DOI 10.31718/2077-1096.20.1.36

УДК 615.356 : 632.954

Моїсєєва Н.В., Капустянська А.А., Шумейко О.Г.

ГОНАДОПРОТЕКТИВНІ ВЛАСТИВОСТІ КОМПЛЕКСУ АНТИОКСИДАНТІВ НА ФОНІ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ГЕРБІЦИДІВ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

У сучасних умовах, коли тимчасові економічні труднощі країни зумовили зниження загальної культури землеробства, особливо актуальна проблема контролю чисельності бур'янів сільськогосподарських угідь. Безсумнівно, що і в нашій країні зі зміцненням економіки зростає застосування засобів захисту культурних рослин, що потребують ще більш пильної уваги до проблеми екологічної прийнятності застосування гербіцидів і реабілітації ґрунтів, забруднених залишками отрутохімікатів. Загальний механізм дії, ушкоджуючої дії гербіцидів різних груп, - це порушення окисно-відновних процесів, зокрема підвищення вільнорадикального перекисного окислення ліпідів, перш за все, в мембранах клітин гонад, що в кінцевому підсумку може призвести до їх деструкції протягом усього репродуктивного періоду. Крім того, вони надають гонадотоксичної дії, що приводить до зниження стероїдогенезу, і як наслідок - до порушення сперматогенезу. Метою роботи було вивчення гонадопротективних властивостей комплексу антиоксидантів, їх вплив на показники вільнорадикального перекисного окислення ліпідів, морфологічні та функціональні зміни в сім'яниках щурів на фоні токсичного впливу гербіциду клопіраліду. Уведення комплексу антиоксидантів на фоні токсичного впливу клопіраліду сприяло не тільки значному зниженню вільнорадикального перекисного окислення ліпідів в крові і тканинах сім'яників, а й нормалізації стану сперматогенного епітелію, кількісних показників сперми, нормалізації рухливості сперматозоїдів. В умовах інтоксикації комплекс антиоксидантів впливає не тільки на рівень сперматогенного епітелію, але при цьому покращує і якість сперми, сприяючи відновленню рухливості сперматозоїдів. Дослідження морфологічних змін в сім'яниках і функціональної готовності сперми показали, що на фоні інтоксикації гербіцидом найбільш значущі зміни реєструвались при корекції комплексом антиоксидантів, що підкреслює його більш виражену гонадопротективну дію. Отримані результати свідчать про доцільність використання комплексу антиоксидантів в якості гонадопротекторів при хронічному надходженні в організм гербіцидів.

Ключові слова: антиоксиданти, гонадопротективні властивості, гербіциди.

НДР «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин та лікарських засобів для корекції порушень гомеостазу різної етіології» №0111U004879

У сучасних умовах, коли тимчасові економічні труднощі країни зумовили зниження загальної культури землеробства, особливо актуальна проблема контролю чисельності бур'янів сільськогосподарських угідь. Скрізь спостерігається збільшення засміченості посівів сільськогосподарських культур, причому 50-70% посівних площ засмічене у вищому ступеню. Потенційні втрати врожаю в землеробстві від бур'янів дуже великі. Безсумнівно, що і в нашій країні зі зміцненням економіки зростає застосування засобів захисту культурних рослин, що потребують ще більш пильної уваги до проблеми екологічної прийнятності застосування гербіцидів і реабілітації ґрунтів, забруднених залишками отрутохімікатів.

Одна з найбільш поширених груп хімічних речовин, що використовуються в сільському господарстві, - гербіциди. Останнім часом в якості гербіциду все ширше застосовуються похідні піридинкарбонової кислоти - клопіралід (3,6-дихлор-2-піридинкарбонової кислота) і його солі: триетиламін, триізопропіламін, моноетиламін. Клопіралід - післясходовий гербіцид з високою гербіцидною активністю по відношенню до бур'янів, стійких до арилоксиалканкарбонових кислот та їх похідних: рослин сімейства складноцвітих, зонтичних, гречкових та бобових і вибірковістю по відношенню до зернових, культур сімейства

хрестоцвітних, льону і цукрового буряку. У ґрунті період напіврозпаду 73 дні, 49 днів, у ряді випадків - до 1 року. Розкладання відбувається переважно мікробіологічним шляхом, дія гідролізу і фотолізу незначна. У зв'язку з високою розчинністю у воді клопіралід погано зв'язується ґрунтом. Це обумовлює високу міграцію в ґрунті і здатність вилугувувати в ґрунтові води. В рослинах препарат не піддається розкладанню, внаслідок чого в зерні виявляються його залишкові кількості (0,02-0,67 мг/кг). У кількості 0,04-3,3 мг/кг речовина знаходиться в соломі через два місяці після обробки, також залишкові кількості присутні і в висівках [1].

Існує думка, що гербіциди менше взаємодіють з тим, що ми їмо. Однак це не так. Через ґрунтові води і ґрунт гербіциди отруюють сусідні рослини і навколишнє середовище, завдаючи шкоди і природі, і здоров'ю людини.

Загальний механізм дії, ушкоджуючої дії гербіцидів різних груп це порушення окисно-відновних процесів, зокрема підвищення вільнорадикального перекисного окислення (СРПО) ліпідів, перш за все, в мембранах клітин гонад, що в кінцевому підсумку може призвести до їх деструкції протягом усього репродуктивного періоду. Крім того, вони надають гонадотоксичної дії, що приводить до зниження стероїдогенезу, і як наслідок - до порушення сперматогенезу [2].

Важлива роль СРПО ліпідів в порушенні цілісності біомембран і розвитку цитолітичного синдрому призводить до думки застосування антиоксидантів в якості гонадопротективних засобів, серед яких найбільш перспективним представляються комбінація антиоксидантних сполук різної хімічної структури [2]. Одним з таких комплексів є Азупростат до складу якого входять: α -токоферол ацетат, екстракт ехінацеї пурпурової, ретинол пальмітат, β -ситостерол [2].

Мета роботи

Вивчення гонадопротективних властивостей комплексу антиоксидантів, їх вплив на показники СРПО ліпідів, морфологічні та функціональні зміни в сім'яниках щурів на фоні токсичного впливу гербіциду клопіраліду.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені на щурах-самцях масою 190-205 г. Тварини контрольної групи щодня отримували клопіралід в дозі 150 мг/кг маси тіла, що склало 0,33 LD₅₀ (LD₅₀ – 5000 мг/кг). Вплив гербіциду тривав 56 днів, з урахуванням тривалості сперматогенезу у щурів і дозрівання сперматозоїдів в придатку сім'яника. Тварини експериментальних груп на тлі введення токсиканту отримували: одна група α -токоферол ацетат (10 мг/кг), друга група – комплекс антиоксидантів.

У плазмі крові і тканинах сім'яників визначали дієнові кон'югати (ДК) [3], в крові і тканинах сім'яників – ТБК-реактанти [3]. Величину спонтанного гемолізу еритроцитів, активність антиоксидантних ферментів крові: супероксиддисмутази (СОД); каталази, церулоплазміну [3].

Проводили вивчення кількісного та функціонального стану сперми [4]. Життєздатність сперматозоїдів вивчали за допомогою еозинового тесту. Визначали патологічні форми сперматозоїдів. Морфологічно досліджували стан сперматогенного епітелію [4].

Статистичну обробку отриманих результатів виконано на персональному комп'ютері за допомогою стандартного пакета функцій «MS Excel» і «Statistica for Windows. Release 6.0».

Результати дослідження та їх обговорення

У групі тварин під впливом гербіциду зменшилася маса тіла на 13%, знизилася активність, відмічалось значне випадіння шерсті, зменшилася маса сім'яників на 15%, проте їх масові коефіцієнти в порівнянні з нормою істотно не змінилися. У крові відзначалося посилення СРПО ліпідів, про що свідчить вірогідне зростання кількості ДК у 1,6 рази ($P < 0,01$), проміжних продуктів СРПО ліпідів – ТБК-реактантів в 3,6 разів у порівнянні з інтактними тваринами ($P < 0,01$). Такий же високий рівень ТБК-реактантів відзначався і в тканинах сім'яників, що перевищує норму в 1,5 рази ($P < 0,01$). Спостерігалось зниження активності антиоксидантних ферментів. Активність ка-

талази знизилася в 2,5 рази ($P < 0,05$), церулоплазміну в 1,4 рази ($P < 0,01$). Активність СОД, навпаки, зросла в 1,9 рази у порівнянні з інтактною групою ($P < 0,001$). Дослідження спермограмм показали, що введення клопіраліду призвело до збільшення абсолютної кількості мертвих і патологічних форм. Загальна кількість сперматозоїдів знизилася на 36% ($P < 0,01$), причому кількість мертвих сперматозоїдів зросла в 1,8 рази, кількість патологічних форм в 2,4 рази у порівнянні з інтактною групою ($P < 0,001$). Значно змінилася і рухливість сперматозоїдів. Кількість сперматозоїдів з нормокінезісом зменшилася в 3,3 рази ($P < 0,001$); з гіпокінезісом зросла в 2,9 рази ($P < 0,001$); з акінезісом збільшилася в 3,1 рази ($P < 0,001$); з діскінезісом зросла в 10 разів ($P < 0,001$). Виявлено морфологічні зміни насінневого епітелію: знизилася кількість нормальних сперматогоніїв на 23% ($P < 0,02$); збільшилася кількість каналців зі слущеним епітелієм в 4,4 рази ($P < 0,05$); в 2 рази зросла кількість каналців з атрофічним або пошкодженим епітелієм ($P < 0,02$). Всі вищеописані зміни в кінцевому підсумку призводять до зниження фертильності. Мікроскопічне дослідження тканин сім'яників виявили порушення у вигляді дистрофічних і дисгенераторних змін, які супроводжувалися компенсаторною гіперплазією. Зазначався розвиток дистрофічних змін в судинах мікроциркуляторного русла, які посилювали дегенеративні зміни сперматогенного епітелію. Фоликулярні клітини (Сертолі) набрякли, значно перевершують розмірами нормальні клітини, містять маленьке ядро. Кількість клітин Лейдіга значно знижено, і вони мають патологічні зміни. Відзначається спустошення сім'яних каналців, пошкодження сперматогенного епітелію, особливо на кінцевих етапах сперматогенезу, що бачимо в зниженні індексу сперматогенезу.

В експериментальній групі тварин, які на тлі інтоксикації клопіралідом отримували α -токоферол ацетат відзначалося деяке зниження СРПО ліпідів в крові і тканинах сім'яників. Так, зміст ДК в сироватці крові знизився на 23% ($P < 0,05$). Концентрація ТБК-реактантів в крові знизилася в 2,5 рази ($P < 0,05$) і не відрізнялася від показників норми. У тканинах сім'яників вміст ТБК-реактантів знизився на 27% ($P < 0,001$). На тлі інтоксикації клопіралідом α -токоферол ацетат сприяв відновленню системи антиоксидантного захисту організму, про що свідчить зниження спонтанного гемолізу еритроцитів в 1,5 рази ($P < 0,05$). Зазначалося достовірне зниження активності СОД в крові на 29% ($P < 0,05$), активність каталази збільшилася в 2,5 рази ($P < 0,01$), церулоплазміну на 44% ($P < 0,01$) в порівнянні з групою контролю. Вивчення спермограмм відобразило нормалізацію кількості сперматозоїдів ($P < 0,002$). Кількість мертвих сперматозоїдів знизилася на 24% ($P < 0,05$), хоча і перевищувала показник норми в 1,4 рази ($P < 0,05$). Подібна ситуація спостеріга-

лася і щодо патологічних форм сперматозоїдів - їх кількість знизилася на 22% ($P < 0,02$), хоча і не досягла норми ($P < 0,001$). Вивчення кінезисграми показало, що кількість сперматозоїдів з нормокінезісом під впливом вітаміну Е зросла в 2,9 рази ($P < 0,001$), але не досягла величин норми ($P < 0,05$). Кількість сперматозоїдів з гіпокінезісом достовірно знизилася в 2 рази ($P < 0,001$), хоча їх величина на 45% нижче норми ($P < 0,05$). Кількість сперматозоїдів з акінезісом в 2 рази нижче за показники контролю ($P < 0,001$), при цьому перевищувала на 58% норму ($P < 0,02$). Кількість сперматозоїдів з дискінезісом істотно знизилася в 2,3 рази ($P < 0,01$), але в 4,4 рази перевищувала норму ($P < 0,001$). Морфологічні дослідження насінневого епітелію виявили, що індекс сперматогенезу під впливом α -токоферолу ацетату відповідав нормі. Кількість нормальних сперматогонієв зросла в 1,3 рази, кількість каналців з 12 стадією мейозу була вище показників групи контролю в 2,4 рази ($P < 0,05$), не відрізняючись від норми. Кількість каналців з атрофічним або пошкодженим епітелієм знизилася в 2 рази, відповідаючи нормі. У тварин цієї групи морфологічні характеристики насінневого епітелію показали відновлення сперматогонієв I та II порядку, значне зменшення спустошених каналців, нормалізувалися сполучнотканинні оболонки.

Дослідження впливу комплексу антиоксидантів при інтоксикації клопіралідом на біохімічні показники крові продемонструвало: зниження ДК на 34% ($P < 0,01$); концентрація ТБК-реактантів знизилася в 3 рази ($P < 0,01$) ці показники не відрізнялися від величин норми. У тканинах сім'яників вміст ТБК-реактантів знизився в 1,5 рази ($P < 0,01$). Відзначалася нормалізація показника спонтанного гемолізу еритроцитів і активності СОД в крові дослідних тварин. Активність каталази навпаки зросла в 2,5 рази ($P < 0,02$). Активність церулоплазміну зросла в 1,4 рази щодо контрольної групи ($P < 0,01$). Вивчення масових показників сім'яників відобразило збільшення маси сім'яників на 17,5% ($P < 0,05$). Вивчення спермограми показало достовірне збільшення загальної кількості сперматозоїдів на 58% від контролю ($P < 0,01$). Кількість мертвих сперматозоїдів зменшилася в 1,8 рази ($P < 0,001$). Кількість патологічних форм сперматозоїдів знизилася в 2 рази ($P < 0,001$). Комплекс антиоксидантів суттєво впливав на рухливість сперматозоїдів. Так, кількість сперматозоїдів з нормокінезісом виявилася в 3,2 рази вище ніж у контрольній групі ($P < 0,001$), з гіпокінезісом в 2,6 рази нижче величин контролю ($P < 0,001$), з акінезісом в 2,9 рази нижче ($P < 0,001$), з дискінезісом в 6 разів нижче ніж в контрольній групі ($P < 0,01$). Всі показники кінезисграми відповідали інтактним тваринам. Крім цього нормалізувався індекс сперматогенезу ($P < 0,01$), збільшилася кількість нормальних сперматогонієв на 31% від контролю ($P < 0,05$),

знизилася кількість каналців зі слущенням епітелієм в 3,4 рази ($P < 0,01$), зросла в 2,5 рази кількість каналців з 12-ї стадією мітозу ($P < 0,01$), знизилася в 1,9 рази кількість каналців з атрофічним і пошкодженим епітелієм ($P < 0,02$). Відзначалося поліпшення морфологічних показників насінників, причому гістологічна картина істотно не відрізнялася від норми.

Висновки

Таким чином, введення α -токоферолу ацетату при тривалому введенні гербіциду клопіраліду призводило до гальмування процесів СРПО ліпідів, деякого підвищення антиоксидантної забезпеченості організму, нормалізації активності антиоксидантних ферментів. В деякій мірі це вплинуло на стан сперматогенного епітелію, однак не змінило кількість каналців в стадії дозрівання, мало впливало на кількість мертвих і патологічних форм сперматозоїдів. α -токоферолу ацетат стимулював поділ статевих клітин, але не вплинув на якість сперміїв.

Введення комплексу антиоксидантів на фоні токсичного впливу клопіраліду сприяло не тільки значному зниженню СРПО ліпідів в крові і тканинах сім'яників, а й нормалізації стану сперматогенного епітелію, кількісних показників сперми, нормалізації рухливості сперматозоїдів. В умовах інтоксикації комплекс антиоксидантів впливає не тільки на рівень сперматогенного епітелію, але при цьому покращує і якість сперми, сприяючи відновленню рухливості сперматозоїдів. Дослідження морфологічних змін в сім'яниках і функціональної готовності сперми показали, що на фоні інтоксикації клопіралідом найбільш значущі зміни реєструвались при корекції комплексом антиоксидантів, що підкреслює його більш виражену гонадопротективну дію, ніж у α -токоферолу ацетату.

Отримані результати в цілому свідчать про доцільність використання комплексу антиоксидантів у якості гонадопротекторів при хронічному надходженні в організм похідних піридинкарбонової кислоти.

Література

1. Bazarnova MA, Morozova VT. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po klinicheskoy laboratornoy diagnostike [Clinical Laboratory Diagnostics Practice Guide]. Kiev: Vishcha shkola; 1988. 318 p. (Russian).
2. Kaidyshev IP, Katrushev OV, Sokolenko VM, redaktory. Posibnyk eksperymentalnykh i klinichnykh doslidzhen biolohii ta medytsyny [Handbook of Experimental and Clinical Research in Biology and Medicine]. Poltava; 1997. 271 p. (Ukrainian).
3. Shish NV. Povrezhdayushchee dejstvie klopivalida na reproduktivnyuyu sistemu krysa samcov [Damaging effect of clopyralide on the reproductive system of male rats]. Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainskoi medychnoi stomatolohichnoi akademii. 2006;6 Issue 3(15):19-23. (Russian).
4. Ivanescu V. Testosterone in sera of workers exposed to acrylonitrile. Rev. Roum. Endocrinol. 1990; Vol. 28, N 3-4:187-192.
5. Zhdan V. Androgen imbalance in gouty arthritis in men with obesity. III Ogolnopolska konferencia aukowo-szkoleniowa: Genom czlowiek swiat zagrozenia. Lublin, 2016. 160p.

Реферат

ГОНАДОПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА КОМПЛЕКСА АНТИОКСИДАНТОВ НА ФОНЕ ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ГЕРБИЦИДОВ

Моисеева Н.В., Капустянская А.А., Шумейко А.Г.

Ключевые слова: антиоксиданты, гонадопротективные свойства, гербициды.

В современных условиях, когда временные экономические трудности страны обусловили снижение общей культуры земледелия, особенно актуальна проблема контроля численности сорняков сельскохозяйственных угодий. Несомненно, что и в нашей стране с укреплением экономики растет применение средств защиты культурных растений, требующих еще более пристального внимания к проблеме экологической приемлемости применения гербицидов и реабилитации почв, загрязненных остатками ядохимикатов. Общий механизм действия, повреждающего действия гербицидов различных групп это нарушение окислительно-восстановительных процессов, в частности повышение свободнорадикального перекисного окисления липидов, прежде всего, в мембранах клеток гонад, что в конечном итоге может привести к деструкции в течение всего репродуктивного периода. Кроме того, они оказывают гонадотоксическое действие, что приводит к снижению стероидогенеза, и как следствие – к нарушению сперматогенеза

Целью работы было изучение гонадопротективных свойств комплекса антиоксидантов, их влияние на показатели свободнорадикального перекисного окисления липидов, морфологические и функциональные изменения в семенниках крыс на фоне токсического воздействия гербицида клопиралида.

Введение комплекса антиоксидантов на фоне токсического воздействия клопиралида способствовало не только значительному снижению свободнорадикального перекисного окисления липидов в крови и тканях семенников, но и нормализации состояния сперматогенного эпителия, количественных показателей спермы, нормализации подвижности сперматозоидов. В условиях интоксикации комплекс антиоксидантов влияет не только на уровень сперматогенного эпителия, но при этом улучшает и качество спермы, способствуя восстановлению подвижности сперматозоидов. Исследование морфологических изменений в семенниках и функциональной готовности спермы показали, что на фоне интоксикации гербицидом наиболее значимые изменения регистрировались при коррекции комплексом антиоксидантов, подчеркивает его более выраженное гонадопротективное действие.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования комплекса антиоксидантов в качестве гонадопротекторов при хроническом поступлении в организм гербицидов.

Summary

GONADOPROTECTIVE PROPERTIES OF ANTIOXIDANT COMPLEX IN CONDITIONS CAUSED BY TOXIC EFFECTS OF HERBICIDES

Key words: antioxidants, gonadoprotective properties, herbicides.

Moisieva N.V., Kapustianska A.A., Shumeiko O.H.

Nowadays, when the nation's temporary economic difficulties have led to a decline in the agriculture share of the overall economy, the problem of controlling weeds of agricultural land is especially urgent. Undoubtedly, in our country, with the strengthening of the economy, the use of plant protection products is growing, requiring even closer attention to the problem of the environmental impact of herbicides and the rehabilitation of soils contaminated with residues of poisonous chemicals. The general mechanism of the action affecting herbicides of different groups is the violation of redox processes, and, in particular, the increase in free radical lipid peroxidation, first of all, in gonadal cell membranes that can eventually lead to the destruction throughout the reproductive period. Moreover, they produce gonadotoxic effects leading to a decrease in steroidogenesis, and as a consequence, to impaired spermatogenesis.

The aim of the study was to investigate the gonadoprotective properties of the antioxidant complex, its effect on the parameters of lipid peroxidation, morphological and functional changes in the testes of rats exposed to the toxic effect of the clopyralid herbicide.

The introduction of this complex under the conditions mentioned above contributed not only to a significant decrease in free radical lipid peroxidation in the blood and tissues of the testes, but also to normalization of the state of spermatogenic epithelium, quantitative sperm indicators, normalization of sperm motility. It has been proven the complex of antioxidants not only affects the level of spermatogenic epithelium, but also improves the quality of sperm, contributing to the restoration of sperm motility. The studies of morphological changes in the testes and the functional maturation of the sperm have shown that the most significant changes were registered during the correction with the antioxidant complex, emphasizing its more pronounced gonadoprotective effect.

The results obtained indicate the feasibility of using this antioxidant complex as gonadoprotectant in cases of chronic intoxication with herbicides.