Влияние различных антиоксидантных воздействий на уровень ДНК-повреждений и редокс-потенциал клеток сперматогенной ткани

Боровская Т.Г.¹, Вычужанина А.В.¹, Григорьева В.А.¹, Камалова С.И.¹, Кривова Н.А.², Заева О.Б.²

- Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3, РФ
- 2— Национальный исследовательский Томский государственный университет 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36, РФ

Изучено влияние мексидола, дигидрокверцитина, диборнола и пара-тирозола на количество ДНК-повреждений и редокспотенциал в клетках тестикулярной ткани крыс. Установлено, что в условиях ДНК-повреждений клеток сперматогенной ткани все исследуемые соединения, кроме мексидола, снижали в клетках число разрывов ДНК и оказывали нормализующее действие на их редокс-потенциал. Наибольшая терапевтическая активность выявлялась у дигидрокверцетина.

Ключевые слова: тестикулярная ткань, ДНК-разрывы, редокс-потенциал, антиоксиданты

Для цитирования: Боровская Т.Г., Вычужанина А.В., Григорьева В.А., Камалова С.И., Кривова Н.А., Заева О.Б. Влияние различных антиоксидантных воздействий на уровень ДНК-повреждений и редокс-потенциал клеток сперматогенной ткани. *Медицинская генетика* 2020; 19(9): 88-90. **DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.09.88-90

Автор для корреспонденции: Боровская Татьяна Геннадьевна; e-mail: repropharm@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках Госзадания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Effect of different antioxidant drug on the level of dna-damage and redox potential of cells of spermatogenous tissue

Borovskaya T.G.¹, Vychuzhanina A.V.¹, Grigoryeva V.A.¹, Kamalova S.I.¹, Krivova N.A.², Zaeva O.B²

- Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Lenin Ave. 3, Tomsk, 634028, Russia.
- 2 National Research Tomsk State University Lenin Ave. 36, Tomsk, 634050, Russia.

The effect of mexidol, dihydroquercetin, dibornol and paratyrosol on the amount of DNA damage and the redox potential in rat testicular tissue cells was studied. It was established, that all studied compounds, except mexidol, reduced the number of DNA breaks in the cells and had a normalizing effect on their redox potential under the conditions of DNA damage to spermatogenic tissue cells. The highest therapeutic activity was detected in dihydroquercetin.

Keywords: testicular tissue, DNA breaks, redox potential, antioxidants

For citation: Borovskaya T.G., Vychuzhanina A.V., Grigoryeva V.A., Kamalova S.I., Krivova N.A., Zaeva O.B. Effect of different antioxidant drug on the level of dna-damage and redox potential of cells of spermatogenous tissue. *Medical genetics*. 2020; 19(9): 88-90. (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.88-90

Corresponding author: Borovskaya Tatyana Gennadyevna, e-mail: repropharm@yandex.ru

Funding. State task.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

ричинами прерывания беременности и появления врожденных дефектов развития у потомства могут быть генетические нарушения в мужских половых клетках и, прежде всего, повышение в них фрагментации ДНК [1]. Установлено, что возрастание количества ДНК-разрывов в клетках напрямую корре-

лирует с увеличением уровня различных видов экзогенных токсических воздействий. Практически все из них инициируют образование активных форм кислорода [2], поэтому основной стратегией для предотвращения фрагментации ДНК является использование антиоксидантов. Однако их эффективность подтверждается да-

леко не всегда, что может быть связано с неодинаковой чувствительностью клеток различных тканей к их действию. В связи с этим актуальным является сопоставление терапевтического эффекта антиоксидантов с их способностью воздействовать на анти-прооксидантный баланс мужских половых клеток.

Целью настоящего исследования явилась экспериментальная оценка фрагментации ДНК в клетках тестикулярной ткани и редокс-потенциала на фоне введения различных видов антиоксидантного воздействия.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Вистар (возраст 4 мес, массой 200-250 г, n=30). Оценка влияния различных видов антиоксидантных воздействий проводилась на модели фрагментации ДНК, вызванной однократным внутривенным введением паклитаксела (митотакс, Dr. Reddy's, Индия) в максимально переносимой дозе. В качестве антиоксидантов использовали препараты мексидол (ФАРМА-СОФТ, НПК Россия), дигидрокверцетин (ООО «Флавир», Россия), а также новые лекарственные средства, создаваемые на базе НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга пара-тирозол и диборнол. Животные были распределены на 6 групп (n=5 в каждой группе). Первая группа представляла собой интактных животных (фон), вторая — крыс, получавших паклитаксел (контроль). Животные экспериментальных групп получали паклитаксел с каждым из исследуемых препаратов. Срок исследования (3 мес после введения генотоксиканта) выбран с учетом возможности изучения влияния лекарственных средств на длительно сохраняющиеся (нерепарируемые с течением времени) генотоксические эффекты. ДНКповреждения в клетках тестикулярной ткани оценивали методом гель-электрофореза в щелочной версии [4]. Анти-/прооксидантную активность гомогенатов тестикулярной ткани определяли методом хемилюминесценции с помощью кюветного биолюминометра Lumat LB9507 (Berthold Technologies, Германия). Анти-/прооксидантный статус тканевых гомогенатов вычисляли как отношение величины светосуммы антиоксидантной активности (Sm AOA) к светосумме прооксидантной активности (Sm ПРО). Количественную величину анти/прооксидантной активности выражали в (RLU/мл)/сек. Результаты исследований обрабатывались статистически с помощью критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Результаты

Количество ДНК-повреждений после введения паклитаксела возрастало в 2 раза по сравнению

с фоновыми значениями и составляло $2,42\pm0,67$ (фон $1,20\pm0,18$; $p\leqslant0,01$). В экспериментальных группах животных, получавших диборнол, пара-тирозол, дигидрокверцетин, этот показатель составил соответственно $1,38\pm0,11$, $1,54\pm0,38$ и $0,80\pm0,14$. На фоне введения диборнола и пара-тирозола он достигал фоновых значений ($p\geqslant0,05$). При использовании дигидрокверцетина %ДНК в хвосте был статистически значимо ниже, чем у интактных животных (фон) ($p\leqslant0,01$), что позволяет говорить о его более высокой эффективности. В группе животных, которым вводили мексидол, количество ДНК-повреждений составило $1,42\pm0,7$, но различия с контролем (паклитаксел) из-за большого разброса экспериментальных данных оказались статистически не значимыми ($p\geqslant0,05$).

Клетки тестикулярной ткани крыс, получавших паклитаксел, характеризовались повышенным (в 1,6 раза) уровнем свободных радикалов, который составил 9.47 ± 1.23 (у интактных животных -5.78 ± 0.44 ; р≤0,01), сниженным (в 4.5 раза) уровнем антиоксидантной защиты -0.48 ± 0.14 , (у интактных животных $-2,13\pm0,69$; р≤0,001). Редокс-потенциал падал в 6,7 раз (p \leq 0,01) с 0,40 \pm 0,14 (фон) до 0,06 \pm 0,02 (контроль). Уровень хемолюминисценции в клетках тестикулярной ткани почти во всех экспериментальных группах статистически значимо снижался в 1,4-2,3 раза. Уровень антиоксидантной активности в клетках семенников крыс, получавших мексидол, не возрастал по сравнению с контролем. В экспериментальных группах животных, которым вводили дигидрокверцетин и диборнол этот показатель увеличивался по сравнению с контролем в 2,8 и 3,8 раз, соответственно (р≤0,01). Наиболее существенное возрастание (в 7,8 раз, р≤0,01) наблюдалось на фоне введения пара-тирозола. Редокс-потенциал при использовании мексидола оставался на прежнем уровне и составил 0.05 ± 0.12 (в контроле 0.06 ± 0.02). В остальных экспериментальных группах он увеличивался и статистически значимо не отличался от такового у интактных животных (фон). Существенное его возрастание (до 0,93±0,14, p≤0,01) выявлялось в группе животных, получавших пара-тирозол. Наиболее близкие к фону значения редокс-потенциала наблюдались в группе крыс, которым вводили дигидрокверцетин.

Таким образом, в модели ДНК-повреждений тестикулярной ткани, вызванных введением паклитаксела, дигидрокверцетин, пара-тирозол и диборнол снижают количество ДНК-разрывов. Фармакологическая активность мексидола в данной модели не выявлена. Эффективность антиоксидантов сопровождается нормализацией редокс-потенциала клеток тестикулярной ткани. Мексидол не оказывает влияния на окислитель-

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

но-восстановительный потенциал клеток сперматогенной ткани. Наиболее выраженная ДНК-протективная активность выявляется у дигидрокверцетина.

Литература

- Zeqiraj A., Beadini S., Beadini N., et al. Male Infertility and Sperm DNA Fragmentation. Open Access Maced J Med Sci. 2018;6(8):1342– 1345
- 2. Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M. et al. Oxidative stress and male infertility. Nat Rev Urol, 2017;14:470–485.
- 3. Ефремов, Е.А., Касатонова Е.В., Мельник Я.И. Антиоксидантная терапия мужского бесплодия как возможность улучшить исходы вспомогательных репродуктивных технологий. Эффективная фармакотерапия. Урология и нефрология 2017; (22): 32–43.
- Белицкий Г.А., Дурнев А.Д., Ревазова Ю.А., Меркулов В.А. и др. Методические рекомендации по оценке канцерогенности лекарственных средств и вспомогательных веществ в краткосрочных тестах. В кн.: Миронов А.Н., редактор, Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и K, 2013.С. 129-161.

References

- Zeqiraj A., Beadini S., Beadini N., et al. Male Infertility and Sperm DNA Fragmentation. Open Access Maced J Med Sci. 2018;6(8):1342– 1245
- 2. Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M. et al. Oxidative stress and male infertility. Nat Rev Urol, 2017;14:470–485.
- Efremov E.A., Kasatonova E.V., Melnik Y.I. Antioksidantnaya terapiya muzhskogo besplodiya kak vozmozhnost' uluchshit' iskhody vspomogatel'nykh reproduktivnykh tekhnologiy. [Antioxidant therapy for male infertility as an opportunity to improve outcomes of assisted reproductive technologies]. Effektivnaya farmakoterapiya. Urologiya i nefrologiya [Effective pharmacotherapy. Urology and Nephrology] 2017; (22): 32–43. (In Russ.)
- 4. Belitsky G.A., Durnev A.D., Revazova Yu.A., Merkulov V.A.et al. Metodicheskiye rekomendatsii po otsenke kantserogennosti lekarstvennykh sredstv i vspomogatel'nykh veshchestv v kratkosrochnykh testakh. [Methodical recommendations for for assessing the carcinogenicity of drugs and excipients in short-term tests]. V kn.: Mironov AN, redaktor, Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. M.: Grif i K [In the book: Mironov AN, editor, Guidelines for preclinical studies of drugs. M.: Grif & K] 2013:80-93. (In Russ.)