

Стан репродуктивних органів молодих і старіючих самців щурів при тривалому введенні летрозолу та після його відміни

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

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ

Ключові слова:
летрозол, чоловіча репродуктивна система, щури.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 268–277

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.3.151647

E-mail:
reznikov39@gmail.com

Мета роботи – дослідження стану органів репродуктивної системи після тривалого введення інгібітора ароматази стероїдів летрозолу та його відміни в молодих самців щурів і на тлі вікової інволюції.

Матеріали та методи. Досліди виконали на щурах Вістар із початковим віком 5 міс. і 15 міс., яким протягом 3 міс. вводили перорально за допомогою шлункового металевго катетера летрозол через день у дозі 1 мг/кг м. т., та через 2 міс. після його скасування. Визначали рівні тестостерону та естрадіолу у плазмі крові імуноферментним методом, вміст сперматозоїдів у придатках сім'яників, масу гонад і додаткових статевих залоз, виконали морфологічне дослідження гонад і вентральної частки передміхурової залози. Результати досліджень порівнювали з показниками в контрольних тварин відповідного віку.

Результати. У старіючих самців під впливом летрозолу зростало співвідношення рівнів тестостерону й естрадіолу у плазмі крові. Вміст сперматозоїдів в епідидимісах збільшувався в середньому на 28 %. Гістологічне дослідження показало функціональну активацію клітин Лейдига, істотне зменшення інволютивних змін їхньої кількості та гістологічної будови. Частина клітин Лейдига мала ознаки функціонального виснаження. Летрозол збільшував відносну масу коагулюючої залози в середньому на 40 %, сім'яних пухирців на 31 % та вентральної частки передміхурової залози на 33% порівняно з показниками в контрольних тварин. Через 2 міс. після припинення введення летрозолу не було різниці між показниками контрольних і дослідних тварин. У молодих щурів ефекти летрозолу майже не виявляли.

Висновки. Введення летрозолу збільшує співвідношення рівнів тестостерону та естрадіолу у плазмі крові, вміст сперматозоїдів в епідидимісах і масу андрогензалежних додаткових статевих залоз самців щурів із віковою інволюцією статевої системи. Це супроводжується уповільненням вікових змін гонад і передміхурової залози. Ознаки стимулювального впливу летрозолу на органи репродуктивної системи старіючих тварин зникали через 2 міс. після скасування застосування препарату.

Ключевые слова:
летрозол, мужская репродуктивная система, крысы.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 268–277

Состояние репродуктивных органов молодых и стареющих самцов крыс при длительном введении летрозола и после его отмены

А. Г. Резников, О. В. Сачинская, Л. И. Полякова, О. А. Фалюш, А. В. Янишевский

Цель работы – исследование состояния органов репродуктивной системы после длительного введения ингибитора ароматазы стероидов летрозола и его отмены у молодых самцов крыс и на фоне возрастной инволюции репродуктивных органов.

Материалы и методы. Опыты проведены на крысах Вистар с начальным возрастом 5 мес. и 15 мес., которым в течение 3 мес. вводили перорально с помощью желудочного металлического катетера летрозол через день в дозе 1 мг/кг м. т., и через 2 мес. после его отмены. Определяли уровни тестостерона и эстрадиола в плазме крови иммуноферментным методом, содержание сперматозоидов в придатках семенников, определяли массу и проводили морфологическое исследование гонад и добавочных половых желез – вентральной доли предстательной железы, коагулирующей железы и семенных пузырьков. Результаты исследований сравнивали с показателями у контрольных животных соответствующего возраста.

Результаты. У стареющих самцов под влиянием летрозола возрастало соотношение уровней тестостерона и эстрадиола в плазме крови. Содержание сперматозоидов в эпидидимисах увеличивалось на 28 %. Гистологическое исследование показало функциональную активацию клеток Лейдига, значительное уменьшение инволютивных изменений их количества и гистологического строения. Часть клеток Лейдига имела признаки функционального истощения. Летрозол увеличивал относительную массу коагулирующей железы в среднем на 40 %, семенных пузырьков на 31 % и вентральной части предстательной железы на 33 % по сравнению с показателями контрольных животных. Через 2 мес. после прекращения введения летрозола не установлена разница между показателями у контрольных и опытных животных. У молодых крыс эффекты летрозола почти не выявляли.

Выводы. Введение летрозола увеличивает соотношение уровней тестостерона и эстрадиола в плазме крови, содержание сперматозоидов в эпидидимисах и массу андрогензависимых добавочных половых желез самцов крыс с возрастной инволюцией половой системы. Это сопровождается замедлением возрастных изменений гонад и предстательной железы. Признаки стимулирующего влияния летрозола на органы репродуктивной системы стареющих животных исчезали через 2 мес. после отмены приема препарата.

Key words:
letrozole, male reproductive system, rats.

Pathologia
2018; 15 (3), 268–277

The state of reproductive organs of young and aged male rats with the prolonged administration of letrozole and after its withdrawal

O. H. Reznikov, O. V. Sachynska, L. I. Poliakova, O. A. Faliush, O. V. Yanishevskiy

Aim. Study of the reproductive organs after long-term administration of letrozole, the steroid aromatase inhibitor, followed by its withdrawal in young male rats and ones with age-related involution of reproductive organs.

Material and methods. The experiments were carried out on Wistar rats with an initial age of 5 months and 15 months, which were gavaged with letrozole every other day at a dose of 1 mg/kg bw for 3 months and then 2 months following its discontinuation. The blood plasma testosterone and estradiol levels were measured by immunoassays. The spermatozoa contents in epididymis were calculated. The testicles and accessory sexual glands were weighed, and morphology of gonads and ventral prostate was studied. The results of the study were compared with those of control animals of corresponding age.

Results. As the result of letrozole treatment, the ratio of testosterone and estradiol levels in blood plasma of aged rats increased. The spermatozoa content in epididymis rose up by on the average 28 %. The histological study revealed functional activation of Leydig cells, a significant retardation of involutive changes of their number and morphology. Some Leydig cells demonstrated the signs of functional exhaustion. Letrozole exerted an increase of relative weight of the coagulation gland by an average of 40 %, seminal vesicles by 31 %, and ventral prostate by 33 % compared with those of control animals. Two months after letrozole withdrawal, there were no signs of difference between letrozole-treated and control animals. In young rats, the effects of letrozole were almost not detectable.

Conclusions. Letrozole administration to male rats with age-related involution of the reproductive system increases testosterone/estradiol ratio in blood plasma, the spermatozoa contents in epididymises and the weights of androgen-dependent accessory sexual glands. This is accompanied by slowing down of age-related changes of the gonad morphology and prostate gland. Letrozole-induced reproductive effects are reversible.

Однією з провідних ознак старіння чоловічої репродуктивної системи є поступове зменшення продукції тестикулярних андрогенів, передусім тестостерону. Водночас зростає абсолютна або відносна до тестостерону концентрація естрогенів у крові. Ранній віковий дефіцит андрогенів у чоловіків (late-onset hypogonadism – ЛОН-синдром) спостерігають у 2–15 % випадків [1]. Ця патологія супроводжується сексуальними порушеннями, гіпофертильністю, психологічними, соматичними та нейровегетативними розладами. Її вважають фактором ризику розвитку метаболічного синдрому, серцево-судинних захворювань, цукрового діабету, ожиріння тощо [2–6] і навіть п'ятиразового збільшення смертності порівняно з евгонадними чоловіками [7].

До названих небажаних наслідків призводить і ожиріння, оскільки в жировій тканині відбувається конверсія андрогенних гормонів в естрогени. Синдром естрогенної доміанти спричиняє поглиблення андрогенного дефіциту, адже естрогени зменшують секрецію лютеїнізуючого гормону гіпофіза та рівень вільного тестостерону у крові завдяки підвищенню концентрації глобуліну, що зв'язує статеві гормони.

Замісна терапія препаратами тестостерону є основним методом лікування ЛОН-синдрому. Поряд із позитивним ефектом вона може мати неочікувані наслідки, як-от зростання естрогенної насиченості організму завдяки метаболічній трансформації екзогенного тестостерону на естрадіол. Такий результат спостерігали у здорових чоловіків із гіпогонадизмом без ожиріння [8,9].

Альтернативою може стати застосування фармакологічних засобів, які гальмують активність ароматази стероїдів, що відповідає за утворення естрогенів з андрогенів. Одним із таких засобів є летрозол, який широко використовують у лікуванні раку грудної залози. Він призводить до уповільнення перетворення ендогенного тестостерону на естрадіол-17 β , а андростендіону – на естрон, що зумовлює зменшення естрогенної насиченості організму. Висока антиароматазна активність летрозолу у складі лікарського засобу Летромара раніше продемонстрована в дослідженнях *in vivo* на самцях щурів та *in vitro* на гомогенатах яєчників [10,11].

Дослідження на здорових чоловіках показали, що інгібітори ароматази летрозол і фадрозол здатні

підвищувати концентрацію тестостерону і зменшувати вміст естрадіолу у крові [12]. Є поодинокі відомості щодо терапевтичної ефективності летрозолу в чоловіків із синдромом естрогенної доміанти та супутньою надлишковою масою жирової тканини, що також пов'язують із підвищенням рівня тестостерону в організмі [13,14]. Отже, застосування летрозолу та інших інгібіторів ароматази стероїдів при ЛОН-синдромі може бути доцільним [15]. Повідомляли про відновлення сперматогенезу в деяких пацієнтів з оліго- або азооспермією під впливом летрозолу та анастрозолу [16–19] і про суттєве зростання співвідношення рівня тестостерону до естрадіолу у крові чоловіків із гіпофертильністю, зокрема при ЛОН-синдромі, після застосування цих засобів [19–23].

Враховуючи ймовірну перспективу клінічного застосування летрозолу та відсутність офіційних показань до його застосування в чоловіків при синдромі естрогенної доміанти, ожирінні, гіпофертильності, ЛОН-синдромі, виникла необхідність експериментальних досліджень на самцях тварин щодо його впливу на органи репродуктивної системи. Відомості фахової літератури з цього питання вкрай обмежені та суперечливі [12,24–26]. Як показали попередні дослідження, введення летрозолу щурам-самцям протягом 2 тижнів стимулює передміхурову залозу та інші андрогензалежні додаткові статеві залози переважно у тварин, які старіють [27].

Мета роботи

Дослідження стану органів репродуктивної системи після тривалого введення летрозолу та його скасування в молодих самців і на тлі інволютивних змін у самців, які старіють.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти розпочали на молодих самцях щурів лінії Вістар 5-місячного віку з початковою масою тіла 170–225 г і старіючих щурах 15-місячного віку з початковою масою тіла 220–320 г. За анатомо-фізіологічними характеристиками лабораторних білих щурів, 5-місячний вік вважають молодим, а 15-місяч-

ний – старіючим [28]. Виходячи з того, що у віковій періодизації лабораторних щурів 1 день життя шура дорівнює 52 дням (1,7 місяця) життя людини [29], 5-місячний вік шура відповідає 22 рокам людини, а 15-місячний – 64 рокам.

Тварин утримували у стандартних умовах віварію з вільним доступом до питної води та стандартного корму. Усі дослідження виконали з дотриманням біоетичних вимог і рекомендацій Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах, Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують із науковими та іншими експериментальними цілями (Страсбург, 1986 р.) та рекомендацій І Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001 р.).

Шляхом рандомізації тварин поділили на 4 групи по 20 тварин у кожній: 1 та 2 група – контрольні та піддослідні молоді тварини (середня маса тіла відповідно $195,25 \pm 3,13$ г і $197,25 \pm 3,37$ г); 3 та 4 група – контрольні та піддослідні тварини, які старіють, (середня маса тіла відповідно $273,15 \pm 5,03$ г і $266,25 \pm 6,24$ г). Піддослідним щурам протягом 3 міс. вводили 1 раз на 2 доби перорально за допомогою шлуночкового зонда інгібітор ароматази стероїдів летрозолу у формі суспензії в гелі Дорфмана (фізіологічний розчин, що містить 0,5 % натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, 0,4 % твіну-80, 0,9 % бензилового спирту). Добова доза летрозолу становила 1 мг/кг маси тіла. Щури контрольної групи одержували гель Дорфмана в адекватному об'ємі. Половину тварин кожної з груп декапітували під легким ефірним наркозом через 24 год після останнього введення препарату, другу половину – через 2 міс. після його скасування, тобто враховуючи повний цикл сперматогенезу.

Вентральну частку передміхурової залози (ВП), коагулюючи залозу (КЗ, передня частка простати), сім'яні пухирці (СП), сім'яники та епідидимиси виділяли, зважували. Фрагменти вентральної простати та сім'яників фіксували в рідині Буена для наступного гістологічного дослідження. У дозованих змивах придатків сім'яників визначали концентрацію сперматозоїдів підрахунком у камері Горяєва.

У плазмі крові визначали вміст тестостерону та естрадіолу імуноферментним методом за допомогою наборів ELISA Testosterone та ELISA Estradiol (DRG, ФРН) та імуноферментного аналізатора Stat Fax (США).

Цифрові дані статистично опрацювали з використанням *t*-критерію Стьюдента. Різницю між досліджуваними показниками у групах досліду та контролю вважали статистично вірогідною при значенні $p \leq 0,05$.

Результати

Щури протягом експерименту набирали вагу й загалом не мали негативних реакцій на введення летрозолу. На час завершення введення летрозолу з різних причин, що не пов'язані з введенням препарату, з дослідження вибули 2 старіючі щури контрольної та 3 – з дослідної групи. Динаміка зміни маси тіла протягом експерименту була однаковою в піддослідних і контрольних тварин.

На час завершення введення летрозолу середня концентрація тестостерону та співвідношення тестостерон/естрадіол у плазмі крові контрольних тварин 18-місячного віку, які визначали у грудні, були більш ніж удвічі меншими, ніж у контрольних у 8-місячному віці. Така вікова різниця відсутня наприкінці лютого, через 2 міс. після відміни препарату. Вміст естрадіолу в контрольних тварин різного віку не відрізнявся (рис. 1, 2).

Застосування летрозолу не призводило до вірогідних змін рівня кожного з досліджених гормонів у плазмі крові як молодих, так і старіючих тварин через великий діапазон коливань. Співвідношення тестостерон/естрадіол у старіючих самців зросло в середньому на 69 %, але ця різниця не досягла рівня вірогідності.

Через 2 міс. після скасування летрозолу досліджені гормональні показники, включаючи співвідношення тестостерон/естрадіол, не відрізнялись від відповідних контрольних значень в обох вікових групах (рис. 1, 2).

Свідченням змін гормонального профілю, що викликані летрозолом, є вміст сперматозоїдів у придатках сім'яника й маса додаткових статевих залоз, яка є інтегральним показником андрогенної насиченості організму, а також морфологічні ознаки активації ендокриноцитів статевих залоз. У молодих тварин після введення летрозолу не спостерігали змін вмісту сперматозоїдів, натомість у старіючих він зростає із $34,3 \pm 2,4$ млн/мл до $44,0 \pm 2,1$ млн/мл середовища ($p < 0,05$) і не відрізнявся від контролю через 2 міс. після скасування препарату.

Гістологічне дослідження статевих залоз молодих самців, які отримували летрозол, порівняно з контролем (рис. 3а) показало окремі помірно збільшені островці інтерстиціальних клітин Лейдїга з поодинокими активованими ендокриноцитами, що мали велике ядро й чітке ядрце (рис. 3б). У контролі активованих клітин не було, ймовірно, через сезонну депресію статевої активності (експеримент завершено у грудні). У контрольних старіючих тварин спостерігали характерні вікові зміни морфофункціонального стану гонад, а саме гіперплазію та гіпертрофію клітин Лейдїга (рис. 3в) на тлі істотного зменшення продукції тестостерону. У піддослідних старіючих щурів клітини Лейдїга за розмірами та кількістю їх в островцях наближались до таких у контрольних молодих тварин. Клітинний склад островців відрізнявся гетерогенністю: поряд з активованими клітинами, що мали нормохромні ядра і вакуолізовану по периферії цитоплазму великого об'єму, наявні дрібні клітини з пікнотичними ядрами та великі ендокриноцити зі зморщеними гіперхромними ядрами (рис. 3г). Останні, ймовірно, набули такої будови через функціональне перенапруження. Загалом стан ендокриноцитів корелює з результатами гормональних аналізів. Через 2 міс. після відміни летрозолу (наприкінці лютого) відбулася сезонна активація клітин Лейдїга (рис. 3д, е), і різницю порівняно з відповідними контрольними групами не виявили.

Морфологічна будова сперматогенного шару сім'яних каналців у молодих і старіючих самців не відрізнялись від таких у контрольних тварин як безпосередньо після введення летрозолу, так і через 2 міс. після припинення.

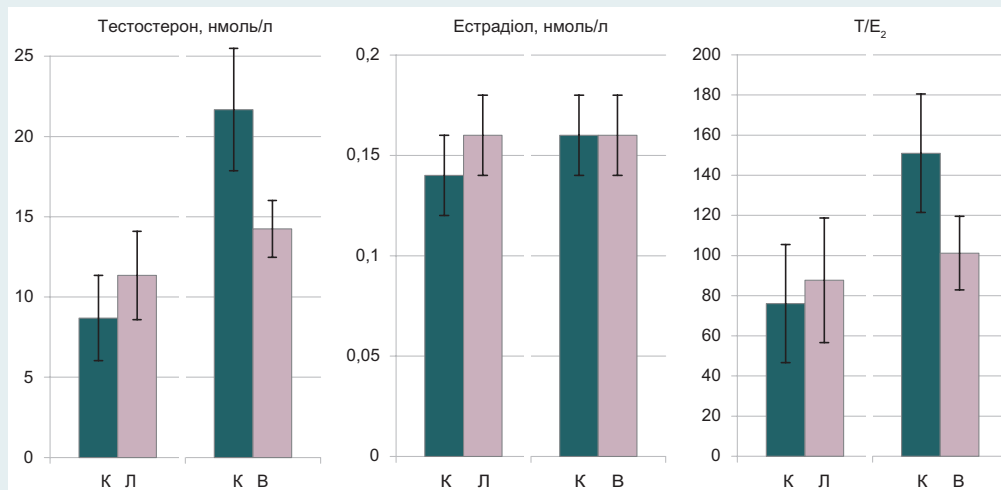


Рис. 1. Вміст статевих гормонів у плазмі крові молодих самців щурів після застосування летрозолю протягом 3 міс. і через 2 міс. після його скасування ($M \pm m$).

К: контроль; Л: летрозол; В: після відміни Л; Т: тестостерон; E_2 : естрадіол.

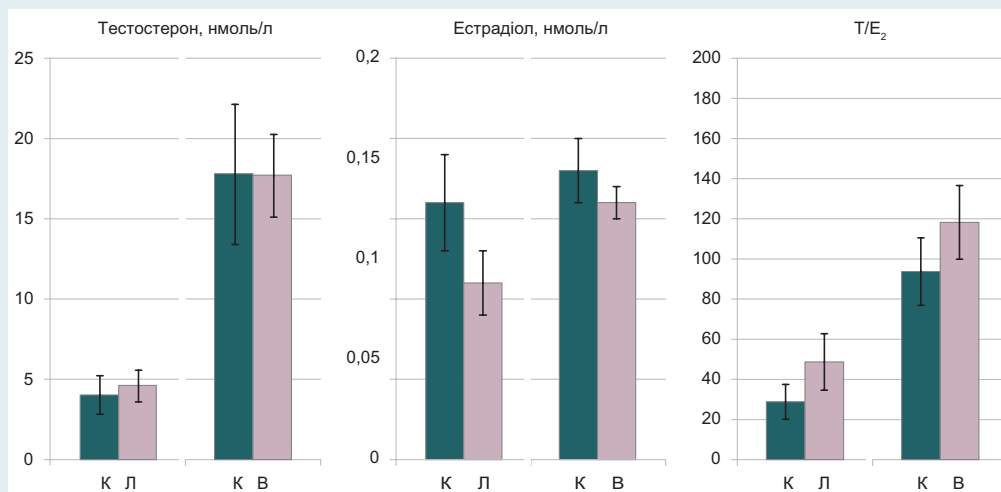


Рис. 2. Вміст статевих гормонів у плазмі крові самців щурів, які старіють, після застосування летрозолю протягом 3 міс. і через 2 міс. після його скасування ($M \pm m$).

К: контроль; Л: летрозол; В: після відміни Л; Т: тестостерон; E_2 : естрадіол.

Таблиця 1. Відносна маса органів репродуктивної системи (мг/100 г маси тіла) контрольних самців щурів різного віку та підослідних тварин, які отримували летрозол у дозі 1 мг/кг протягом 3 міс. ($M \pm m$)

Група тварин	n	Вентральна простата	Коагулююча залоза	Сім'яні пухирці	Епідидиміси	Сім'яники
Молоді щури (8 міс.)						
Контроль	10	100,1 ± 10,4 (48–161)	55,2 ± 4,8 (28–78)	89,0 ± 4,3 (72–114)	356,7 ± 11,2 (310–428)	1158,0 ± 44,8 (990–1404)
Летрозол	10	108,0 ± 27,8 (59–136) p > 0,05	62,3 ± 2,0 (51–71) p > 0,05	90,9 ± 2,5 (78–103) p > 0,05	341,9 ± 7,9 (308–395) p > 0,05	1108,6 ± 39,1 (943–1320) p > 0,05
Щури, які старіють (18 міс.)						
Контроль	8	74,8 ± 10,6 (26–114)	40,6 ± 4,3 (18–48)	68,6 ± 7,5 (43–102)	296,1 ± 20,1 (198–367)	1013,0 ± 52,6 (789–1254)
Летрозол	7	99,7 ± 9,2 (65–121) p > 0,05	56,5 ± 4,0 (40–67) p < 0,05	89,8 ± 3,7 (78–102) p < 0,05	332,3 ± 16,3 (286–407) p > 0,05	1114,3 ± 59,9 (947–1325) p > 0,05

n: кількість тварин у кожній групі; y (): діапазон індивідуальних коливань; p: вірогідність порівняно з контролем.

Таблиця 2. Відносна маса органів репродуктивної системи (мг/100 г маси тіла) в контрольних і підослідних самців щурів різного віку через 2 міс. після відміни летрозолю ($M \pm m$)

Група тварин	n	Вентральна простата	Коагулююча залоза	Сім'яні пухирці	Епідидиміси	Сім'яники
Молоді щури (10 міс.)						
Контроль	10	110,9 ± 6,2 (86–137)	67,3 ± 2,4 (58–80)	85,0 ± 2,3 (74–95)	309,0 ± 9,1 (293–342)	962,7 ± 21,9 (990–1094)
Летрозол	10	121,7 ± 12,2 (87–219) p > 0,05	67,0 ± 3,7 (48–79) p > 0,05	93,8 ± 3,8 (80–119) p > 0,05	295,8 ± 13,1 (197–336) p > 0,05	884,2 ± 53,2 (500–1075) p > 0,05
Старіючі щури (20 міс.)						
Контроль	8	117,6 ± 10,1 (75–178)	71,4 ± 5,6 (48–111)	81,8 ± 2,9 (67–93)	302,2 ± 7,7 (262–341)	929,8 ± 26,9 (787–1026)
Летрозол	7	130,0 ± 12,1 (87–207) p > 0,05	71,9 ± 4,8 (48–105) p > 0,05	96,6 ± 3,7 (81–117) p < 0,01	290,4 ± 9,2 (240–331) p > 0,05	951,7 ± 25,8 (803–1047) p > 0,05

n: кількість тварин у кожній групі; y (): діапазон індивідуальних коливань; p: вірогідність порівняно з контролем.

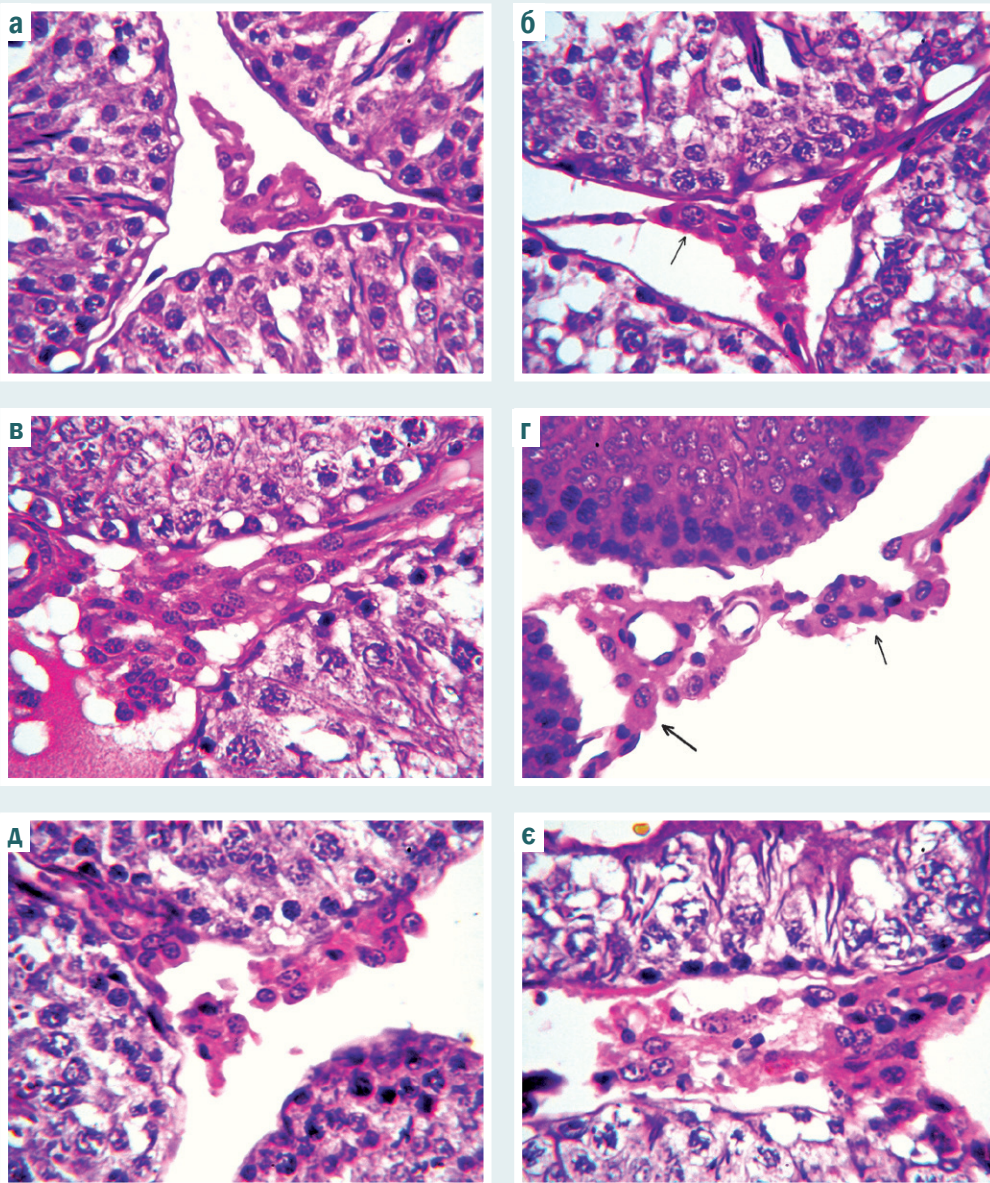


Рис. 3.
Мікроструктура сім'яників щурів:

а: контроль (молоді),
б: летрозол (молоді);
в: контроль (старіючі),
г: летрозол (старіючі),
д: молоді,
е: старіючі через 2 міс.
після скасування летрозолу.

Товста стрілка – активована клітина Лейдіга,
тонка стрілка – інволююча клітина Лейдіга.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: об. × 40.

У контрольних тварин відносна маса КЗ, СП та епідидимісів була меншою у самців, які старіють, порівняно з молодими ($p < 0,05$), що свідчить про вікову інволюцію андрогензалежних органів, котра зумовлена віковим дефіцитом тестостерону. Під впливом летрозолу цей показник у старіючих тварин вірогідно зріс і досяг нормальних (контрольних) величин для молодих самців (табл. 1). Відносна маса КЗ у них зростала в середньому на 40 %, СП – на 31 % порівняно з показниками контрольних тварин відповідного віку. Збільшення маси ВП (на 33 %) наближалось до рівня вірогідності, а сумарна відносна маса вентральної та передньої часток простати достовірно збільшувалася з $115,41 \pm 14,46$ мг/100 г маси тіла до $156,10 \pm 11,78$ мг/100 г маси тіла, тобто на 36 % ($p < 0,05$).

На відміну від старіючих, у молодих самців після застосування летрозолу відносна маса органів, які вивчали, не змінювалася порівняно з контрольною групою тварин того самого віку.

Через 2 місяці після скасування препарату відбулося нівелювання різниці показників маси органів статевої системи між дослідом і контролем, крім СП (табл. 2). Отже, летрозол у застосованій дозі та при аналізованій тривалості введення не викликає незворотних змін маси більшості андрогензалежних органів статевої системи.

Гістологічне дослідження показало: в молодих щурів будова ВП відповідала віковій нормі (рис. 4а,б). ВП складалася з великих ацинусів, котрі тісно прилягають один до одного й розділені тонкими прошарками сполучної тканини. У центральній частині ВП переважна частина залоз вистелена кубічним епітелієм, який у кінцевих відділах суттєво вищий, циліндричний, утворював численні папілярні вирости та гребені в порожнину ацинуса. Епітелій мав ознаки високої секреторної активності. Ядра епітеліальних клітин кулясті, чітко оконтуровані, містили частіше одне, інколи 2 ядерця, невелику кількість гетеро-

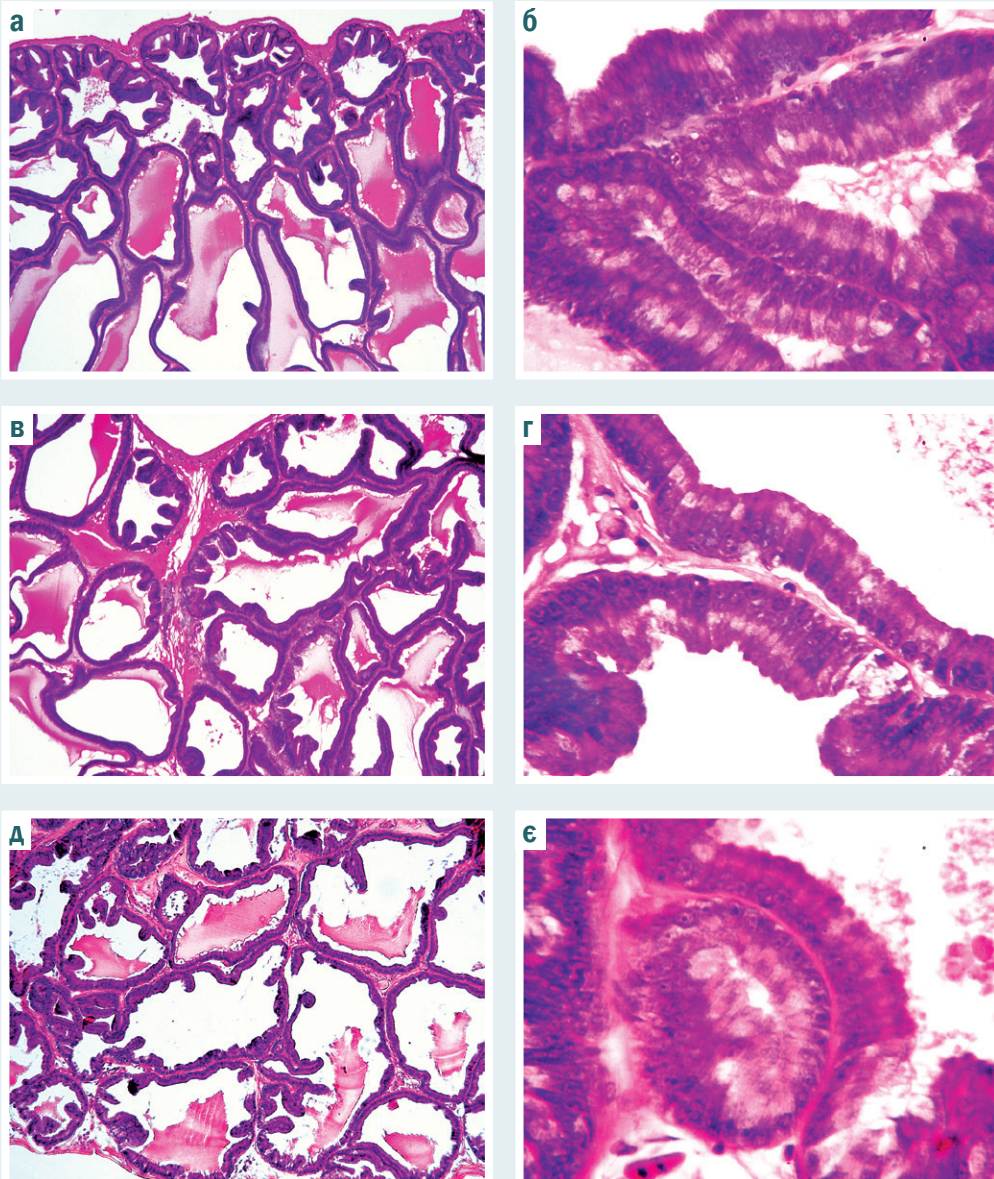


Рис. 4. Мікроструктура
вентральної частки
передміхурової залози
молодих щурів:

а, б: контроль;
в, г: летрозол (1 мг/кг через
день протягом 3 міс.);
д, е: через 2 міс. після скасу-
вання летрозолу.

Забарвлення гематоксиліном
та еозином.

Зб.: а, в, д – об. $\times 4$;
б, г, е – об. $\times 40$.

хроматину та розташовувались у базальній частині клітин. Навколо ядер і в апікальній частині клітин рясно забарвлювалась базофільна зернистість і чітко виділялась оксифільна зона Гольджі. У залозах виявляли дрібнозернистий секрет.

Після застосування летрозолу в дозі 1 мг/кг через день протягом 3 міс. у ВП молодих тварин було більше ацинів, вистелених циліндричним епітелієм. Розміри їх також нерідко були більшими, ніж у контрольних тварин (рис. 4в). У ВП спостерігали 2 типи змін. З одного боку, у більшості секреторних клітин були ознаки посилення секреторної активності, про що свідчило посилення вакуолізації їхньої цитоплазми, розширення зони Гольджі, утворення опуклих верхівок клітин (рис. 4е). З іншого боку, виявляли ознаки виснаження та дегенерації: світлу цитоплазму, гіперхромні та зморщені ядра. Також в епітелії знаходили апоптотичні тільця. Такі зміни, ймовірно, є наслідком виснаження через гіперфункціонування.

У щурів, які старіють, гістологічна будова ВП також відповідала віковій нормі. На відміну від молодих, їхні залози мали менші розміри ацинів, підвищено звивисту форму. У порожнині ацинів часто виявляли «амілоїдні» тільця. Прошарки сполучної тканини значно ширші, ніж у молодих тварин. Переважна частина залоз вистелена плоским епітелієм, але в кінцевих відділах зберігалась частина циліндричних епітеліальних клітин (рис. 5а). Сполучна тканина містила чималу кількість клітин і волокон. Ядра епітеліальних клітин часто гіперхромні, нерідко преформовані, мали дрібні ядерця або не мали їх зовсім. Епітелій інколи мав вигляд двохарового, часто його цитоплазма була гіпохромною, у клітинах визначали ліпофусцин (рис. 5б). У всіх клітинах у цитоплазмі було дуже мало базофільних гранул, зона Гольджі зберігалась лише в окремих клітинах, що свідчить про дуже слабку секреторну активність цих клітин.

Після тримісячного введення летрозолу старіючим щурам розмір ацинів збільшувався, зменшувалась

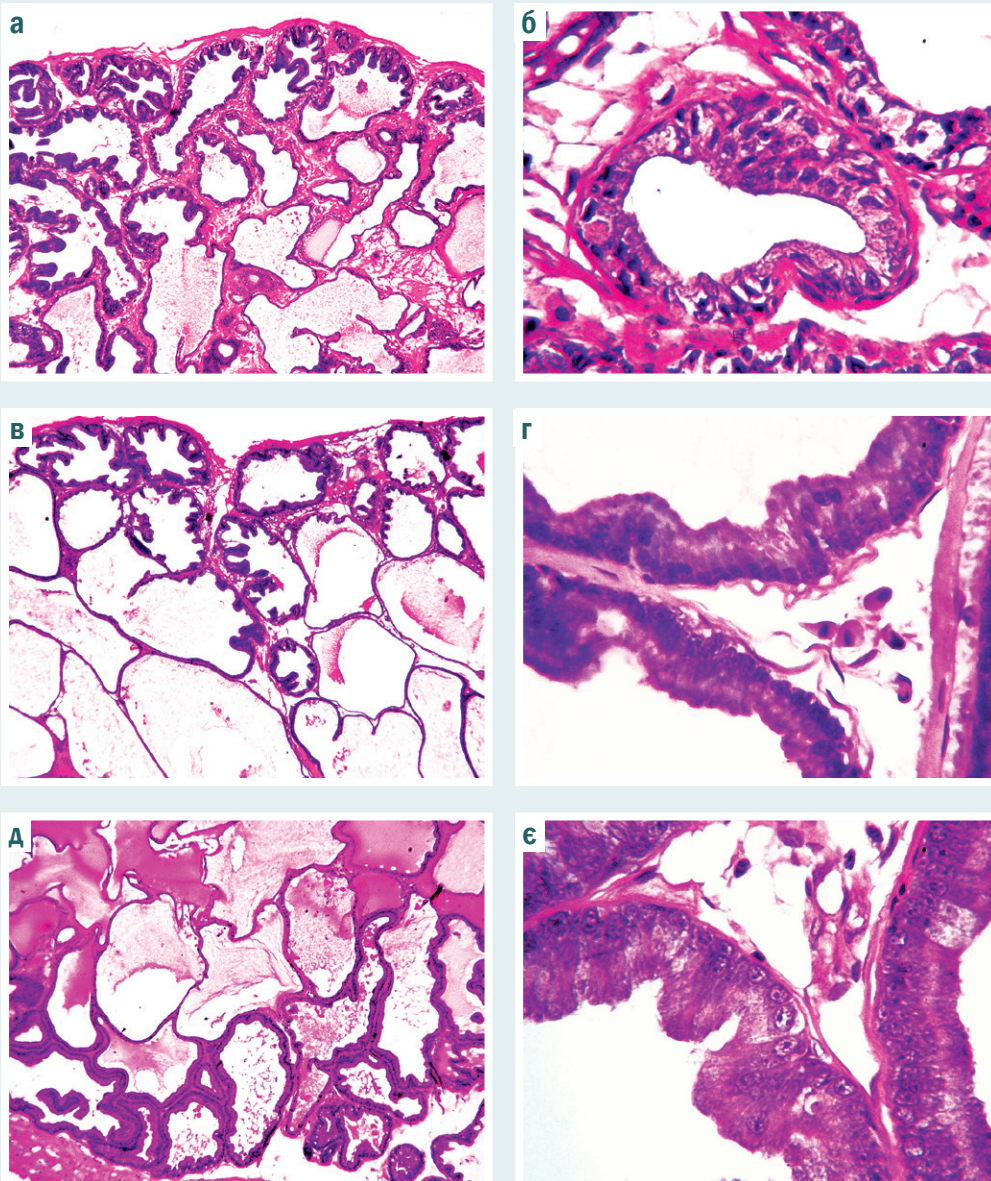


Рис. 5. Мікроструктура вентральної частки передміхурової залози старіючих щурів:

а, б (ліпофусцин в епітеліоцитах, гіперхромні преформовані ядра): контроль;
в, г (циліндричний епітелій нормальної будови): летрозол (1 мг/кг через день протягом 3 міс.);
д, е: через 2 міс. після скасування летрозолу.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.
Зб.: а, в, д – об. × 4;
б, г, е – об. × 40.

звивистість залоз. Зростала кількість секрету в них (рис. 5е). Міоїдні клітини були менш помітними, розтягнутими. Прощарки сполучної тканини тонкі, в основному вони склалися з аморфної речовини. У багатьох кінцевих відділах ВП з'являлись великі папілярні вирости високих циліндричних епітеліальних клітин нормальної будови з нормохромними кулястими ядрами, чіткими ядерцями, рясною базофільною зернистістю та чіткою зоною Гольджі (рис. 5е). Виявили мітози епітеліальних клітин. Загалом описана картина наближалася до такої в молодих самців і свідчила про часткове «омолодження» гістологічної будови залози й активацію секреторних процесів в епітелії при застосуванні летрозолу.

Через 2 міс. після припинення введення летрозолу ВП молодих щурів складалася з великих ацинусів відповідно до сезонної активації статевої системи (рис. 4д). Ацинуси були вистелені високим циліндричним епітелієм із багатьма папілярними виростами в

найбільш секреторно активних кінцевих відділах залоз (рис. 4е) та кубічним епітелієм у центральній зоні. Стан ВП майже не відрізнявся від відповідного контролю.

У тварин, які старіють, через 2 місяці після припинення введення летрозолу також спостерігали сезонну активацію стану ВП (рис. 5д,е) і відсутність різниці з відповідним контролем.

Обговорення

За фізіологічних умов інволютивні зміни репродуктивної системи є наслідками природного процесу старіння й одними з його найбільш чутливих індикаторів. Отримані в дослідженні результати щодо різниці концентрації тестостерону та співвідношення рівнів тестостерону та естрадіолу у плазмі крові молодих і старіючих контрольних щурів, які визначали у грудні, показують старіння репродуктивної системи. Варто відзначити, що ця різниця була відсутня через 2 міс.

після відміни летрозолу, наприкінці лютого, тобто напередодні весни, що ймовірно, пов'язано з сезонною активізацією статевих залоз. Це стосується і вікової різниці гістологічної будови сім'яників, ВП і маси додаткових статевих залоз, крім ВП.

У тварин обох вікових груп не виявили вірогідні зміни рівнів кожного з досліджених статевих гормонів у плазмі крові. Це не виключає зменшення продукції естрадіолу внаслідок гальмування периферичної конверсії тестостерону на естрадіол або синтезу естрогену сім'яниками щурів, як, наприклад, при інгібуванні ароматази анастрозолом [30]. Автори цієї роботи показали, що дводенне введення анастрозолу щурам вірогідно зменшує концентрацію естрадіолу в міжклітинній рідині гонад на тлі відсутності змін у периферичній крові. У нашій роботі показано, що зростання співвідношення тестостерону та естрадіолу у плазмі крові тварин, які старіють, під впливом летрозолу наближалось до межі вірогідності.

Отже, на відміну від чоловіків, гормональна система щурів-самців значно слабше реагує на блокаду ароматази. Наприклад, тільки після 19 тижнів застосування анастрозолу [30] або 15 тижнів введення іншого інгібітора (ворозолу), починаючи з 12-місячного віку [31] спостерігали підвищення рівня тестостерону у крові самців щурів.

Суттєвим аргументом щодо стимулювальної дії тримісячного застосування летрозолу на гонади й андрогензалежні репродуктивні органи є показники їхньої маси та гістологічної будови, передусім у самців, які старіють. Отже, тривале застосування летрозолу збільшує андрогенну насиченість організму старіючих самців щурів, що стимулює відповідні органи. Спричинені ним зміни репродуктивних органів мають зворотний характер.

Висновки

1. За умов перорального введення летрозолу протягом 3 місяців у дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на 2 доби препарат не викликає побічних ефектів ані в молодих, ані у старіючих самців щурів. Зокрема, він не впливає на масу тіла, поведінку тварин, зовнішній вигляд, споживання їжі, води.

2. Введення летрозолу за наведеною схемою призводить до збільшення андрогенної насиченості організму самців щурів, які старіють, на тлі вікової інволюції органів репродуктивної системи.

3. За усіма дослідженими показниками, через 2 місяці після припинення приймання летрозолу відбувається нівелювання різниці порівняно з контрольними тваринами.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Резніков О. Г., д-р мед. наук, професор, академік НАМН України, чл.-корр. НАН України, зав. відділу ендокринології репродукції та адаптації, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.
Сачинська О. В., канд. біол. наук, провідний науковий співробітник, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Полякова Л. І., старший науковий співробітник, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Фалюш О. А., канд. біол. наук, науковий співробітник, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Янішевський О. В., консультант, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Сведения об авторах:

Резников О. Г., д-р мед. наук, профессор, академик НАМН Украины, чл.-корр. НАН Украины, зав. отделом эндокринологии репродукции и адаптации, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Сачинская О. В., канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Полякова Л. И., старший научный сотрудник, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Фалюш О. А., канд. биол. наук, научный сотрудник, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Янишевский А. В., консультант, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Information about authors:

Reznikov O. H., MD, PhD, DSc, Professor, Acad. of NAMS of Ukraine, Correspond. Member of NAS of Ukraine, Head of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Sachynska O.V., PhD in Biology, Leading Researcher, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Poliakova L.I., Senior Researcher, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Faliush O. A., PhD in Biology, Researcher, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Yanishevskiy O.V., Consultant, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Надійшла до редакції / Received: 27.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 28.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 02.11.2018

Список літератури

- [1] Rastrelli G. Pharmacological management of late-onset hypogonadism / G. Rastrelli, M. Maggi, G. Corona // *Expert Rev Clin Pharmacol.* – 2018. – Vol. 11. – Issue 4. – P. 439–458.
- [2] Лучицький Є.В. Сучасні погляди на віковий андрогенодефіцит у чоловіків / Є.В. Лучицький, В.С. Лучицький // *Ендокринологія.* – 2012. – №4. – С. 56–60.
- [3] Резников А.Г. Взгляд патолофизиолога-эндокринолога на проблему возрастного дефицита андрогенов у мужчин (LOH-синдром) / А.Г. Резников // *Міжнародний ендокринологічний журнал.* – 2014. – Т. 6. – №62. – С. 11–18.
- [4] Ahmed K. Male Sexual Dysfunction and Hypogonadism Guidelines for the Aging Male / K. Ahmed, K. Hatzimouratidis, A. Muneer // *Eur Urol Focus.* – 2017. – Vol. 3. – Issue 4–5. – P. 514–516.
- [5] Decaroli M.C. Aging and sex hormones in males / M.C. Decaroli, V. Rochira // *Virulence.* – 2017. – Vol. 8. – Issue 5. – P. 545–570.
- [6] Low Testosterone Levels and Metabolic Syndrome in Aging Male / R. Blaya, P. Blaya, L. Rhoden, E.L. Rhoden // *Curr Pharm Des.* – 2017. – Vol. 23. – Issue 30. – P. 4470–4474.
- [7] Late-onset hypogonadism and mortality in aging men / S.R. Pye, I.T. Huhtaniemi, J.D. Finn, et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99. – Issue 4. – P. 1357–1366.
- [8] Rhoden E.L. Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring / E.L. Rhoden, A. Morgentaler // *New England J. Med.* – 2004. – Vol. 350. – Issue 5. – P. 482–492.

- [9] Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline / S. Bhasin, G.R. Cunningham, F.J. Hayes, et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91. – Issue 6. – P. 1995–2010.
- [10] Первый в Украине успешный опыт применения биоэвейвера для экспертной оценки лекарственного средства (Летромара) / А.И. Соловьев, А.Г. Резников, Л.В. Тарасенко, и др. // *Журнал АМН Украины.* – 2006. – Т. 12. – Issue 4. – С. 781–793.
- [11] Тарасенко Л.В. Патогенетична роль оваріальної ароматази стероїдів у розладах статевіої циклічності / Л.В. Тарасенко, О.Г. Резніков // *Фізіологічний журнал.* – 2007. – Т. 53. – №1. – С. 11–15.
- [12] Inhibition of estrogen biosynthesis and its consequences on gonadotrophin secretion in the male / A.S. Bhatnagar, P. Muller, L. Schenkel, et al. // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 1992. – Vol. 41. – P. 437–443.
- [13] Letrozole normalizes serum testosterone in severely obese men with hypogonadotropic hypogonadism / H. de Boer, L. Verschoor, J. Ruinemens-Koerts, et al. // *Diabetes, Obesity and Metabolism.* – 2005. – Vol. 7. – Issue 3. – P. 211–215.
- [14] Loves S. Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism / S. Loves, J. Ruinemens-Koerts, H. de Boer // *European J. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 158. – Issue 5. – P. 741–747.
- [15] De Ronde W. Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options / W. de Ronde, F.H. de Jong // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 93.
- [16] Successful use of aromatase inhibitor letrozole in NOA with an elevated FSH level: a case report / D. Zhao, L. Pan, F. Zhang, et al. // *Andrologia.* – 2014. – Vol. 46. – Issue 4. – P. 456–457.
- [17] Aromatase inhibitors in the treatment of oligozoospermic or azoospermic men: a systematic review of randomized controlled trials / M.A. Ribeiro, L.F. Gameiro, W.R. Scarano, et al. // *JBRA Assist Reprod.* – 2016. – Vol. 20. – Issue 2. – P. 82–88.
- [18] Letrozole Therapy for Obstructive Azoospermic Men before in vitro Fertilization (IVF) treatment with Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration / M. Bibancos, M. Cavagnoli, T.C. Bonetti, et al. // *JBRA Assist Reprod.* – 2015. – Vol. 19. – Issue 4. – P. 230–234.
- [19] Changes in hormonal profile and seminal parameters with use of aromatase inhibitors in management of infertile men with low testosterone to estradiol ratios / O. Gregoriou, P. Bakas, C. Grigoriadis, et al. // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98. – Issue 1. – P. 48–51.
- [20] Effects of aromatase inhibition in elderly men with low or borderline-low serum testosterone levels / B.Z. Leder, J.L. Rohrer, S.D. Rubin, et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2004. – Vol. 89. – Issue 3. – P. 1174–1180.
- [21] Effects of aromatase inhibition in hypogonadal older men: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / S.A. Burnett-Bowie, K.C. Roupenian, M.E. Dere, et al. // *Clinical Endocrinology.* – 2009. – Vol. 70. – Issue 3. – P. 116–123.
- [22] Schlegel P.N. Aromatase inhibitors for male infertility / P.N. Schlegel // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98. – Issue 6. – P. 13559–13562.
- [23] Tan R.B. Clinical Use of Aromatase Inhibitors in Adult Males / R.B. Tan, A.T. Guay, W.J. Hellstrom // *Sex Med Rev.* – 2014. – Vol. 2. – Issue 2. – P. 79–90.
- [24] Haynes B.P., Dowsett M., Miller W.R. et al. The pharmacology of letrozole // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2003. – 87, № 1. – P. 35–45.
- [25] Assessment of a nonsteroidal aromatase inhibitor, letrozole, in juvenile rats / L. Pouliot, M. Schneider, M. De Cristofaro, et al. // *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* – 2013. – Vol. 98. – Issue 5. – P. 374–390.
- [26] Selim M.E. Evaluation of the possible protective role of quercetin on letrozole-induced testicular injury in male albino rats / M.E. Selim, N.A. Aleisa, M.H. Daghestani // *Ultrastruct Pathol.* – 2013. – Vol. 37. – Issue 3. – P. 204–217.
- [27] Вікові особливості реакції репродуктивної системи самців шурів на летрозол / О.Г. Резніков, Л.В. Чайковська, Л.І. Полякова та ін. // *Ендокринологія.* – 2015. – Т. 20. – № 1. – С. 425–430.
- [28] Западнюк И.П. Лабораторные животные / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – К., 1974. – С. 21–26.
- [29] Гелашвили О.А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы / О.А. Гелашвили // *Саратовский научно-медицинский журнал.* – 2008. – Т. 4. – №22. – С. 125–126.
- [30] Effect of chronic administration of an aromatase inhibitor to adult male rats on pituitary and testicular function and fertility / K.J. Turner, M. Morley, N. Atanassova, et al. // *J Endocrinol.* – 2000. – Vol. 164. – Issue 2. – P. 225–238.
- [31] Skeletal effects of estrogen deficiency as induced by an aromatase inhibitor in an aged male rat model / D. Vanderschueren, S. Boonen, A.G. Ederveen, et al. // *Bone.* – 2000. – Vol. 27. – Issue 5. – P. 611–617.
- [2] Luchtytsky, Ye. V., & Luchtytsky, V. Ye. (2012). Suchasni pohliady na vikovyi androhenodefitsyt u cholovikiv [Modern concept of age androgen-deficiency in males]. *Endokrynolohia*, 4, 56–60. [in Ukrainian].
- [3] Reznikov, A. G. (2014). Vzgljad patofiziologa-e'ndokrinologa na problemu vozrastnogo deficita androgenov u muzhchin (LOH-sindrom) [The point of view of pathophysiological endocrinologist on the problem of age-related androgen deficiency in men (LOH-syndrome)]. *Mizhnarodnyi endokrynolohichnyi zhurnal*, 6(62), 11–18. [in Russian].
- [4] Ahmed, K., Hatzimouratidis, K., & Muneer, A. (2017). Male Sexual Dysfunction and Hypogonadism Guidelines for the Aging Male. *Eur Urol Focus*, 3(4-5), 514–516. doi: 10.1016/j.euf.2017.12.004.
- [5] Decaroli, M. C., & Rochira, V. (2017). Aging and sex hormones in males. *Virulence*, 8(5), 545–570. doi: [10.1080/21505594.2016.1259053].
- [6] Blaya, R., Blaya, P., Rhoden, L., & Rhoden, E. L. (2017). Low Testosterone Levels and Metabolic Syndrome in Aging Male. *Curr Pharm Des*, 23(30), 4470–4474. doi: 10.2174/1381612823666170503150955.
- [7] Pye, S. R., Huhtaniemi, I. T., Finn, J. D., Lee, D. M., O'Neill, T. W., Tajar, A., et al. (2014). Late-onset hypogonadism and mortality in aging men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 99(4), 1357–1366. doi: 10.1210/jc.2013-2052.
- [8] Rhoden, E. L., & Morgentaler, A. (2004). Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring. *New England J. Med.*, 350(5), 482–492. doi: 10.1056/NEJMr022251.
- [9] Bhasin, S., Cunningham, G. R., Hayes, F. J., Matsumoto, A. M., Snyder, P. J., Swerdloff, R. S., & Montori, V. M. (2006). Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91(6), 1995–2010. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-2847>.
- [10] Solov'ev, A. I., Reznikov, A. G., Tarasenko, L. V., & Margitich, V. M. (2006). Perviy v Ukraine uspeshnyy opyt primeneniya bioeveyvera dlya ekspertnoy ocenki lekarstvennogo sredstva (Letromara) [The first successful bioaiver application in Ukraine for the expert evaluation of a medicinal product (Letromara)]. *Zhurnal AMN Ukrainy*, 12(4), 781–793. [in Russian].
- [11] Tarasenko, L. V., & Reznikov, O. G. (2007). Patohenetychna rol ovarialnoi aromatazy steroidiv u rozladdakh stativoi tsyklichnosti [Pathogenetic role of ovarian steroid aromatase in disorders of sexual cycle]. *Fiziolohichnyi zhurnal*, 53(1), 11–15. [in Ukrainian].
- [12] Bhatnagar, A. S., Muller, P., Schenkel, L., Trunet, P. F., Beh, I., & Schieweck, K. (1992). Inhibition of estrogen biosynthesis and its consequences on gonadotrophin secretion in the male. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 41(3–8), 437–443. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90369-T](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90369-T).
- [13] De Boer, H., Verschoor, L., Ruinemens-Koerts, J., & Jansen, M. (2005). Letrozole normalizes serum testosterone in severely obese men with hypogonadotropic hypogonadism. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7(3), 211–215. doi: 10.1111/j.1463-1326.2004.00397.x
- [14] Loves, S., Ruinemens-Koerts, J., De Boer, H. (2008). Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism. *European J. Endocrinol.*, 158(5), 741–7. doi: 10.1530/EJE-07-0663.
- [15] De Ronde, W., & De Jong, F. H. (2011). Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options. *Reprod Biol Endocrinol.*, 9, 93. doi: 10.1186/1477-7827-9-93.
- [16] Zhao, D., Pan, L., Zhang, F., Pan, F., Ma, J., Zhang, X., & Liu, Y. (2014). Successful use of aromatase inhibitor letrozole in NOA with an elevated FSH level: a case report. *Andrologia*, 46(4), 456–457. doi: 10.1111/and.12122.
- [17] Ribeiro, M.A., Gameiro, L. F., Scarano, W. R., Briton-Jones, C., Kapoor, A., Rosa, M. B., & El Dib, R. (2016). Aromatase inhibitors in the treatment of oligozoospermic or azoospermic men: a systematic review of randomized controlled trials. *JBRA Assist Reprod.*, 20(2), 82–88. doi: 10.5935/1518-0557.20160019.
- [18] Bibancos, M., Cavagnoli, M., Bonetti, T. C., Semaco, E., Motta, E. L., & Serafini, P. C. (2015). Letrozole Therapy for Obstructive Azoospermic Men before in vitro Fertilization (IVF) treatment with Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration. *JBRA Assist Reprod.*, 19(4), 230–234. doi: 10.5935/1518-0557.20150045.
- [19] Gregoriou, O., Bakas, P., Grigoriadis, C., Creatsa, M., Hassiakos, D., & Creatsas, G. (2012). Changes in hormonal profile and seminal parameters with use of aromatase inhibitors in management of infertile men with low testosterone to estradiol ratios. *Fertil Steril*, 98(1), 48–51. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.04.005.
- [20] Leder, B. Z., Rohrer, J. L., Rubin, S. D., Gallo, J., & Longcope, C. (2004). Effects of aromatase inhibition in elderly men with low or borderline-low serum testosterone levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(3), 1174–1180. doi: 10.1210/jc.2003-031467.
- [21] Burnett-Bowie, S. A., Roupenian, K. C., Dere, M. E., Lee, H., & Leder, B. Z. (2009). Effects of aromatase inhibition in hypogonadal older men: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Endocrinology*, 70(1), 116–123. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03327.x.
- [22] Schlegel, P. N. (2012). Aromatase inhibitors for male infertility. *Fertil Steril*, 98(6), 13559–13562. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.10.023.
- [23] Tan, R. B., Guay, A. T., & Hellstrom, W. J. (2014). Clinical Use of Aromatase Inhibitors in Adult Males. *Sex Med Rev*, 2(2), 79–90. doi: 10.1002/smj.23.

References

- [1] Rastrelli, G., Maggi, M., & Corona, G. (2018). Pharmacological management of late-onset hypogonadism. *Expert Rev Clin Pharmacol.*, 11(4), 439–458. doi: 10.1080/17512433.2018.1445969.

- [24] Haynes, B. P., Dowsett, M., Miller, W. R., Dixon, J. M., & Bhatnagar A. S. (2003). The pharmacology of letrozole. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 87(1), 35-45.
- [25] Pouliot, L., Schneider, M., DeCristofaro, M., Samadifam, R., Smith, S. Y., & Beckman, D. A. (2013). Assessment of a nonsteroidal aromatase inhibitor, letrozole, in juvenile rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 98(5), 374–390. doi: 10.1002/bdrb.21080.
- [26] Selim, M. E., Aleisa, N. A., & Daghestani, M. H. (2013). Evaluation of the possible protective role of quercetin on letrozole-induced testicular injury in male albino rats. *Ultrastruct Pathol*, 37(3), 204–217. doi: 10.3109/01913123.2013.772269.
- [27] Reznikov, O. G., Chaikovska, L. V., Polyakova, L. I., Sachynska, O. V., Yanishevsky, O. V. (2015). Vikovi osoblyvosti reaktsii reproduktyvnoi systemy samtsiv shhuriv na letrozol [Age-related peculiarities of the response of male rat reproductive system to letrozole]. *Endokrynolohia*, 20(1), 425–430. [in Ukrainian].
- [28] Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., & Zakhariya, E. A. (1974) *Laboratornye zhyvotnye [Laboratory animals]*. Kyiv. [in Russian].
- [29] Gelashvily, O. A. (2008). Variant periodizatsii biologicheskii skhodnykh stadij ontogeneza cheloveka i krysy [Variant of periodization of biologically similar stages of human and rat's ontogenesis]. *Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal*, 4(22), 125–126. [in Russian].
- [30] Turner, K. J., Morley, M., Atanassova, N., Swanston, I. D., Sharpe, R. M. (2000). Effect of chronic administration of an aromatase inhibitor to adult male rats on pituitary and testicular function and fertility. *J Endocrinol.*, 162(2), 225–238.
- [31] Vanderschueren, D., Boonen, S., Ederveen, A. G., de Coster, R., Van Herck, E., Moermans, K., et al. (2000). Skeletal effects of estrogen deficiency as induced by an aromatase inhibitor in an aged male rat model. *Bone*, 27(5), 611–617.