

© ЗАХАРЕНКО А.Г., СТЕПАНОВ А.В., 2003

## ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ДНК ГЕНЕРАТИВНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТРОНИДАЗОЛА И ДОКСИЦИКЛИНА

ЗАХАРЕНКО А.Г.\*, СТЕПАНОВ А.В.\*\*

*Витебский государственный медицинский университет\*,  
кафедра общей и клинической фармакологии с курсом повышения квалификации специалистов  
Витебский государственный университет\*\*, кафедра анатомии, физиологии и валеологии*

**Резюме.** В связи с большой актуальностью проблемы бесплодия было проведено исследование показателей хроматингетерогенного теста генеративных мужских клеток лиц, получавших лечение метронидазолом и доксициклином в средних терапевтических дозах. Используемый тест основан на свойстве флюорохром-акридин-оранжевого красителя давать зеленое свечение при связывании с нормальной ДНК, тогда как контакт с денатурированной ДНК проявляется желто-оранжево-красным свечением.

Анализ полученных исследований показал, что метронидазол не вызывает значительного токсического эффекта, проявляемого в виде денатурации ДНК в генеративных клетках при средних дозах введения. Нормализация числа спермиев наблюдалась через две недели после отмены этого препарата. Одновременно доксициклин характеризовался высоким уровнем токсического действия на половые клетки ( $p < 0,05$ ) и сохранялся более двух недель после прекращения его приема.

**Ключевые слова:** метронидазол, доксициклин, хроматингетерогенный тест, генеративные клетки.

**Abstract.** The problem of infertility is very actual. The results of chromatinheterogenous test of sperm of people taking metronidazole and doxycycline in average therapeutic doses were studied. This method is based on fluorochrome-acridine-orange dye-stuff properties to make yellow-orange-red fluorescence during its contact with denatured DNA and green one with normal DNA.

The obtained results allow us to conclude that metronidazole doesn't produce marked DNA denaturation and the sperm cells count restoration was observed 2 weeks later. Doxycycline is characterized by the high level of toxic action and its effect remained for more than 2 weeks after the intake of it had been stopped.

Проблема бесплодия является крайне актуальной в настоящее время. Его причиной могут быть разнообразные вредные факторы окружающей среды, способные воздействовать на генеративные клетки организма человека. Токсическим влиянием на организм характеризуются многие химические соединения, среди которых определенное место занимают лекарственные препараты [1]. В связи с тем, что вопросы побочного эффекта многих фармакологических средств на половые клетки изучен недостаточно [5], представляет интерес проведе-

ние целевого исследования ряда лекарственных препаратов на токсическую активность по отношению к генеративным клеткам. Особый интерес в этом отношении представляют препараты, используемые для лечения мочеполовых путей. Одним из таких препаратов, обладающих широким спектром действия в отношении патогенных простейших, является метронидазол [2]. При рассмотрении случаев устойчивости некоторых простейших к метронидазолу установлено, что это связано с токсическим действием препарата на клетки хозяина, проявляющимся мутагенным эффектом в виде хромосомных перестроек и изменений повторяемости фрагментов ДНК [6]. Другим, широко используемым препаратом, является доксицикли-

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра общей и клинической фармакологии с курсом ФПКС - Захаренко А.Г.

на гидрохлорид, полусинтетический производный окситетрациклина, имеющий широкий спектр антимикробного действия [3].

Целью работы было изучение показателей хроматингетерогенного теста на семенной жидкости лиц, применяющих метронидазол и доксициклин в средних терапевтических дозах.

### Методы

Для исследования состояния ДНК сперматозоидов человека был использован хроматингетерогенный тест [4]. Этот метод основан на свойствах флюорохром-акридин-оранжевого красителя давать зеленое свечение в состоянии, связанном с натуральной и нормальной ДНК. При контакте с денатурированной ДНК выявляется желто-оранжево-красное свечение. Этот тест позволяет визуально охарактеризовать состояние мужских половых клеток. Показано, что аномально высокий процент (более 30%) денатурированных головок спермиев сочетается с пониженной способностью к оплодотворению [4]. Высокий процент спермиев, дающих зеленое свечение, свидетельствует о высокой биологической продуктивности половых клеток.

Свежеполученную сперму в количестве 1 мл смешивали с 3 мл стерильного раствора Тироде (хлорид натрия, хлорид калия, хлорид кальция, хлорид магния и фосфат натрия) с последующим центрифугированием в течение 5 минут при 1300 оборотах. Надосадочная жидкость сливалась, добавлялся раствор Тироде (3 мл), и центрифугирование повторялось. После удаления надосадочной жидкости делались толстые мазки из осадка на предметных стеклах, с последующим их высушиванием на воздухе (в течение 20 минут). Полученные препараты фиксировали в жидкости Карнуа (этиловый спирт, хлороформ и ледяная уксусная кислота в соотношениях 6:3:1) на протяжении 2 часов. На зафиксированные препараты наносили 2-3 мл акридинового-оранжевого и выдерживали 5 минут. Полученные препараты промывали дистиллированной водой, накрывали покровным стеклом и рассматривали под микроскопом.

В качестве испытуемых были лица (20 человек), принимающие по показаниям метронидазол и доксициклин (язвенная болезнь же-

лудка и двенадцатиперстной кишки, большие лямблиозом и трихомониазом, а также имеющие простудные заболевания). Группу интактного контроля составляли лица, проходившие анонимное обследование на биологическую продуктивность спермиев, не предъявляющие жалоб и объективно здоровые (10 человек). Суточная доза метронидазола составляла 1,5 г., а доксициклина - 0,2 г. Тест проводился до назначения препаратов, на 5, 10 дни приема и через две недели после проведенного лечения.

Все полученные данные были обработаны статистически на компьютере Pentium 150 с использованием программы Excel 7.0.

### Результаты

Анализ данных хроматингетерогенного теста семенной жидкости показал, что средний показатель у лиц из группы интактного контроля (здоровых обследуемых) по содержанию дефектных спермиев составлял  $21,8 \pm 3,5\%$ . Больные с указанной патологией имели средний уровень генеративных клеток с денатурированной ДНК до начала терапии, равный  $32,7 \pm 5,7\%$ , при этом у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки он составлял  $25,4 \pm 2,5\%$ , лямблиозом -  $32,5 \pm 5,4\%$ , трихомониазом -  $40,6 \pm 4,3\%$  и простудными заболеваниями верхних дыхательных путей -  $28,3 \pm 1,6\%$ .

К 5 дню проводимой терапии показатель спермиев с денатурированной ДНК у лиц, принимающих только метронидазол (больные лямблиозом и некоторые - трихомониазом), составлял  $28,4 \pm 2,3\%$  и сочетание метронидазола и доксициклина -  $64,7 \pm 8,4\%$ , а больные, принимающие только доксициклин, -  $63,4 \pm 6,5\%$ .

На 10 день после начала приема препаратов процент деградированных спермиев у больных язвенной болезнью, принимавших метронидазол, был равен  $31,3 \pm 5,5\%$ , а метронидазол с доксициклином -  $80,4 \pm 7,2\%$ . Лица, страдающие лямблиозом и принимающие метронидазол, имели уровень дефектных спермиев, равный  $40,5 \pm 3,5\%$ , а больные трихомониазом -  $45,5 \pm 6,2\%$ .

Через две недели после завершения терапии показатель половых клеток с денатурированной ДНК составлял у лиц, принимавших

только метронидазол, 28,5±3,2%, а сочетание метронидазола и доксициклина - 42,5±4,6%. Лица, лечившиеся только доксициклином, имели уровень дефектных спермиев, равный 54,9±6,3%.

### Обсуждение

Полученные данные позволяют заключить, что метронидазол не вызывает значительного токсического эффекта, проявляемого в виде поражения (денатурации) ДНК в генеративных клетках при средних дозах введения. Нормализация числа спермиев наблюдается через две недели после отмены этого препарата. Одновременно доксициклин характеризуется высоким уровнем токсического действия ( $p < 0,05$ ), эффект от которого сохраняется и через две недели после прекращения его приема.

### Выводы

1. Метронидазол в средних терапевтических дозах не вызывает токсического эффекта в мужских генеративных клетках человека.

2. Нормализация числа спермиев при ис-

пользовании метронидазола происходит через две недели после прекращения введения препарата.

3. Доксициклин обладает ярко выраженным токсическим эффектом в отношении спермиев человека.

### Литература

1. Бочков Н.П., Шрамм Р.Я., Кулешов Н.П. Система оценки химических веществ на мутагенность для человека: Общие принципы, практические реализации и дальнейшие разработки // Генетика, 1975. -N10. -С.157-168.
2. Кириллов В.М., Степанов А.В. Изучение сочетанного влияния терапии метронидазолом и феназепамом на показатели микроядерного теста при экспериментальном лямблиозе // Сб. науч. тр.: Теоретические и практические аспекты медицины. - Витебск, 1998. -С.151-153.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. -М.: Медицина, 1984. -с.343-345.
4. Сексология и андрология. / Под ред. А.Ф.Возианова и И.И.Горпинченко. - Киев: Абрис., 1997. -С.713-714.
5. Середенин С.Б., Дурнев А.Д. Фармакологическая защита генома. -М.: ВИНТИ, 1992. -162 с.
6. Upcroft J.A., Upcroft P., Boreham P.F.L. Drug resistance in *Giardia intestinalis* // Int. J. Parasitol., 1990. -20. - N4. -P.489-496.

Поступила 03.10.2001 г.  
Принята в печать 10.01.2003 г.