

УДК: 612.616+591.463.12+577.1:61

Чистякова Е. Є., Смоленко Н. П., Белкіна І. О., Кореньєва Є. М., Карпенко Н. О.

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ГАДОЛІНІЙ ОРТОВАНАДАТУ У РІЗНИХ ДОЗАХ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ САМЦІВ ЩУРІВ

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

(м. Харків)

chistelina@i.ua

Робота виконана згідно планової НДР «Експериментальне дослідження статевих особливостей впливу наночастинок рідкісноземельних металів на репродуктивну функцію (експериментальне дослідження)», № державної реєстрації 0115U001033.

Вступ. На сьогодні одним з найперспективніших напрямів науки є створення принципово нових матеріалів у вигляді наночастинок (НЧ) з розміром до 100 нм та впровадження їх у медицину та фармацію [14]. Модифікація фізико-хімічних властивостей НЧ змінює біологічну активність сполук та їхню біодоступність, що дає перспективу для створення нових лікарських засобів. На теперішній час відомо понад 2000 видів НЧ, але жодна з них достеменно не досліджена [9,10]. Серйозна проблема потенційного ризику НЧ висуває на перший план оцінку ризику для здоров'я, особливо репродуктивного [15]. Кількість повідомлень про токсичну дію НЧ все зростає. Так, після системного введення вони розповсюджуються в усі органи, деякі з них здатні проникати через гемато-тестикулярний бар'єр [16].

Метою роботи було визначення впливу НЧ гадоліній ортованадату, активованого європием ($GdVO_4:Eu^{3+}$), у різних дозах на репродуктивну функцію інтактних самців щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Вивчали гонадотоксичну дію НЧ гадоліній ортованадату на репродуктивну функцію 6-міс. самців щурів популяції Вістар згідно стандартної методики [1]. Тварини впродовж 70 діб натще отримували НЧ (лікарська форма) аліментарним шляхом у трьох дозах: 0,3 мг/кг (група НЧ-0,3), 0,03 мг/кг (група НЧ-0,03) та 3,0 мг/кг (група НЧ-3,0). Контролем слугували інтактні щури (група Контроль) та самці, які отримували за аналогічних умов референтний препарат трибестан у дозі 0,58 мг/кг маси тіла (група Трибестан). Дозу НЧ або трибестану контролювали щонеділі відповідно до маси щура. Наприкінці експерименту оцінювали репродуктивну функцію самців за показниками статевих поведінки, спермограми та фертильності.

Статеву поведінку самців досліджували 15 хв. у присмерковий час у парному тесті з оварієктомованою рецептивною самкою. Визначали кількість садок, інтромісій та еякуляцій та вимірювали їх часові характеристики за допомогою секундоміра.

Фертильність самців визначали за результатами парування з інтактними самками. Першим днем вагітності вважали день знаходження сперматозоїдів у ранкових вагінальних мазках. Розраховували індекс запліднення (відношення кількості запліднених самок до кількості самок у групі) та індекс вагітності (відношення кількості вагітних самок до кількості

запліднених). Самок знеживлювали на 20-у добу вагітності та підраховували внутрішньоутробні втрати згідно методики [2]. За результатами парування розраховували інтегральний показник середньої реалізованої фертильності самців щурів [8].

Стан сперматогенезу досліджували визначаючи концентрацію епідидимальних спермій, їх рухливість та відсоток патологічних форм (на 200 клітин) за загальноприйнятою методикою [1].

Щури утримувалися у стандартних умовах виварію при природному освітленні, раціоні та питному режимі *ad libitum*, рекомендованому для даного виду тварин [6]. Дослідження проводилися відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які узгоджуються з положеннями Європейської конвенції [5].

Статистичний аналіз результатів проводився за допомогою пакету програм Excel 2003 та Statistika 6.0. Перевірка нульової гіпотези про відсутність різниці між групами проводилась із застосуванням критеріїв Q Данна та χ^2 [4]. Розбіжності між даними вважались статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз показників статевої поведінки показав, що спарювальна активність самців, які отримували НЧ, знижувалась відносно даних Контролю (**рис. 1**). При цьому гальмуюча дія НЧ зменшувалась зі збільшенням дози. Так, процес спарювання у групі НЧ-0,03 були спроможні почати лише 25% самців, у групах НЧ-0,3 та НЧ-3,0 кількість тварин зростала до 62,5% ($p < 0,05$; проти 100% у контролі).

З них завершального етапу статевих актів – еякуляції – досягали значно менша кількість тварин. Отримані дані свідчать, про можливий вплив НЧ на гонадотропну активність гіпофізу та, можливо, на синтез та/або секрецію пролактину. Адже відомо, що останній блокує перетворення тестостерону в дигідротестостерон, недостатність якого, в свою чергу, призводить до пригнічення елементів копуляції [3].

При аналізі показників статевої поведінки самців групи Трибестан також спостерігали певні зміни. Так, при стовідсотковій спарювальній активності кількість самців, які були спроможні еякулювати, складала 50% ($p < 0,05$; проти 86% у контролі). Ймовірно, отриманий ефект препарату трибестан та НЧ пояснюється механізмом зворотного зв'язку, що призводить до пригнічення власної сексуальної функції, адже у досліді були використані інтактні статевозрілі та сексуально активні щури, яким корекція була не потрібна [7].

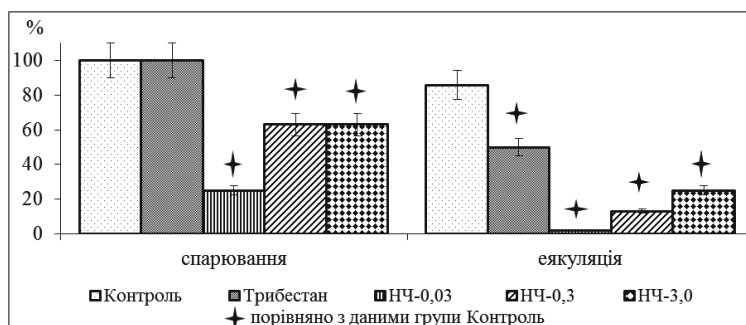


Рис. 1. Показники статевої поведінки самців щурів.

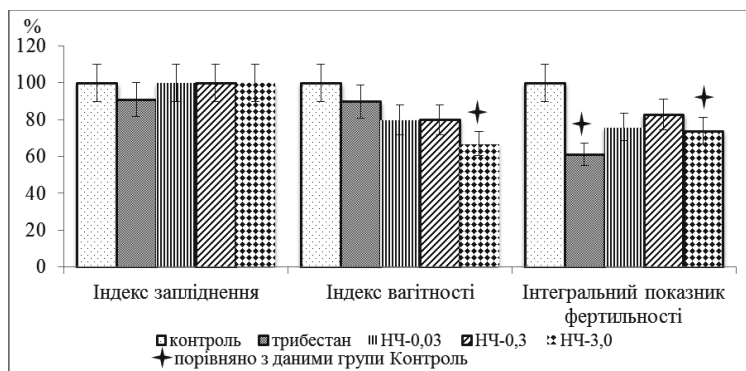


Рис. 2. Показники фертильності самців щурів.

Показники спермограми, $\bar{x} \pm S_x$

Показник	Контроль n=7	Трибестан n=8	НЧ-0,03 n=8	НЧ-0,3 n=8	НЧ-3,0 n=8
Концентрація, млн./мл	24,0±1,9	20,0±2,4	29,5±3,7	12,6±1,2*	17,1±3,4
Рухливі, %	71,6±5,6	64,8±4,4	68,4±5,0	46,5±3,5*	64,5±6,0
Патологічні форми, %	7,0±1,6	9,4±0,8	10,4±1,7	14,0±1,1*	11,3±2,0

Примітка. *Статистично значущі розбіжності з даними групи Контроль.

Пригнічення статевої активності не відобразилося на запліднювальній здібності піддослідних самців, при паруванні яких з інтактними самками спостерігали високий відсоток запліднених тварин (рис. 2). Але кількість вагітних самок по групах дещо зменшилась: індекс вагітності у групах НЧ-0,03 та НЧ-0,3 складав 80%, у групі НЧ-3,0 – 67% (проти 100% у контролі; $p < 0,05$). При цьому перебіг вагітності не порушувався, про що свідчать нормальні показники

внутрішньоутробних втрат в усіх піддослідних групах.

Інтегральний показник плідності, який відображає репродуктивний потенціал самців, знижувався у групах НЧ-3,0 та Трибестан (на 26% та 39%, відповідно; $p < 0,05$) порівняно з контролем, що відбувалось переважно за рахунок зменшення кількості вагітних самок або кількості плодів.

Аналіз спермограми щурів виявив статистично значуще зниження концентрації та рухливості сперматозоїдів у самців групи НЧ-0,3 на тлі підвищення кількості патологічних форм порівняно з контролем (табл.).

В інших піддослідних групах показники спермограми статистично значуще не відрізнялися ні від контролю, ні між собою. Можливо, така дія НЧ у дозі 0,3 мг/кг подібна дії тестостерон пропіонату, який за механізмом зворотного зв'язку викликає зниження параметрів спермограми у інтактних тварин із нормальним статевим статусом [11,12]. Тоді як у старіючих інтактних самців щурів на тлі згасання репродуктивної функції НЧ у дозі 0,3 мг/кг м. т. призводить до стимуляції сперматогенезу [13].

Таким чином, вплив наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ за умов хронічного надходження залежить від використаної дози сполуки.

Висновки

1. Хронічне використання наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ призводить до зниження копулятивної активності самців щурів.

2. Застосування наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ у дозі 0,3 мг/кг призводить до пригнічення сперматогенної функції сім'яників у самців щурів.

3. Наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ у найбільшій використаній дозі (3,0 мг/кг) порушують нормальний перебіг вагітності інтактних самок, внаслідок чого знижується репродуктивний потенціал самців.

Перспективи подальших досліджень. Подальше визначення ефективності наночастинок $GdVO_4:Eu^{3+}$ може бути науковим підґрунтям для розробки інноваційних лікарських засобів для корекції чоловічих репродуктивних розладів з широким спектром дії.

Література

- Barilyak I.R. Vivchennya gonadotoksichnoi dii novikh likars'kikh zasobiv ta ikh vplivu na reproduktivnu funktsiyu tvarin / I.R. Barilyak, L.V. Neumerzhits'ka, T.F. Bishovets' [ta in.] // Doklinichni doslidzhennya likars'kikh zasobiv: metodichni rekomendatsii / za red. O.V. Stefanova. – K.: Avitsena, 2001. – S. 139-152.
- Bishovets' T.F. Eksperimental'ne vivchennya embriotoksichnoi dii likars'kikh zasobiv / T.F. Bishovets', V.S. Danilenko, A.V. Matvienko [ta in.] // Doklinichni doslidzhennya likars'kikh zasobiv: metodichni rekomendatsii / za red. O.V. Stefanova. – K.: Avitsena, 2001. – S. 115-138.
- Gladkova A.I. Andrologicheskiye proyavleniya stressa / A.I. Gladkova // pod red. Yu.I. Karachentseva, N.A. Kravchun. – Kh.: S.A.M., 2013. – 268 s.
- Glants S.A. Mediko-biologicheskaya statistika / S.A. Glants. – M.: Praktika, 1998. – 459 s.

5. Zagal'ni etichni printsipi eksperimentiv na tvarinakh // Endokrinologiya. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142-145.
6. Zapadnyuk I.P. Laboratornyye zhyvotnyye. Razvedeniye, soderzhaniye, ispol'zovaniye v eksperimente / I.P. Zapadnyuk. – K.: Vishcha shkola, 1983. – 383 s.
7. Koreneva E.M. Vpliv nanochastinok ortovanadatu gadoliniiu ta dioksidu tseriyu na spermogramu doroslykh samtsiv shchuriv iz neonatal'no indukovanymi rozladami reproduktsionoi funktsii / E.M. Koreneva, N.O. Karpenko, N.P. Smolenko [ta in.] // Probl. endokrin. patologii. – 2016. – № 1. – С. 48-56.
8. Pat. Sposib otsinki zmin plidnosti samtsiv laboratornykh tvarin pid diyeyu ushkozhuuyuchikh chinnikov / N.O. Karpenko, V.V. Tal'ko, S.T. Omel'chuk, S.S. Lapta (UA); – № U 201101278 ; zayavl. 04.02.11 ; opubl. 25.08.11, Byul. № 16. – 4 s.
9. Prodanchuk N.G. Nanotoksikologiya: Sostoyaniye i perspektivy issledovaniy / N.G. Prodanchuk, G.M. Balan // Sovremennyye problemy toksikologii. – 2009. – № 3-4. – С. 4-19.
10. Prodanchuk N.G. Problemni pitannya nanotoksikologii / N.G. Prodanchuk, L.I. Vlasik, S.E. Deyneka [ta in.] // Suchasni problemi toksikologii. – 2011. – № 5. – С. 40-41.
11. Testosteron [Elektronniy resurs]. – Rezhim dostupu: <http://compendium.com.ua/akt/84/2777/testosteronum.html>.
12. Testosteron-propionat [Elektronniy resurs]. – Rezhim dostupu: <http://www.medical-enc.ru/18/testosteronum-propionikum.html>.
13. Tribestan – fitoregulyator raboty endokrinnoy sistemy organizma. Opyt primeneniya / pod red. M.Ye. Chalogo, O.N. Sepp, S.V. Larina [i dr.]. – M.: 2006. – 50 s.
14. Chekman I.S. Fiziologichni ta farmakologichni vlastivosti nanorozmirnikh struktur / I.S. Chekman // Fiziol. zhurn. – 2015. – Т. 61, № 6. – С. 129-137.
15. Greco F. Toxicity of nanoparticles on reproduction / F. Greco [et al.] // Gynecol. Obstet. Fertil. – 2015. – Vol. 43, № 1. – P. 49-55.
16. Moretti E. In vitro effect of gold and silver nanoparticles on humanspermatozoa / E. Moretti [et al.] // Andrologia. – 2013. – Vol. 45, № 6. – P. 392-396.

УДК 612.616+591.463.12+577.1:61

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ГАДОЛІНІЙ ОРТОВАНАДАТУ У РІЗНИХ ДОЗАХ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ САМЦІВ ЩУРІВ

Чистякова Е. Є., Смоленко Н. П., Белкіна І. О., Коренева Є. М., Карпенко Н. О.

Резюме. Досліджено вплив наночастинок гадоліній ортованадату ($GdVO_4 \cdot 3H_2O$) на репродуктивну функцію інтактних самців щурів у трьох дозах (0,03, 0,3 та 3,0 мг/кг м. т.). Виявлено, що використання наночастинок протягом 70 днів призводить до негативного впливу на центральні механізми статевої поведінки і, як наслідок, до зниження копулятивної активності. Застосування наночастинок у дозі 0,3 мг/кг призводить до пригнічення генеративної функції сім'яників, що виявляється в зниженні концентрації та рухливості сперматозоїдів на тлі підвищення патологічних форм. Збільшення дози у 10 разів призводить до порушення нормального перебігу вагітності інтактних самок, внаслідок чого знижується репродуктивний потенціал самців.

Ключові слова: наночастинок гадоліній ортованадату, самці щурів, статеву поведінку, спермограма, фертильність.

УДК 612.616+591.463.12+577.1:61

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ГАДОЛИНИЙ ОРТОВАНАДАТА В РАЗНЫХ ДОЗАХ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ САМЦОВ КРЫС

Чистякова Э. Е., Смоленко Н. П., Белкина И. О., Коренева Е. М., Карпенко Н. А.

Резюме. Исследовано влияние наночастиц ортованадата гадолиния ($GdVO_4 \cdot 3H_2O$) на репродуктивную функцию интактных самцов крыс в трех дозах (0,03, 0,3 и 3,0 мг/кг м. т.). Обнаружено, что введение наночастиц на протяжении 70 дней приводит к негативному влиянию на центральные механизмы полового поведения и, как следствие, к снижению копулятивной активности. Применение наночастиц в дозе 0,3 мг/кг приводит к угнетению генеративной функции семенников, что проявляется в снижении концентрации и подвижности сперматозоидов на фоне повышения патологических форм. Увеличение дозы в 10 раз приводит к нарушению нормального протекания беременности интактных самок, вследствие чего снижается репродуктивный потенциал самцов.

Ключевые слова: наночастицы ортованадата гадолиния, самцы крыс, половое поведение, спермограмма, фертильность.

UDC 612.616+591.463.12+577.1:61

EFFECT OF THE DIFFERENT DOSES OF NANOPARTICLES GADOLINIUM ORTOVANADAT ON THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF MALE RATS

Chistyakova E. Ye., Smolenko N. P., Belkina I. O., Korenyeva Ye. M., Karpenko N. O.

Abstract. The effect of gadolinium ortovanadat nanoparticles ($GdVO_4 \cdot 3H_2O$) on reproductive function intact male rats in three doses (0,03, 0,3 and 3,0 mg/kg body weight). Animals within 70 days of fasting gadolinium ortovanadat nanoparticles (NP) received three doses: 0,3 mg/kg (group NP-0,3), 0,03 mg/kg (group NP-0,03) and 3,0 mg/kg (group NP-3,0). Control rats were used as intact (Control group) and males treated under similar conditions trybestan reference drug at a dose of 0,58 mg/kg (group Trybestan). At the end of the experiment was evaluated on male reproductive function parameters of sexual behavior, semen and fertility.

Results. Analysis of sexual behavior showed that male sexual activity increased with increasing doses of NP. Thus, the process of pairing group NP-0,03 were able to start only 25% of males ($p < 0,05$, vs. 100% in control) groups NP-0,3 and NP-3,0 quantity of animals increased to 62,5% ($p < 0,05$, vs. 100% in control). A similar picture, but more expressive, observed the registration final stage of sex – ejaculation. The data may be indicative of the possible impact of NP the synthesis and/or secretion of prolactin. It is known that the latter blocks the conversion of testosterone to dihydrotestosterone, the lack of which, in turn, leads to suppression elements copulation. Sexual behavior of male group Trybestan not been any significant alteration. Perhaps the lack of stimulating action of the drug due to the use of experiments in young and mature sexually active rats, which correction was not necessary, it is known that trybestan nonhormonal drug is a drug that improves libido and quality of erections in men.

Inhibition of sexual behavior is not reflected in the ability fertility male subjects, while pairing them with intact females observed a high percentage of fertilized animals.

Number of pregnant females in groups decreased slightly but statistically significantly different data groups NP-3,0 (67% vs. 100% control, $p < 0,05$). Integral fertility rate, which reflects the reproductive capacity of males decreased in groups NP-3,0 and Trybestan (26% and 39%, respectively; $p < 0,05$) compared with controls. In terms of fetal loss no statistically significant differences from control group data.

Analysis of semen rats showed statistically significant reduction in sperm concentration and motility in male group NP-0,3 against the backdrop of increasing the number of pathological forms compared with the control.

In other experimental groups semen parameters did not differ statistically significantly from either control or another. Perhaps this action NP in a therapeutic dose of 0,3 mg/kg of testosterone propionate similar action that the mechanism of feedback causes a decrease in semen parameters intact animals with normal sexual status.

Conclusions. Chronic use of nanoparticles GdVO₄: E³⁺ negative influence on central mechanisms of sexual behavior and, as a result, reduce copulative activity. The use of nanoparticles GdVO₄: E³⁺ at a dose of 0,3 mg/kg results in inhibition of generative function of the testes, shown to reduce sperm motility and concentration against a background of increasing pathological forms. Nanoparticles GdVO₄: E³⁺ at a dose of 3,0 mg/kg violate the normal course of pregnancy intact females and lower reproductive capacity of males.

Keywords: ortovanadat gadolinium nanoparticles, male rat, sexual behavior, spermogram, fertility.

Рецензент — проф. Дубінін С. І.

Стаття надійшла 17.05.2017 року