

Б. Ж. КУЛТАНОВ

ВЛИЯНИЕ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА В КОМБИНАЦИИ С СВЧ-ОБЛУЧЕНИЕМ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

(Карагандинская государственная медицинская академия)

При сочетанном действии НДМГ и СВЧ-облучения развиваются стойкий окислительный стресс, нарушение репродуктивного статуса у крыс.

НДМГ и СВЧ-облучение проявляли взаимопотенцирующий эффект. Для коррекции выявленных нарушений была проведена апробация ряда фармакологических препаратов. Витамины С (50 мг/кг) и Е (2 мг/кг) способствовали умеренному снижению токсического действия НДМГ и СВЧ-облучения, тормозили нарушение окислительного метаболизма в сперматозоидах, вызывали увеличение числа подвижных сперматозоидов и сокращение атипичных форм. Препарат боярышник (50 мг/кг) обеспечивал умеренное снижение окислительного метаболизма в сперматозоидах, приводил к росту числа подвижных сперматозоидов и сокращению атипичных форм.

Анализ литературных данных показал, что СВЧ-облучение индуцирует достаточно широкий спектр биологических эффектов с различной направленностью. Разнаправленные изменения были обнаружены в характере ответа иммунной системы. При СВЧ-облучении с ППЭ 500 мкВт/см² наблюдались сдвиги в иммунной системе экспериментальных животных; в крови беременных самок выявлены циркулирующие аутоантитела, а также антитела против ткани плода, что свидетельствовало о развитии состояния иммунологического конфликта матери и плода. Вместе с тем при СВЧ-облучении с ППЭ 50 и 10 мкВт/см² у экспериментальных животных наблюдалась стимуляция клеточного и гуморального иммунитета [1].

Установлено, что СВЧ-облучение при ППЭ 50 мкВт/см² и выше может вызывать аутоаллергические процессы. Наряду с этим имеются данные о нарушении стабильности хромосом млекопитающих *in vivo* при действии СВЧ-облучения [2]. Показано стимулирующее влияние СВЧ-облучения низкой интенсивности на ионный транспорт через биологические мембраны. Возникновение конформационных перестроек в мембране под действием СВЧ-излучения способствует изменению спектра фосфолипидных компонентов [3].

В настоящее время активация ПОЛ не рассматривается как универсальный критерий окислительного стресса, так как доказано, что окислительным повреждением и деструкции кроме

липидов могут подвергаться и белки. Анализ литературных данных показал, что влияние СВЧ-облучения на состояние окислительного метаболизма сперматозоидов практически не изучено. Изучение окислительного метаболизма позволит раскрыть новые звенья механизмов развития биологических эффектов СВЧ-облучения. Отсутствуют также данные о биологической эффективности сочетанного применения НДМГ и СВЧ-теплого диапазона, что и определило проведение настоящего исследования.

Материалы и методы. У животных опытной и контрольной групп на всех сроках эксперимента после забоя извлекали семенники, промывали их охлажденным физиологическим раствором, затем экстрагировали суспензию сперматозоидов. Экстракция и все манипуляции со сперматозоидами проводились при оптимальной температуре 25°C по модифицированному методу Б. Ж. Култанова [4]. Для оценки состояния окислительного метаболизма в половых клетках устанавливались первичные, вторичные и конечные продукты перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной защиты. Конъюгированные диены и кетодиены в сперме определялись по унифицированному методу В. Н. Ушкаловой и Г. Д. Кадочниковой [5]. Определение малонового диальдегида в сперме проводилось по модифицированному методу Э. Н. Коробейниковой [6].

Активность аденозиндезаминазы в сперме определялась по методу И. Б. Немечек, Б. Л. Лурье, Б. Т. Величковского [7], глутатионперокси-

дазы – по методу Г. Г. Кругликовой и М. М. Штутман [8], каталазы – по методу М. А. Королук с соавт. [9].

Результаты и их обсуждение. Нами была предложена оригинальная модель для сравнительной оценки фармакологических способов повышения резистентности организма животных к сочетанному действию НДМГ и СВЧ-облучения. Крысы в течение 30 дней ежедневно внутрижелудочно получали 5 мг/кг НДМГ и подвергались тотальному СВЧ-облучению теплового диапазона (ППЭ 24 мВт/см²). В качестве фармакологических препаратов использовали витамины С и Е (в дозах 50 и 2 мг/кг соответственно), фитопрепарат боярышник (50 мг/кг). У крыс опытной группы, получающих препарат боярышник, количество подвижных сперматозоидов, малоподвижных и неподвижных спермиев было сопоставимо с контрольной группой. Кроме того, существенно снизился процент спермиев с удвоением аксономы, тогда как сохранялся достаточно большой процент спермиев с деформацией головки (табл. 1).

Был исследован характер изменения показателей системы ПОЛ–АОЗ в спермиях крыс при сочетанном действии НДМГ и СВЧ-облучения и на фоне коррекции фармакологическими препаратами. В табл. 2 представлены результаты исследований влияния антиоксидантов на показатели ПОЛ–АОЗ спермиев крыс при сочетанном действии НДМГ в дозе 5 мг/кг и СВЧ-облучения теплового диапазона.

Из табл. 2 следует, что в сперматозоидах крыс при сочетанном действии НДМГ и СВЧ-облучения наблюдается тенденция к росту уровня ДК, но достоверных отличий по сравнению с контролем зафиксировано не было. В то же время уровень КД возрос по сравнению с контролем на 49%.

Анализ характера изменения суммарных первичных и суммарных вторичных продуктов в сперматозоидах крыс при сочетанном действии НДМГ и СВЧ-облучения выявил тенденцию к накоплению суммарных вторичных продуктов, но достоверных различий по сравнению с контролем не обнаружено.

Таблица 1. Влияние фармакологических препаратов на морфофизиологические характеристики спермиев крыс при сочетанном действии НДМГ в дозе 5 мг/кг и СВЧ-облучения теплового диапазона, %

| Группа | Подвижные спермии | Малоподвижные спермии | Неподвижные спермии | Спермии с деформацией головки | Спермии с удвоением аксономы |
|--|-------------------|-----------------------|---------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 1. Контроль (вода), n = 10 | 77,6 | 11,5 | 10,9 | 12,8 | 12,4 |
| 2. НДМГ + СВЧ + вода, n = 10 | 66,5 | 14,5 | 19 | 29,8 | 23,9 |
| 3. НДМГ + СВЧ + витамины С и Е, n = 10 | 75,2 | 12,6 | 12,2 | 20,5 | 13,2 |
| 4. НДМГ + СВЧ + боярышник, n = 10 | 76,9 | 11,8 | 11,3 | 19,5 | 12,3 |

Таблица 2. Влияние антиоксидантов на показатели ПОЛ–АОЗ спермиев крыс при сочетанном действии НДМГ в дозе 5 мг/кг и СВЧ-облучения теплового диапазона (M±m)

| Показатели | Контроль – вода, n=8 | НДМГ и СВЧ-облучение + вода, n=10 | НДМГ и СВЧ-облучение + витамины Е и С, n=10 |
|---|----------------------|-----------------------------------|---|
| ДК, отн. ед/моль | 215,0±32,6 | 233,6±36,0 | 255,8±18,9 |
| КД, отн. ед/моль | 74,3±12,8 | 111,0±16,1 | 157,9±30,6* |
| СПП, усл. ед | 0,93±0,28 | 0,97±0,22 | 0,80±0,12 |
| СВП, усл. ед | 0,43±0,09 | 0,90±0,43 | 0,60±0,09 |
| ШО, усл. ед | 1,25±0,13 | 1,45±0,08 | 1,65±0,24 |
| МДА, мкмоль/мл | 0,26±0,09 | 0,57±0,32 | 0,21±0,06 |
| КАТ, моль Н ₂ O ₂ /мл/мин | 0,58±0,02 | 0,57±0,02 | 0,43±0,04*# |
| ГПО, ед. опт. пл./мл-мин | 117,3±25,0 | 106,3±21,0 | 78,3±12,1 |
| АДА, нмоль/мл-мин | 39,4±9,42 | 1,17±0,41* | 27,8±5,9# |

Примечание. Здесь и в табл. 3 обозначено: * – достоверность по сравнению с контролем, $p < 0,05$; # – достоверность по сравнению с группой НДМГ + СВЧ-облучение, $p < 0,05$.

Выраженных отличий по содержанию МДА в сперматозоидах крыс контрольной группы и группы сравнения не было зафиксировано. Вместе с тем прослеживается отчетливая тенденция к увеличению содержания ШО в сперматозоидах крыс при сочетанном воздействии НДМГ и СВЧ-облучения.

Анализ активности ферментов АОЗ в сперматозоидах крыс при сочетанном воздействии НДМГ и СВЧ-облучения не выявил каких-либо изменений по сравнению с контролем. Однако зафиксировано резкое угнетение активности АДА в сперматозоидах крыс при сочетанном воздействии НДМГ и СВЧ-облучения: по сравнению с контролем этот показатель снизился в 33,7 раза. Использование антиоксидантов (витамины С и Е) при сочетанном действии НДМГ и СВЧ-облучения индуцировало дальнейшее увеличение образования ДК и КД в сперматозоидах крыс по сравнению с таковым группы без коррекции. Применение антиоксидантов способствовало снижению содержания СВП по сравнению с таковым группы без коррекции, но выявленные изменения также не носили достоверный характер. Установлена слабая тенденция к росту уровня МДА в сперматозоидах крыс опытной группы, получавших антиоксиданты, по сравнению с таковым контроля и группы без коррекции; содержание ШО сохранялось на уровне, сопоставимом с контролем. Обращает на себя внимание отчетливая тенденция к снижению активности КАТ и ГПО в сперматозоидах крыс опытной группы, получавших антиоксиданты, по сравнению с таковым контроля и группы без коррекции. В то же время зафиксирован достоверный рост активности АДА в 23,8 раза по сравнению с таковой группы без коррекции.

В табл. 3 представлены результаты исследований влияния фитопрепарата боярышник на показатели ПОЛ в спермиях крыс при сочетанном воздействии НДМГ в дозе 5 мг/кг и СВЧ-облучения теплового диапазона.

Из табл. 3 следует, что у крыс опытной группы, получавших препарат боярышник, сохраняется тенденция к снижению активности КАТ и ГПО в сперматозоидах по сравнению как с контролем, так и с группой животных без коррекции. Обращает на себя внимание достоверное увеличение активности АДА в сперматозоидах крыс опытной группы, получавших фитопрепарат боярышник, в 25,6 раза по сравнению с животными без коррекции. Остальные показатели ПОЛ в сперматозоидах крыс, получавших фитопрепарат боярышник, сопоставимы с контролем.

Известно, что в процессе метаболизма производных гидразина образуются высокотоксичные реакционноспособные кислородные радикалы. В окислительном метаболизме гидразинов участвуют система цитохрома Р-450 и ФАД-содержащая монооксигеназа. Важной особенностью этих путей метаболизма является образование в качестве промежуточных соединений супероксидных радикалов. Применение антиоксидантной терапии оказывает протективный эффект в условиях оксидантного стресса. Аскорбиновая кислота и токоферола ацетат служат неэнзиматическими регуляторами уровня супероксидрадикалов. Как следует из полученных данных, фармакологические препараты демонстрировали различную эффективность в зависимости от объекта и параметра исследования. Такие отличия по степени эффективности, по нашему мнению, связаны с особенностями фармакокинетики конкретного препарата. В целом позитивный

Таблица 3. Влияние фитопрепарата боярышник на показатели ПОЛ в спермиях крыс при сочетанном воздействии НДМГ в дозе 5 мг/кг и СВЧ-облучения теплового диапазона (M±m)

| Показатели | Контроль – вода, n=8 | НДМГ и СВЧ-облучение + вода, n=10 | НДМГ и СВЧ-облучение + ЭБ, n=10 |
|---|----------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| ДК, отн. ед/моль | 215,0±32,6 | 233,6±36,0 | 208,3±21,7 |
| КД, отн. ед/моль | 74,3±12,8 | 111,0±16,1 | 99,4±5,99 |
| СПП, усл. ед | 0,93±0,28 | 0,97±0,22 | 0,81±0,11 |
| СВП, усл. ед | 0,43±0,09 | 0,90±0,43 | 0,530,07 |
| ШО, усл. ед | 1,25±0,13 | 1,45±0,08 | 1,67±0,20 |
| МДА, мкмоль/мл | 0,26±0,09 | 0,57±0,32 | 0,30±0,07 |
| КАТ, моль Н ₂ O ₂ /мл/мин | 0,58±0,02 | 0,57±0,02 | 0,43±0,03** |
| ГПО, ед. опг. пл./мл-мин | 117,3±25,0 | 106,3±21,0 | 73,0±3,18 |
| АДА, нмоль аденозина/ мл-мин | 39,4±9,42 | 1,17±0,41* | 29,9±7,48# |

эффект от применения витаминов С и Е связан с их способностью функционировать на границе раздела липиды/водная среда, при этом аскорбиновая кислота восстанавливает окисленную форму витамина Е, участвует в формировании иммунного ответа, оказывает антирадикальное действие [10, 11]. Реализация положительного влияния витамина Е детерминирована его разнообразными свойствами. Витамин Е, будучи структурным антиоксидантом, оказывает стабилизирующее действие на плазматические и субклеточные мембраны. Кроме того, он является перехватчиком АФК [12], активирует синтез белков, митотическую активность клеток, влияет на реализацию иммунного ответа. По нашему мнению, при сочетанном действии НДМГ и СВЧ-облучения позитивный эффект от применения витаминов С и Е связан с лимитированием образования АФК, снижением давления окислительного стресса и стабилизацией мембран клеток. В состав препарата боярышник входит ряд биологически активных веществ, в частности, флавоноидов, органических кислот, каротиноидов, тритерпеноидов, микроэлементов и др. [13], что позволило предположить и впоследствии подтвердить наличие у него выраженных антиоксидантных свойств. По нашему мнению, позитивный эффект от применения препарата боярышник определяется наличием в его составе флавоноидов, способных перехватывать свободные радикалы и АФК. Благодаря фенольной структуре они обладают способностью улавливать свободные радикалы и эффективно прерывать патологический цикл ПОЛ. Биофлавоноиды также способствуют значительному увеличению восстановленного глутатиона, оказывают мембраностабилизирующее действие, стимулируют синтез белка, ускоряют регенерацию поврежденных клеток.

Таким образом, нами впервые показано, что сочетанное действие НДМГ и СВЧ-облучения теплового диапазона индуцирует каскад молекулярных, клеточных и системных нарушений в организме экспериментальных животных, а также доказана возможность ограничения негативных эффектов сочетанного действия НДМГ и СВЧ-облучения теплового диапазона путем применения фармакологических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Батанов Г.В., Степанов В.С., Трифонов С.И., Левин А.Д. Оценка биологического воздействия СВЧ-излучений на показатели иммунитета // Гигиена и санитария. 1987. № 10. С. 35-37.
2. Шандала М.Г., Антипенко Е.Н., Ковешникова И.В., Тимченко О.И. Генетическая опасность микрорadiоволн нетепловой интенсивности и ее генетические аспекты // Гигиена и санитария. 1982. № 10. С. 8-41.
3. Шейн А.Г., Никулин Р.Н. Подходы к моделированию воздействия электромагнитного поля сверхвысокой частоты низкой интенсивности на ионный транспорт через биологические мембраны // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2003. № 10. С. 47.
4. Култанов Б.Ж., Джангозина Д.М. Комплекс методов для ранней диагностики нарушения сперматогенеза у больных вибрационной болезнью // Информационный листок: КазгосИНТИ. 1996. №1. 4 с.
5. Уикалова В.Н., Кадоичникова Г.Д. Исследование параметров, характеризующих активность перекисного окисления липидов, при изучении адаптации человека к новым климато-географическим условиям // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1987. № 5. С. 571-573.
6. Коробейникова Э.Н. Методы определения малонового диальдегида в плазме крови // Лаб. дело. 1989. № 7. С. 8-10.
7. Немечек И.Б., Пестина Т.И., Соковина Я.М. Аденозиндезаминаза форменных элементов крови: распространение, свойства в норме и при различных гематологических заболеваниях // Вопр. мед. химии. 1993. № 4. С. 16-22.
8. Кругликова Г.Г., Штутман М.М. // Укр. биохим. журнал. 1976. № 2. С. 223-227.
9. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16-19.
10. Макаров В.Г., Макарова М.Н., Селезнева А.И. Изучение механизма антиоксидантного действия витаминов и флавоноидов // Вопросы питания. 2005. Т. 74, № 1. С. 10-13.
11. Лобарева Л.С., Денисов Л.Н., Якушева Е.О. Витамины антиоксидантного действия и ревматические заболевания // Вопр. питания. 1995. № 4. С. 24-29.
12. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям: (Фитотерапия). Алма-Ата: Казахстан, 1991. 416 с.
13. Самылина И.А., Киселева Т.Л. Изучение химического состава нефармакопейных видов боярышника и оценка их фармакологической активности // Фармация. 1990. № 1. С. 12-18.

Резюме

СДМГ және ӨЖЖ-сәулеленудің әсеріне сәйкес егеу-құйрықтың репродуктивті дәрежесін бұзатын мықты тотығу стресі дамиды.

СДМГ және ӨЖЖ-сәулелену өзіндік потенциалдаушы эффектінің пайда болуын шақырады. Бұзылыс шақыратын коррекция үшін фармакологиялық препараттар қатарынан апробация жүргізіледі. Дәрумендер С (50 мг/

кг) және Е (2 мг/кг) СДМГ және ӨЖЖ-сәулеленудің токсикалық әсерінің біртіндеп төмендеуіне, сперматозоидтарда тотығу метаболизмінің бұзылуының тоқтауына, типтік емес түрлердің қысқаруына және қозғалмалы сперматозоидтардың санының өсуіне себепкер болады.

Summary

Combined action of nonsymmetrical dimethylhydrazine (NSDM) and SHF-irradiation causes development of stable oxidative stress, dysfunction of the reproductive status at rats.

NSDM and SHF-irradiation had shown potential effect

each for each. For the purpose of correction of the revealed protein dysfunctions we had approbated a line of pharmacological pre-parations. Vitamins C (50 mg/kg) and E (2 mg/kg) had provided good decrease of the NSDM and SHF-irradiation toxic action, had decreased dysfunctions of the oxidative stress in sper-matozoa, had provided increase of the mobile spermatozoa and decrease of the atypical forms.

Preparation Hawthorn (50 mg/kg) had provided good decrease of the oxidative stress in spermatozoa, had caused increase of the mobile spermatozoa and decrease of the atypical forms.