7,1±0,8
	latence, c	62±30,0	145,5±22,5 ¹	138,8±26,7	145,6±32,2	50±11,5 ²
Intromissions	amount	11,4±0,9	1,4±0,7 ¹	4,8±1,5 ^{1,2}	5,4±1,1 ^{1,2}	7±1,1 ^{1,2}
	latence, c	144±30,0	257,5±42,7 ¹	159±43,7	287,1±59,2 ¹	145±45,0
Ejaculations	amount	1,0±0,0			0,4±0,2 ¹	0,4±0,2 ¹
	latence, c	454±43,8			840±20,2 ¹	815±31,2 ¹
Sniffing the female		11,4±0,7	14,2±1,2	14,8±1,5	12±1,8	10,8±2,0
Post-ejaculatory interval, c		–	–	–	–	–
Coefficient Mountings/ Intromission		0,27±0,10	0,8±0,3	1,3±0,4	1,1±0,3	0,8±0,2

Notes:

¹ – statistically significant differences from the Control group (P<0,05);

² – statistically significant differences from the group S (P<0,05);

S – Serotonin hydrochloride; vitamin D₃ – vitamin D₃; Tr – Tribestan.

It is known that serotonin can inhibit sexual behavior in men [8, 9]. Our studies showed a sharp suppression of receptive sexual behavior in rats with serotonin damage to the testes (group S) while maintaining flatery (sniffing the female). Thus, during the test in 67 % of animals in this group, the copulatory component was absent (intromission and ejaculation). The rest of the males had eight times fewer intromissions (P<0.05) than the Control group. Experimental gonadopathy led to a delay in mating initiation: the latent period of mountings and intromission was prolonged by 2.3 and 1.8 times, respectively. None of the mating males reached ejaculation during the test. Analysis of sexual behavior shows that these rats violated the elements that are regulated both at the central (latent period of the mountings) and to a greater extent at the peripheral (number of intromissions, occurrence, and number of ejaculations) levels (**table**).

Manifestations of sexual disorders in such experimental gonadopathy in male rats are caused by vasoconstrictive action of serotonin and the occurrence of testicular trophic disorders. Adverse changes observed in males of this group indicate the development of erectile dysfunction, which is defined as a permanent inability to have and sufficiently maintain an erection for successful sexual intercourse [10]. In this case, in our opinion, we can talk about the attenuation of sexual function.

Analyzing the significance of these changes, we can assume that a decrease in copulation in males with gonadopathy may adversely affect female fertility, which is to some extent facilitated by sexual vaginal-cervical stimulation, which leads to the release of

norepinephrine in ventrolateral areas of ventromedial hypothalamus which promotes pregnancy [11].

In our studies, in the animal group with testicular lesions, where the serotonin content was experimentally increased, and those who received vitamin D₃ on this background, which increases serotonin, sexual behavior disorders persisted. Compared with group S, rats of group S+vit. D₃ recorded a 3.4-time increase ($P<0.05$) in the intromissions. At the same time, the intromissions number was 2.4 times ($P<0.05$) lower than in animals of the Control group. It should be noted that the introduction of vit. D₃ on the background of serotonin testes damage led to a 2-time increase in the number of animals mating capable, while in group S, these were only 33%. However, no mating males in the group S+vit. D₃ has not reached the final chain of sexual behavior – ejaculation. That is, vit. D₃ in gonadopathy of male rats affects some components of sexual behavior that have a peripheral regulatory mechanism.

With the introduction of Tribestan, a positive recovery dynamics of sexual behavior was registered, which was reflected in a 2.7-time increase in the number of animals capable of mating, 3.8 times the number of intromissions ($P<0.05$) against group S. In 38% of mated males, ejaculation was registered. Thus, the correction of serotonin gonadopathy by Tribestan improved the elements of sexual behavior regulated at the peripheral level.

In the animals' group S + vit. D₃ + Tr registered a 2.9-time reduction in the latency period of mounting (almost to the values of Control) and a 4.9-time increase in the intromissions number vs against group S ($P<0.05$). With the complex correction, the number of animals mating capable increased 2.7 times, of which 38% had ejaculation. The latent period of ejaculation in these rats was two times longer than in control rats ($P<0.05$).

Most likely, the rest of the mating males also had ejaculation; however, the latent period of ejaculation was longer than the test time. This assumption is because the pregnancy of females from males in this group was observed.

Such changes in sexual behavior may indicate sexual dysfunction. It is known that one of the sexual dysfunction forms in men is delayed ejaculation, which is characterized by constant or periodic delays or lack of ejaculation and orgasm in the background of the normal phase of sexual arousal and erection preservation [12]. In some cases, delayed ejaculation and anejaculation cause infertility. The delay can vary from a slight prolongation of ejaculation to its complete absence [13].

Thus, the correction of sexual disorders caused by serotonin gonadopathy, vitamin D₃ in combination with Tribestan affects both the central mechanism of sexual behavior (reducing the latency mounting period to normal) and peripheral (increasing the number of intromissions and ejaculation).

Conclusions. The use of vitamin D₃ or Tribestan affected the functioning of the peripheral regulative mechanism of males' sexual behavior with gonadopathy, which was reflected in a proportional increase of rats mating capable and the number of intromissions. Co-administration of vitamin D with Tribestan restores mating capacity, improves mating initiation, and lowers the ejaculatory threshold, i. e., elements of sexual behavior that are regulated at both the central and peripheral levels.

Prospects for further research. Further effectiveness determination of vitamin D₃ in combination with Tribestan may be the scientific basis for developing innovative drugs and methods for the correction of male reproductive disorders with a broad spectrum of action.

References

1. Skliarov PM, Fedorenko SY, Naumenko SV, Onischenko OV, Holda KO. Retinol deficiency in animals: etiopathogenesis and consequences. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020;11(2):162–169. DOI: 10.15421/022024.
2. Enis RC, Burak O. Premature Ejaculation and Endocrine Disorders: A Literature Review. *World J Mens Health*. 2022;40(1):38–51. DOI: 10.5534/wjmh.200184.
3. Patrick RP, Ames BN. Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. *FASEB J*. 2014;28:2398–2413. DOI: 10.1096/fj.13–246546.
4. Brechka NM. Androhenny status samtsiv shchuriv pislya zastosuvannya preparativ pryrodnoho pokhodzhennya v umovakh kriotravy peredmikhurovoyi zalozy. *Ukrayins'kyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu*. 2020;4(4):237–243. DOI: 10.26693/jmbs04.04.237. [in Ukrainian].
5. Santos Jr CA, Reis LO, Destro-Saade R, Luiza-Reis A, Fregonesi A. Tribulus terrestris versus placebo in the treatment of erectile dysfunction: A prospective, randomized, double blind study Author links open overlay panel. *Actas Urológicas Españolas*. 2014;38(4):244–248. DOI: 10.1016/j.acuro.2013.09.014.
6. Mukhran MA, Rafiq M, Kumar N, Jadhav AN, Anturlikar SD, Sundaram R, et al. Sexual Behaviour in Male Healthy Rats: A Comparison Between Indian Tribulus terrestris Linn. Extracts with Protodioscin Standardized Bulgarian Extract. *The Natural Products Journal*. 2019;9(1):32–38. DOI: 10.2174/2210315508666180810144454.
7. Smolienko NP, Chystyakova EYe, Korenyeva YeM, Belkina IO, Velichko NF, Karpenko NO, et al. Stan kopulyatyvnoyi funktsiyi u shchuriv z khronichnym prostatyom pry korektsiyi kombinatsiyeyu nanochastynok ridkozemel'nykh elementiv zyi sriblom. *Liky – lyudyni*. 2020;1:468–473. [in Ukrainian].
8. Tricklebank MD, Daly E, editors. The serotonin system: History, neuropharmacology, and pathology. Elsevier Academic Press; 2019. Chapter 7, Serotonin and sexual behavior; p. 117–132. DOI: 10.1016/B 978-0-12-813323-1.00007-4.

9. Pfaff D, Saad F. Sexual motivation: problem solved and new problems introduced. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2020;41(2):20190055. DOI: 10.1515/hmbci-2019-0055.
10. Horpynchenko II, Sytenko AM. Erektyn'na dysfunktsiya: etiolohiya, patohenez, diahnostryka ta metody likuvannya. *Zdorov'e muzhchyny*. 2016;2(57):1-8. [in Ukrainian].
11. Northrop LE, Polston EK, Erskine MS. Noradrenergic nuclei that receive sensory input during mating and project to the ventromedial hypothalamus play a role in mating-induced pseudopregnancy in the female rat. *J Neuroendocrinol*. 2010;22(10):1061-1071. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2010.02049.x.
12. Abdel-Hamid IA, Ali OI. Delayed Ejaculation: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *World J Mens Health*. 2018;36(1):22-40. DOI: 10.5534/wjmh.17051.
13. Di Sante S, Mollaioli D, Gravina GL, Ciocca G, Limoncin E, Carosa E, et al. Epidemiology of delayed ejaculation. *Transl Androl Urol*. 2016;5:541-548. DOI: 10.21037/tau.2016.05.10.

СТАТЕВА ПОВЕДІНКА САМЦІВ ЩУРІВ ІЗ ГОНАДОПАТІЄЮ ПІСЛЯ КОРЕКЦІЇ ВІТАМІНОМ D₃ ТА ТРІБЕСТАНОМ

Смоленко Н.П., Коренева Є.М., Мараховський І.О., Чистякова Е.Є., Величко Н.Ф., Белкіна І.О., Бондаренко В.О.

Резюме. Вирішенням актуальної проблеми розладів статевої функції у чоловіків є дослідження та впровадження нових композицій препаратів.

Метою роботи було визначити ефективність застосування вітаміну D₃ сумісно з Трібестаном щодо корекції порушень статевої поведінки самців щурів, які виникають унаслідок експериментальної гонадопатії.

Дослідження виконано на сексуальноактивних семи-місячних самцях популяції Вістар масою 250–300 г. Моделювання гонадопатії щурів проводили ін'єкціями Серотоніну гідрохлориду один раз на добу підшкірно, протягом 14-ти діб у дозі 3,3 мг/кг. Препарат порівняння Трібестан вводили per os в дозі 68 мг/кг маси тіла за три доби до початку введення Серотоніну гідрохлориду, на тлі введення серотоніну (14 діб) та протягом трьох діб після останньої ін'єкції серотоніну. Вітамін D₃ давали в об'ємі 0,5 мл в дозі 4000 МО (per os). Статеву поведінку вивчали по закінченню ін'єкцій серотоніну при паруванні з оваріектомованою рецетивною самкою впродовж 15 хв у присмерковий час за кількісними та часовими показниками садок, інтромісій та еякуляцій.

Показано, що у самців щурів експериментальне серотонінове ураження яєчок позначилось пригніченням статевої поведінки з розвитком еректильної дисфункції. Корекція статевої поведінки самців із серотоніновим ураженням яєчок за допомогою вітаміну D₃ або Трібестану позначилась на периферійному механізмі регуляції, що відображалось у збільшенні частки щурів спроможних до спарювання та збільшенні кількості інтромісій за час тесту.

Корекція модельованої серотонінової гонадопатії самців сумісним застосуванням вітаміну D₃ з Трібестаном призводить до відновлення спроможності до спарювання, покращення ініціації спарювання та еякуляторного порогу. Вплив відображається на елементах статевої поведінки, що регулюються як на центральному так і периферійному рівнях.

Ключові слова: вітамін D₃, гонадопатія, сексуальне здоров'я, статеву поведінка, Трібестан.

SEXUAL BEHAVIOR OF MALE RATS WITH GONADOPATHY AFTER CORRECTION BY VITAMIN D₃ AND TRIBESTANE

Smolienko N.P., Korenyeva Ye. M., Marakhovskiy I.O., Chystyakova E. Ye., Velychko N.F., Belkina I.O., Bondarenko V.O.

Abstract. The solution to the current problem of sexual dysfunction in men is the study and implementation of new drug compositions

The aim of this study was to determine the effectiveness of vitamin D₃ co-administration with Tribestan in correcting sexual behavior disorders in male rats caused by experimental gonadopathy.

The study was performed on sexually active seven-month-old males of the Wistar population weighing 250–300 g. Simulations of rat gonadopathy were performed by injection of Serotonin hydrochloride once daily subcutaneously for 14 days at a dose of 3.3 mg / kg. Tribestan was administered per os at a dose of 68 mg/kg body weight three days before serotonin hydrochloride administration, serotonin administration (14 days), and three days after the last serotonin injection. Vitamin D₃ was given in a volume of 0.5 ml at a dose of 4000 IU (per os).

Sexual behavior was studied at the end of serotonin injections when mating with an ovariectomized receptive female for 15 minutes at dusk in quantitative and temporal indices of intercourse, intromia, and ejaculation.

It has been shown that in male rats experimental serotonin damage to the testes resulted in suppression of sexual behavior with the development of erectile dysfunction. Correction of sexual behavior of males with serotonin testicular lesions with vitamin D₃ or Tribestan affected the peripheral mechanism of regulation, which was reflected in an increase in the proportion of rats capable of mating and an increase in the number of intrusions during the test.

Correction of simulated serotonin gonadopathy in males by combined use of vitamin D₃ with Tribestan leads to restoration of mating ability, improvement of mating initiation and ejaculatory threshold. Influence is reflected in the elements of sexual behavior that are regulated at both the central and peripheral levels.

Key words: vitamin D₃, gonadopathy, sexual health, sexual behavior, Tribestan.

ORCID and contributionship:

Smolienko N.P.: 0000-0003-2064-8608^{ABCD}
Korenyeva Ye. M.: 0000-0002-4570-6563^{AD}
Marakhovskiy I.O.: 0000-0002-9744-8324^{BC}
Chystyakova E. Ye.: 0000-0003-1441-0804^{CE}
Velychko N.F.: 0000-0002-3115-8076^{BC}
Belkina I.O.: 0000-0003-0439-0969^{BC}
Bondarenko V.A.: 0000-0002-9254-3875^F

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest.

Corresponding author

Smolienko Nataliya Pavlivna

State Institution «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine»

Ukraine, 61002, Kharkiv, 10 Alchevs'kykh str.

Tel: 0972704774

E-mail: smtaska@ukr.net

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 18.11.2021

Accepted 26.04.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-2-1-164-240-248

УДК 612.616+591.463.12: 612.613+591.512.14

Смоленко Н.П., Коренева Є.М., Мараховський І.О., Чистякова Е.Є., Величко Н.Ф., Белкіна І.О., Бондаренко В.О.

СТАТЕВА ПОВЕДІНКА САМЦІВ ЩУРІВ ІЗ ГОНАДОПАТІЄЮ ПІСЛЯ КОРЕКЦІЇ ВІТАМІНОМ D₃ ТА ТРІБЕСТАНОМ

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України»
(м. Харків, Україна)

smtaska@ukr.net

Дослідження та впровадження нових композицій препаратів є вирішенням актуальної проблеми розладів статевих функцій у чоловіків. Метою нашої роботи було визначити ефективність застосування вітаміну D₃ сумісно з Трібестаном щодо корекції порушень статевої поведінки самців щурів, які виникають унаслідок експериментальної гонадопатії. Дослідження було виконано на сексуальноактивних семи-місячних самцях популяції Вістар масою 250–300 г. Для моделювання серотонінової гонадопатії самцям щурів проводили ін'єкції Серотоніну гідрохлориду один раз на добу підшкірно, протягом 14-ти діб у дозі 3,3 мг/кг. Препарат порівняння Трібестан вводили per os в дозі 68 мг/кг маси тіла за три доби до початку введення Серотоніну гідрохлориду, на тлі введення серотоніну (14 діб) та протягом трьох діб після останньої ін'єкції серотоніну один раз на добу. Вітамін D₃ давали в об'ємі 0,5 мл в дозі 4000 МО (per os). Статеву поведінку вивчали по закінченню ін'єкцій серотоніну за кількісними та часовими показниками садок, інтромісій та еякуляцій.

Було показано, що у самців щурів експериментальне серотонінове ураження яєчок викликало пригнічення статевої поведінки з розвитком еректильної дисфункції. Застосування вітаміну D₃ або Трібестану позначилось на функціонуванні ланок периферійного механізму регуляції статевої поведінки самців із гонадопатією, що відобразилось у збільшенні частки щурів спроможних до спарювання та кількості інтромісій. Сумісне використання вітаміну D із Трібестаном призводить до відновлення спроможності до спарювання, покращення ініціації спарювання та зниження еякуляторного порогу, тобто елементів статевої поведінки, що регулюються як на центральному так і периферійному рівнях.

Ключові слова: вітамін D₃, гонадопатія, сексуальне здоров'я, статеві поведінка, Трібестан.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана згідно планової НДР «Визначення ролі дефіциту та недостатності вітаміну D в розвитку дисфункцій статевих залоз, обґрунтування підходів до їх терапії», № держреєстрації 0119U 102387.

Вступ. Розлади статевої функції у чоловіків є актуальною медичною та соціальною проблемою. При тривалій дії негативних факторів (серед яких гіпокінезія, дефіцитні стани в організмі, збої у прооксидантно-антиоксидантній системі, вплив токсичних речовин, опромінення тощо) розвива-

ються дистрофічні зміни у гонадах, які знижують їх генеративну й ендокринну функції та призводять до зниження відтворної здатності, обумовленої не тільки порушеннями сперматогенезу, а й сексуальним здоров'ям чоловіків [1]. Виникнення розладів обумовлено як соматогенними та психогенними чинниками. Наявність проблем у сексуальній сфері чоловіків серйозно впливає не тільки на їхню фертильність, а й призводить до зниження якості життя. Сексуальні проблеми здатні довести чоловіка до стану стресу, та навіть до депресії.

Для корекції репродуктивних патологій використовують різні методи терапії, серед яких останнім часом відокремлюється вплив вітаміну D, який на тепер вважають гормоном. Як клінічні, так і експериментальні дані показали, що дефіцит вітаміну D веде до розладів у сексуальній поведінці [2]. Адекватний рівень вітаміну D може активувати навіть транскрипцію серотонін-синтезуючого гену з подальшим збільшенням в головному мозку серотоніну, високий рівень якого пригнічує статеву поведінку [3].

Одним із відомих та широко застосовуваних ліків для санації деяких порушень фертильності та сексуальної дисфункції у чоловіків є Трібестан. Доведено позитивну дію цього препарату на чоловічу статеву систему людини та експериментальних тварин [4]. Ряд авторів відзначають позитивний вплив Трібестану на статеву поведінку як людини (посилюючи здатність до ерекції та *libido sexualis*) [5], так і тварин, посилюючи деякі компоненти статевої поведінки [6]. Вищенаведене пояснює, чому дослідження та впровадження нових композицій цих препаратів, здатних нормалізувати сексуальну функцію, набуває актуальних рис.

Мета – визначити ефективність застосування вітаміну D₃ сумісно з Трібестаном щодо корекції порушень статевої поведінки самців щурів, які виникають унаслідок експериментальної гонадопатії.

Об'єкт і методи дослідження. Роботу виконано на семи-місячних сексуальноактивних самцях щурів популяції Вістар масою 250–300 г. Дослідження проводились відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) та узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.). Щури утримувалися у клітках поодиноці у стандартних умовах віварію.

Набуття самцями статевого досвіду є важливим для успішного виконання повноцінного копулятивного циклу [7]. Для отримання у щурів статевого досвіду та формування стереотипних реакцій до проведення експериментів, у яких проводили виміри, кожний самець тричі мав контакт із репродуктивною самкою раз на тиждень впродовж 15 хв. Результати четвертого тесту були прийняті за вихідні. Статевоактивними вважалися самці, які за час тесту досягли еякуляції.

Загальна кількість дослідних тварин – 39. Самців щурів було рандомізовано на групи: група S (n=12) – контрольна патологія – гонадопатія (яка включала до себе тварин із експериментальною патологією з модельованим серотоніновим ураженням яєчок та тварин, які на тлі гонадопатії отримували розчинник, бо аналіз результатів показав, що дані не відрізняються); група S+vit. D₃ (n=7) – на тлі гонадопатії отримували *per os* вітамін D₃; група S+Tr (n=8) – на тлі гонадопатії, референтний препарат – Трібестан; група S+vit. D₃+Tr (n=7) – на тлі серотонінового ураження яєчок тварини *per os* отримували сумісно вітамін D₃ та Трібестан. Контрольними вважалися інтактні тварини (група контроль (n=5)).

Для моделювання гонадопатії (серотонінового ураження яєчка) самцям щурів проводили один раз на добу підшкірно ін'єкції Серотоніну гідрохлориду (ShanDong Octagon Chemicals Limited, China), протягом 14-ти діб у дозі 3,3 мг/кг.

Препарат порівняння Трібестан вводили *per os* в дозі 68 мг/кг маси тіла за три доби до початку введення Серотоніну гідрохлориду, на тлі введення серотоніну (14 діб) та протягом трьох діб після останньої ін'єкції серотоніну один раз на добу. Дозу препарату розраховували за допомогою коефіцієнту видової стійкості, виходячи з добової дози для людини.

Вітамін D₃ давали в об'ємі 0,5 мл в дозі 4000 МО (*per os*). Розчини вітаміну D₃ на кісточковій олії виготовляли з вітаміну D₃ (порошок) (Китай, який відповідає стандарту якості GB 9840–2017).

Статеву поведінку тварин вивчали по закінченню ін'єкцій серотоніну при паруванні з оварієктомованою репродуктивною самкою впродовж 15 хв у присмерковий час за кількісними та часовими показниками садок, інтромісій та еякуляцій. Розраховували тривалість постеякуляторного рефрактерного періоду, коефіцієнт садки/інтромісії. Рецептивності оварієктомованих самок досягали послідовним введенням масляного розчину естрадіолу дипропіонату (10 мкг на тварину) за 48 год та прогестерону (500 мкг на тварину) за 4–5 год до тестування. По закінченню дослідження тварин виводили з експерименту шляхом швидкої декапітації.

Перевірка на нормальність розподілу кількісних даних проводили з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Вірогідність розбіжностей середніх величин визначали за t критерієм Стюдента. Дані представлено як середнє арифметичне (\bar{x}) та його похибка ($\pm S\bar{x}$). Розбіжності вважалися значущими при $P < 0,05$. При порівняльному аналізі відносних величин використовували критерій χ^2 .

Статистичний аналіз результатів проводився за допомогою пакету програм Excel 2003 та Statistika 6.0.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз даних показав, що в групі Контроль статеву поведінку самців щурів характеризувалась стабільними

показниками з наявністю всіх її елементів (табл.). Еякуляції за час тесту досягли всі тварини цієї групи, однак, жоден із самців не розпочав другу серію спарювань.

В наших дослідженнях у групі тварин із ураженням яєчок, де був експериментально підвищений вміст серотоніну, та, які на цьому фоні отримували вітамін D₃, який теж в свою чергу підвищує серотонін, розлади статевої поведінки – зберігались. У порівнянні з групою S, у щурів групи S+віт. D₃ було зареєстровано збільшення в 3,4 раза (P<0,05) кількості інтромісій. В той же час, кількість інтромісій була в 2,4 раза (P<0,05) нижче ніж у тварин групи Контроль. Треба відзначити, що введення віт. D₃ на фоні серотонінового ураження яєчок призвело до збільшення у 2 рази кількості тварин спроможних до спарювання, тоді як в групі S такі склали всього 33 %.

Таблиця – Статеві поведінка піддослідних тварин, $\bar{x} \pm S_x$

Показник	Група					
	Контроль n=5	S, n=12	S+віт. D ₃ , n=7	S+Tr, n=8	S+віт. D ₃ +Tr n=7	
Садки	кількість	6,6±1,4	5,3±0,9	6,8±1,1	6,6±0,7	7,1±0,8
	латентність, с	62±30,0	145,5±22,5 ¹	138,8±26,7	145,6±32,2	50±11,5 ²
Інтромісії	кількість	11,4±0,9	1,4±0,7 ¹	4,8±1,5 ^{1,2}	5,4±1,1 ^{1,2}	7±1,1 ^{1,2}
	латентність, с	144±30,0	257,5±42,7 ¹	159±43,7	287,1±59,2 ¹	145±45,0
Еякуляції	кількість	1,0±0,0			0,4±0,2 ¹	0,4±0,2 ¹
	латентність, с	454±43,8			840±20,2 ¹	815±31,2 ¹
Обнюхувань самки	11,4±0,7	14,2±1,2	14,8±1,5	12±1,8	10,8±2,0	
Постеякуляторний інтервал, с	–	–	–	–	–	
Коефіцієнт Садки/Інтромісії	0,27±0,10	0,8±0,3	1,3±0,4	1,1±0,3	0,8±0,2	

Примітки:

¹ – статистично значущі відмінності від групи Контроль (P<0,05);

² – статистично значущі відмінності від групи S (P<0,05);

S – Серотонін гідрохлорид; віт. D₃ – вітамін D₃; Tr – Трібестан.

Відомо, що серотонін має властивість інгібувати статеву поведінку у чоловіків [8, 9]. В наших дослідженнях у щурів із серотоніновим ураженням яєчок (група S) спостерігалось при збереженні залицяльності (обнюхування самки) різке пригнічення рецептивної сексуальної поведінки. Так, за час тесту у 67 % тварин цієї групи відмічалась повна відсутність копулятивної складової (інтромісій та еякуляцій). У решти самців кількість інтромісій була у вісім разів менше (P<0,05), проти групи Контроль. Експериментальна гонадопатія призводила до затримки ініціації спарювання: латентний період садок та інтромісій подовжився в 2,3 та 1,8 рази, відповідно. Еякуляції за час тесту не досяг жоден із самців, що спарювався. Аналіз показників статевої поведінки свідчить, що у цих щурів порушувались елементи, що регулюються як на центральному (латентний період садок), так і в більш значній мірі на периферійному (кількість інтромісій, настання та кількість еякуляцій) рівні (див. табл.).

Прояви сексуальних розладів при такій експериментальній гонадопатії у самців щурів викликані судинозвужувальною дією серотоніну та виникненням порушення трофіки яєчок. Негативні зміни, що спостерігаються у самців даної групи вказують на розвиток еректильної дисфункції, яка визначається як постійна нездатність досягти та достатнє підтримувати ерекцію для успішного статевого акту [10]. Тобто, у даному випадку, на нашу думку, можна говорити про згасання статевої функції.

Аналізуючи значення цих змін можна припустити, що зниження частоти копуляцій у самців із гонадопатією може негативно позначитись на плідності самок, настанню якої в певній мірі сприяє сексуальна вагінально-цервікальна стимуляція, яка призводить до вивільнення норадреналіну у вентролатеральні зони вентромедіального гіпоталамусу, що сприяє настанню вагітності [11].

У групі тварин S+віт. D₃+Tr було зареєстровано скорочення в 2,9 рази латентного періоду садок (майже до значень Контролю) та збільшення в 4,9 рази кількості інтромісій, проти групи S (P<0,05). При комплексній корекції у 2,7 рази збільшилась кількість тварин спроможних до спарювання, з яких у 38 % була зареєстрована еякуляція. Латентний період еякуляції у цих щурів був у 2 рази довшим, ніж у щурів групи Контроль (P<0,05). Швидше за все, у решти самців, що спарювались, еякуляція також мала місце бути, однак, латентний період еякуляції був більший часу тесту. Це припущення має місце тому, що вагітність самок від самців цієї групи – спостерігалась.

Такі зміни у статевій поведінці можуть вказувати і на сексуальні порушення. Відомо, що однією з форм сексуальних дисфункцій у чоловіків є затримана еякуляція, яка характеризується постійними або періодичними затримками або відсутністю сім'явиворскування та оргазму на тлі нормальної фази статевого збудження та збереження ерекції [12]. У ряді випадків затримана еякуляція та анеяку-

ляція стають причиною безпліддя. Затримка може бути різного ступеня виразності – від незначного подовження часу сім'явипорскування до її повної відсутності [13].

Таким чином, корекція сексуальних розладів, що виникли внаслідок серотонінової гонадопатії, вітаміном D₃ сумісно з Трібестаном впливає як на центральний механізм статевої поведінки (скорочуючи латентний період садок до норми), так і на периферійний (збільшуючи кількість інтромісій та настання еякуляції).

Висновки. Застосування вітаміну D₃ або Трібестану позначилось на функціонуванні ланок периферійного механізму регуляції статевої поведінки самців із гонадопатією, що відобразилось

у збільшенні частки щурів спроможних до спарювання та кількості інтромісій. Сумісне використання вітаміну D₃ із Трібестаном призводить до відновлення спроможності до спарювання, покращення ініціації спарювання та зниження еякуляторного порогу, тобто елементах статевої поведінки, що регулюються як на центральному так і периферійному рівнях.

Перспективи подальших досліджень. Подальше визначення ефективності вітаміну D₃ сумісно з Трібестаном може бути науковим підґрунтям для розробки інноваційних лікарських засобів та методів для корекції чоловічих репродуктивних розладів із широким спектром дії.

Література

1. Skliarov PM, Fedorenko SY, Naumenko SV, Onischenko OV, Holda KO. Retinol deficiency in animals: etiopathogenesis and consequences. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020;11(2):162–169. DOI: 10.15421/022024.
2. Enis RC, Burak O. Premature Ejaculation and Endocrine Disorders: A Literature Review. *World J Mens Health*. 2022;40(1):38–51. DOI: 10.5534/wjmh.200184.
3. Patrick RP, Ames BN. Vitamin D hormone regulates serotonin synthesis. Part 1: relevance for autism. *FASEB J*. 2014;28:2398–2413. DOI: 10.1096/fj.13–246546.
4. Brechka NM. Androhenny status samtsiv shchuriv pislya zastosuvannya preparativ pryrodnoho pokhodzhennya v umovakh kriotravmy peredmikhurovoyi zalozy. *Ukrayins'kyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu*. 2020;4(4):237–243. DOI: 10.26693/jmbs04.04.237. [in Ukrainian].
5. Santos Jr CA, Reis LO, Destro-Saade R, Luiza-Reis A, Fregonesi A. Tribulus terrestris versus placebo in the treatment of erectile dysfunction: A prospective, randomized, double blind study Author links open overlay panel. *Actas Urológicas Españolas*. 2014;38(4):244–248. DOI: 10.1016/j.acuro.2013.09.014.
6. Mukhram MA, Rafiq M, Kumar N, Jadhav AN, Anturlikar SD, Sundaram R, et al. Sexual Behaviour in Male Healthy Rats: A Comparison Between Indian Tribulus terrestris Linn. Extracts with Protodioscin Standardized Bulgarian Extract. *The Natural Products Journal*. 2019;9(1):32–38. DOI: 10.2174/2210315508666180810144454.
7. Smolienko NP, Chystyakova EYe, Korenyeva YeM, Belkina IO, Velichko NF, Karpenko NO, et al. Stan kopulyatyvnoyi funktsiyi u shchuriv z khronichnym prostatytom pry korektsiyi kombinatsiyeyu nanochastynok ridkozemel'nykh elementiv zyi sriblom. *Liky – lyudyni*. 2020;1:468–473. [in Ukrainian].
8. Tricklebank MD, Daly E, editors. The serotonin system: History, neuropharmacology, and pathology. Elsevier Academic Press; 2019. Chapter 7, Serotonin and sexual behavior; p. 117–132. DOI: 10.1016/B 978-0-12-813323-1.00007-4.
9. Pfaff D, Saad F. Sexual motivation: problem solved and new problems introduced. *Hormone molecular biology and clinical investigation*. 2020;41(2):20190055. DOI: 10.1515/hmbci-2019-0055.
10. Horpynchenko II, Sytenko AM. Erektyl'na dysfunktsiya: etiolohiya, patohenez, diahnozyka ta metody likuvannya. *Zdorov'e muzhchyny*. 2016;2(57):1–8. [in Ukrainian].
11. Northrop LE, Polston EK, Erskine MS. Noradrenergic nuclei that receive sensory input during mating and project to the ventromedial hypothalamus play a role in mating-induced pseudopregnancy in the female rat. *J Neuroendocrinol*. 2010;22(10):1061–1071. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2010.02049.x.
12. Abdel-Hamid IA, Ali OI. Delayed Ejaculation: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *World J Mens Health*. 2018;36(1):22–40. DOI: 10.5534/wjmh.17051.
13. Di Sante S, Mollaioli D, Gravina GL, Ciocca G, Limoncin E, Carosa E, et al. Epidemiology of delayed ejaculation. *Transl Androl Urol*. 2016;5:541–548. DOI: 10.21037/tau.2016.05.10.

СТАТЕВА ПОВЕДІНКА САМЦІВ ЩУРІВ ІЗ ГОНАДОПАТІЄЮ ПІСЛЯ КОРЕКЦІЇ ВІТАМІНОМ D₃ ТА ТРІБЕСТАНОМ

Смоленко Н.П., Коренева Є.М., Мараховський І.О., Чистякова Е.Є., Величко Н.Ф., Белкіна І.О., Бондаренко В.О.

Резюме. Вирішенням актуальної проблеми розладів статевої функції у чоловіків є дослідження та впровадження нових композицій препаратів.

Метою роботи було визначити ефективність застосування вітаміну D₃ сумісно з Трібестаном щодо корекції порушень статевої поведінки самців щурів, які виникають унаслідок експериментальної гонадопатії.

Дослідження виконано на сексуальноактивних семи-місячних самцях популяції Вістар масою 250–300 г. Моделювання гонадопатії щурів проводили ін'єкціями Серотоніну гідрохлориду один раз на добу підшкірно, протягом 14-ти діб у дозі 3,3 мг/кг. Препарат порівняння Трібестан вводили per os в дозі 68 мг/кг маси тіла за три доби до початку введення Серотоніну гідрохлориду, на тлі введення серотоніну (14 діб) та протягом трьох діб після останньої ін'єкції серотоніну. Вітамін D₃ давали в об'ємі 0,5 мл в дозі 4000 МО (per os). Статеву поведінку вивчали по закінченню ін'єкцій серотоніну при паруванні з оварієктомованою рецептивною самкою впродовж 15 хв у при- смерковий час за кількісними та часовими показниками садок, інтромісій та еякуляції.

Показано, що у самців щурів експериментальне серотонінове ураження яєчок позначилось пригніченням статеві поведінки з розвитком еректильної дисфункції. Корекція статевої поведінки самців із серотоніновим ураженням яєчок за допомогою вітаміну D₃ або Трібестану позначилась на периферійному механізмі регуляції, що відображалось у збільшенні частки щурів спроможних до спарювання та збільшенні кількості інтромісії за час тесту.

Корекція модельованої серотонінової гонадопатії самців сумісним застосуванням вітаміну D₃ з Трібестаном призводить до відновлення спроможності до спарювання, покращення ініціації спарювання та еякуляторного порогу. Вплив відображається на елементах статевої поведінки, що регулюються як на центральному так і периферійному рівнях.

Ключові слова: вітамін D₃, гонадопатія, сексуальне здоров'я, статеві поведінка, Трібестан.

SEXUAL BEHAVIOR OF MALE RATS WITH GONADOPATHY AFTER CORRECTION BY VITAMIN D₃ AND TRIBESTANE

Smolienko N.P., Korenyeva Ye. M., Marakhovskiy I.O., Chystyakova E. Ye., Velychko N.F., Belkina I.O., Bondarenko V.O.

Abstract. The solution to the current problem of sexual dysfunction in men is the study and implementation of new drug compositions

The aim of this study was to determine the effectiveness of vitamin D₃ co-administration with Tribestan in correcting sexual behavior disorders in male rats caused by experimental gonadopathy.

The study was performed on sexually active seven-month-old males of the Wistar population weighing 250–300 g. Simulations of rat gonadopathy were performed by injection of Serotonin hydrochloride once daily subcutaneously for 14 days at a dose of 3.3 mg / kg. Tribestan was administered per os at a dose of 68 mg/kg body weight three days before serotonin hydrochloride administration, serotonin administration (14 days), and three days after the last serotonin injection. Vitamin D₃ was given in a volume of 0.5 ml at a dose of 4000 IU (per os).

Sexual behavior was studied at the end of serotonin injections when mating with an ovariectomized receptive female for 15 minutes at dusk in quantitative and temporal indices of intercourse, intromia, and ejaculation.

It has been shown that in male rats experimental serotonin damage to the testes resulted in suppression of sexual behavior with the development of erectile dysfunction. Correction of sexual behavior of males with serotonin testicular lesions with vitamin D₃ or Tribestan affected the peripheral mechanism of regulation, which was reflected in an increase in the proportion of rats capable of mating and an increase in the number of intrusions during the test.

Correction of simulated serotonin gonadopathy in males by combined use of vitamin D₃ with Tribestan leads to restoration of mating ability, improvement of mating initiation and ejaculatory threshold. Influence is reflected in the elements of sexual behavior that are regulated at both the central and peripheral levels.

Key words: vitamin D₃, gonadopathy, sexual health, sexual behavior, Tribestan.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Smolienko N.P.: 0000-0003-2064-8608^{ABCD}

Korenyeva Ye. M.: 0000-0002-4570-6563^{AD}

Marakhovskiy I.O.: 0000-0002-9744-8324^{BC}

Chystyakova E. Ye.: 0000-0003-1441-0804^{CE}

Velychko N.F.: 0000-0002-3115-8076^{BC}

Belkina I.O.: 0000-0003-0439-0969^{BC}

Bondarenko V.A.: 0000-0002-9254-3875^F

Конфлікт інтересів:

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Смоленко Наталія Павлівна

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України»

Адреса: Україна, 61002, м. Харків, вул. Алчевських 10

Тел.: 0972704774

E-mail: smtaska@ukr.net

A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Стаття надійшла 18.11.2021 року
Стаття прийнята до друку 26.04.2022 року