

4. Barone M.A. Aprospective study of time and number of ejaculations to azoospermia after vasectomy by ligation and excision / M.A.Barone, H.Nazerali, M.Cortes // j.Urology. - 2003. - Vol.170. - R.376-379.
5. Labrescque M. Association between the lenth of the vas deferens excised during vasectomy and the risk of postvasectomy recanalization / M. Labrescque, D. Hoang, G. Turcot // Fertil. Steril. - 2003. - Vol.79. - R. 1003-1007.
6. Naldar N. How reliable is vasectomy. Long- term follow-up of vasectomited men / N. Haldar, D. Granston, E. Turner // Lancet. - 2000. - Vol. 356. - R. 43-44.
7. Schill W.B. Andrology for the clinician / W.B. Schill, F.H. Comhaire, T. B. Hargreave // - Moskva. - 2011. - 793 s.
8. Weiske W.H. Vasectomy / W.H. Weiske // Andrologia. - 2002.- Vol. 33. - R. 125-134.

Реферати

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЯИЧКЕ В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ КРОВОТОКА АРТЕРИЕЙ СЕМЯВЫНОСЯЩЕГО ПРОТОКА

Лисова Т. А.

В эксперименте на крысах с применением гистологических и морфометрических методик проведено изучение и дано количественную характеристику особенностям перестройки паренхимы и стромы яичка в условиях блокады кровотока артерией семявыносящего протока. Установлено, что уже через одни сутки в яичке в части извитых семенных трубочек имеют место повреждения клеток сперматогенного эпителия, которые на 7 и 30 сутки определяются в четвертой части извитых семенных трубочек. Уменьшается объем ядер интерстициальных эндокриноцитов, нарастает количество соединительнотканых элементов, что свидетельствует о высокой чувствительности клеток сперматогенного эпителия к условиям эксперимента.

Ключевые слова: блокада кровотока артерией семявыносящего протока, яичко, сперматогенез.

Стаття надійшла 19.01.2015 р.

УДК 616-099-092.9:543.395:612.015.11

FEATURES CITOLOGICAL CHANGES IN THE TESTIS IN A BLOCKADE OF BLOOD FLOW ARTERY OF THE VAS DEFERENS

Lisova T. A.

In an experiment on rats using histological and morphometric techniques were studied and given quantitative characteristic features of the restructuring of the parenchyma and stroma in testicular artery blood flow blockade of the vas deferens. It was found that after one day in the testis of the convoluted seminiferous tubules occur cell damage seminiferous epithelium, which at 7 and 30 days are defined in Part IV of convoluted seminiferous tubules. Reduces the volume of the interstitial nuclei of endocrine, increases the number of connective elements, which indicates the high sensitivity of spermatogenic epithelium to the experimental conditions.

Key words: artery blood flow blockage of the vas deferens, testis, spermatogenesis.

Рецензент Волков К.С.

Д. І. Маракушин

Харківський національний медичний університет, м. Харків

ВПЛИВ ОКСИЕТИЛЬОВАНИХ НОНІЛФЕНОЛІВ ТА ЇХ ПОХІДНИХ НА АКТИВНІСТЬ ТІОЛДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ

Проведені дослідження щодо вивчення тривалого впливу ОЕНФ та їх похідних у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50 на активність тіолдисульфідної системи шляхом визначення вмісту тіолових груп та дисульфідних зв'язків у білках мембран еритроцитів щурів. Встановлено зниження вмісту тіолових груп у білках мембран еритроцитів на тлі підвищення вмісту дисульфідних зв'язків за умов тривалого впливу ОЕНФ та їх похідних. Виявлене порушення рівноваги у тіолдисульфідній системі у бік окислювальних еквівалентів свідчить про розгортання процесів окисної модифікації білків, перекисного окислення ліпідів на тлі зниження антиоксидантних ресурсів, неспецифічної резистентності організму експериментальних тварин за умов тривалого впливу ОЕНФ та їх похідних.

Ключові слова: оксиетильовані нонілфеноли, тіолдисульфідна система, мембрана еритроцитів.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ХНМУ «Вивчення механізмів біологічної дії простих полієфірів у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища» (№ держреєстрації 0110U001812).

В умовах постійного збільшення кількості нових хімічних речовин актуальною проблемою є їх вивчення з метою отримання інформації щодо потенційної небезпеки та розроблення профілактичних заходів, що передбачають запобігання несприятливого впливу на організм людини [1, 3, 10]. До числа високоперспективних у народногосподарському відношенні органічних хімічних речовин відносяться оксиетильовані нонілфеноли (ОЕНФ) та їх похідні - натрієві солі карбоксиметилатів оксиетильованих ізононілфенолів (КМ-ОЕНФ), які за фізико-хімічними властивостями та особливостями будови молекул відносяться до іоногенних детергентів. ОЕНФ та їх похідні характеризуються досить значними об'ємами синтезу, широким використанням (як основи промислового випуску пластмас, пінопластів, поліуретанів, миючих засобів, емульгаторів, антикорозійних препаратів, гідравлічних та охолоджуючих речовин тощо), надходженням до джерел питного водопостачання населення та завдяки цьому можливим впливом на організм людини [2, 8]. Механізми дії ОЕНФ та їх похідних на організм вивчено недостатньо, а саме їх розкриття є надійною основою для адекватної регламентації вмісту в об'єктах довкілля та

обґрунтування профілактичних заходів щодо захисту здоров'я населення. За умов інтоксикації чужорідними хімічними речовинами відбувається, як правило, порушення механізмів регулювання гомеостазу, що розглядають як «токсичний стрес» [6]. У підтримці сталості внутрішнього середовища організму при стресових ситуаціях провідну роль відіграють окисно-відновлювальні процеси, стан яких оцінюють за активністю тіолдисульфідної системи. Остання реагує на впливи внутрішнього та зовнішнього характеру зміною окисно-відновлювального потенціалу, який характеризує співвідношення концентрацій тіолових груп і дисульфідних зв'язків.

Метою роботи було вивчення тривалого впливу ОЕНФ та їх похідних у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50 на активність тіолдисульфідної системи шляхом визначення вмісту тіолових груп та дисульфідних зв'язків у білках мембран еритроцитів щурів.

Матеріал та методи дослідження. У роботі використано зразки речовин з регламентованими фізико-хімічними характеристиками: ОЕНФ з числом оксиетильованих груп 6, 8, 12 (ОЕНФ6, 8, 12) та КМ-ОЕНФ з числом оксиетильованих груп 4, 6 (КМ-ОЕНФ4,6). Експерименти проведено на статевозрілих щурах-самцях лінії WAG, масою (180-220) г. Утримання та маніпуляції над тваринами виконувались відповідно до основних принципів у сфері біоетики. Тварин піддавали пероральній затравці за допомогою зонда водними розчинами речовин щоденно одноразово протягом 45 днів у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50. Середньолетальні дози (ДЛ50) складала для ОЕНФ6 – 4,2 г/кг; ОЕНФ8 – 5,1 г/кг; ОЕНФ12 – 3,4 г/кг; КМ-ОЕНФ4 – 6,1 г/кг; КМ-ОЕНФ6 – 2,2 г/кг маси тіла. Тваринам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води. Дослідження показників проводили через 45 днів після початку експерименту. У кожній групі було по 15 тварин. Щурів декапітували, попередньо анестезуючи тіопенталом натрію. Еритроцити відділяли від плазми центрифугуванням стабілізованої гепарином крові протягом 15 хвилин при 3000 g (кінцеве розведення гепарин – цільна кров становило 1:100). Суспензію еритроцитів декілька разів промивали охолодженим 0,89 % розчином NaCl. Мембрани еритроцитів виділяли шляхом гіпоосмотичного гемолізу з наступним осадженням при центрифугуванні 6000 об/хв. протягом 10 хвилин. Вибір саме мембран еритроцитів зумовлений тим, що їх розглядають як чутливий індикатор змін нормального перебігу фізіологічних, біохімічних та біофізичних процесів в організмі за умов дії антропогенних факторів довкілля на організм [5]. Вміст тіолових груп та дисульфідних зв'язків у білках мембран еритроцитів визначали методом прямого та зворотного амперометричного титрування [7]. Статистичний аналіз даних проводили з використанням комп'ютерного пакета прикладних програм для обробки статистичної інформації Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США). Первинне статистичне опрацювання даних починали з перевірки припущення про відповідність вибірок закону гаусівського розподілу. Кількісні ознаки, що мали нормальний розподіл, описували параметричними характеристиками - середнім значенням показника (M) та середнім квадратичним відхиленням (s); у разі відсутності нормального розподілу непараметричними - медіаною (Me) та інтерквартильним розмахом. Для порівняння двох нормальних розподілів застосовували t-критерій Стьюдента. Якщо принаймні один з розподілів не був нормальним, то для порівняння незалежних вибірок застосовували критерій Манна-Уїтні. За критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Тенденція в зміні активності тіолдисульфідної системи у мембранах еритроцитів щурів була однаковою за умов впливу всіх досліджуваних ОЕНФ та їх похідних, як у дозі 1/10 ДЛ50, так й у дозі 1/100 ДЛ50 (табл.). Отримані результати свідчили про статистично значуще ($p < 0,001$), порівняно з контролем, зниження вмісту тіолових груп на 45-ту добу спостереження. Доза 1/10 ДЛ50 при цьому виявилася більш токсичною, ніж 1/100 ДЛ50. Так, КМ-ОЕНФ6, ОЕНФ12, ОЕНФ6, ОЕНФ8 та КМ-ОЕНФ4 у дозі 1/10 ДЛ50 знижували вміст тіолових груп, по відношенню до контролю, відповідно в 2; 1,8; 1,7; 1,5 та 1,2 раза, а у дозі 1/100 ДЛ50 – в 1,8; 1,6; 1,7; 1,3 та 1,1 раза.

Таблиця

Вміст тіолових груп, дисульфідних зв'язків та їх співвідношення у білках мембран еритроцитів щурів на 45-добу впливу оксиетильованих нонілфенолів та їх похідних (нмоль/мг білка, n=15; Me [25%; 75%] або $M \pm s$)

Речовина	Доза, ДЛ50	HS-групи	S-S-зв'язки	Тіол-дисульфідний коефіцієнт (HS/-S-S)
ОЕНФ6	1/10	84,5±10,03 p<0,001	40,1±4,06 p<0,001	2,1±0,3 p<0,001
	1/100	76 [68; 89]	37,0 [28,3; 38,4]	2,8±0,58

		p<0,001	p<0,001	p<0,001
ОЕНФ8	1/10	96,1±12,17 p<0,001	35,9±7,47 p<0,001	2,6 [2,3; 3,7] p<0,001
	1/100	110 [95; 119] p<0,001	29,0 [25,0; 33,2] p=0,01	3,7±0,67 p<0,001
ОЕНФ12	1/10	76 [68; 89] p<0,001	46,1 [40,8; 55,1] p<0,001	1,6±0,34 p<0,001
	1/100	88 [80; 95] p<0,001	56,6±3,65 p<0,001	1,6±0,24 p<0,001
КМ-ОЕНФ4	1/10	115 [110; 126] p<0,001	33,3 [27,0; 36,5] p=0,001	3,7±0,63 p<0,001
	1/100	130,9±6,67 p=0,013	26,1 [20,2; 30,0] p=0,299	5,0 [4,2; 6,1] p=0,071
КМ-ОЕНФ6	1/10	69,5±9,61 p<0,001	50,8 [49,0; 57,7] p<0,001	1,3 [1,1; 1,6] p<0,001
	1/100	78,7±7,15 p<0,001	45,6±5,20 p<0,001	1,8±0,27 p<0,001
Контроль		139,8±9,01	24,2±5,58	6,0±1,37

p – рівень значущості порівняно з контролем

На тлі цих змін спостерігалось статистично значуще (окрім дії КМ-ОЕНФ4 у дозі 1/100 ДЛ50; p=0,299), порівняно з контролем, підвищення кількості дисульфідних зв'язків у білках мембран еритроцитів експериментальних тварин. Найбільш виразну дію при цьому чинили КМ-ОЕНФ6 і ОЕНФ12: збільшували (p<0,001) у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50 майже в 2 рази. Для ОЕНФ6, ОЕНФ8 і КМ-ОЕНФ4 у дозі 1/10 ДЛ50 збільшення (p<0,001) рівня -S-S-зв'язків становило відповідно в 1,7; 1,5 і 1,4 рази, а у дозі 1/100 ДЛ50 – в 1,5; 1,2 і 1,1 рази. Виявлене підвищення дисульфідних зв'язків на тлі зниження тіолових груп за умов тривалої дії досліджуваних речовин може бути однією з причин перебудови режимів життєдіяльності клітини: інтенсивності метаболізму, зміни ритмів ділення тощо [4].

Тестовим якісним показником стану окисно-відновлювальної рівноваги у тіолдисульфідній системі та взагалі адаптаційних резервів організму є тіолдисульфідний коефіцієнт (ТДК) - співвідношення концентрацій тіолових груп та дисульфідних зв'язків. Чим більше величина ТДК, тобто чим більше буферна ємність тіолдисульфідної системи, тим вище рівень резистентності організму [7]. У мембранах еритроцитів щурів, яким тривалий час перорально вводили ОЕНФ та їх похідні у дозі 1/10 ДЛ50, спостерігалось статистично значуще (p<0,013), порівняно з контролем, збільшення ТДК: найбільш виразне для КМ-ОЕНФ6 (в 4,6 рази), найменш – для КМ-ОЕНФ4 (в 1,6 рази) (табл.). При введенні тваринам речовин у дозі 1/100 ДЛ50 відзначалась така сама динаміка змін, але менш характерна: підвищення в середньому в 3,5 рази за умов дії КМ-ОЕНФ6 (p<0,005) і ОЕНФ12 (p<0,001), в 2 рази – ОЕНФ6 і ОЕНФ8 (p<0,001). Найменш токсичний серед усіх досліджуваних сполук КМ-ОЕНФ4 у дозі 1/100 ДЛ50 також викликав збільшення ТДК, але воно було статистично недостовірним (p=0,071). Виявлена тенденція до зміни ТДК дозволяє передбачати зниження неспецифічної резистентності організму експериментальних тварин за умов тривалого впливу ОЕНФ та їх похідних. Окремо слід зазначити, що тіолові сполуки вносять значний вклад у загальну буферну ємність антиоксидантної системи, яка тим вище, чим більше зміщується вліво (у бік відновлювальних еквівалентів) окисно-відновлювальна рівновага у тіолдисульфідній системі [9]. Звідси виникає можливість оцінювати стан антиоксидантної системи (і, отже, інтенсивність вільнорадикального окислення) за величиною ТДК. Спостережуване зниження ТДК за умов тривалої дії ОЕНФ та їх похідних дозволяє, таким чином, стверджувати про розвиток в організмі щурів процесів перекисного окислення ліпідів, окисної модифікації білків на тлі виснаження антиоксидантних ресурсів.

Висновки

1. На 45-ту добу перорального впливу ОЕНФ та їх похідних у дозах 1/10 і 1/100 ДЛ50 в організмі щурів виникають неспецифічні метаболічні розлади у вигляді порушення активності тіолдисульфідної системи, що підтверджується зниженням вмісту тіолових груп у білках мембран еритроцитів на тлі підвищення вмісту дисульфідних зв'язків.
2. Виявлене порушення рівноваги у тіолдисульфідній системі у бік окислювальних еквівалентів опосередковано свідчить про розгортання процесів окисної модифікації білків, перекисного окислення ліпідів на тлі зниження антиоксидантних ресурсів, неспецифічної резистентності організму експериментальних тварин за умов тривалого впливу ОЕНФ та їх похідних.

3. Зміна активності тиолдисульфідної системи є однією з патогенетичних ланок механізмів дії ОЕНФ та їх похідних, що необхідно враховувати при розробленні засобів їх корекції.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. У подальшому планується продовжити комплекс досліджень, спрямованих на обґрунтування впливу речовин на організм теплокровних тварин з метою визначення їх потенційної небезпеки та нормування.

Список літератури

1. Amanzhol I.A. Reakcija organizma na vozdejstvie vrednyh proizvod-stvennyh faktorov: ocenka professional'nogo riska / I.A. Amanzhol, Z.T. Muhametzhanova, D.S. Abitayev // – Lambert Academic Publishing, - 2013. - 116 s.
2. Burlaka V. A. Detergenti suchasnosti: tehnologija virobництва, ekologija, ekonomika vikoristannja / V.A. Burlaka, G.B. Rudenko, I.G. Grabar [ta in.] // – Zh.: ZhDTU, - 2004. – 745 s.
3. Belozeroва S. M. Osobennosti formirovanija zabolvaemosti v uslovijah industrial'nogo truda i novyh tehnologij / S. M. Belozeroва // Medicina truda i promyshlennaja jekologija. - 2011. - № 3. - S. 13-19.
4. Kalinina E. V. Uchastie tio-, peroksid- i glutaredoksinov v kletochnyh redoks-zavisimyh processah / E. V. Kalinina, N. N. Chernov, A. N. Saprin // Uspehi biologich. himii. - 2008. - T. 48. - S. 319-358.
5. Kamkin A. G. Fiziologija i molekularnaja biologija membran kletok / A. G. Kamkin, I. S. Kiseleva // – M.: Akademija, - 2008. – 592 s.
6. Postnova M. V. Fiziologicheskie mehanizmy individual'noj organizacii gomeostaza organizma / M. V. Postnova // - Volgograd: VolGU, - 2011. - 356 s.
7. Sokolovskij V. V. Tioldisul'fidnoe sootnoshenie krovi kak pokazatel' sostojanija nespecificheskoj rezistentnosti organizma / V. V. Sokolovskij // – SPb: MAPO, - 1996. – S. 15-24.
8. Cyganenko A. Ja. Nauchnye osnovy obosnovanija prognoza potencial'noj opasnosti detergentov v svjazi s reglamentaciej v vode vodoemov / A. Ja. Cyganenko, V. I. Zhukov, N. G. Shherban' [i dr.] // - Belgorod, - 2001. – 442 s.
9. Ghezzi P. Thiol-disulfide balance: from the concept of oxidative stress to that of redox regulation / P. Ghezzi, V. Bonetto, M. Fratelli // Antioxidants and redox signaling. – 2005. – Vol. 7 (7-8). - P. 964-972.
10. Wu R. S. Measuring and monitoring persistent organic pollutants in the context of risk assessment / R. S. Wu, A. K. Chan, B. J. Richardson [et al.] // Marine Pollution Bulletin. - 2008. - Vol. 57 (6-12). - P.236-244.

Реферати

ВЛИЯНИЕ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ НОНИЛФЕНОЛОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ НА АКТИВНОСТЬ ТИОЛДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС

Маракушин Д. И.

Проведены исследования по изучению длительного влияния ОЕНФ и их производных в дозах 1/10 и 1/100 ДЛ50 на активность тиолдисульфидной системы путем определения содержания тиоловых групп и дисульфидных связей в белках мембран эритроцитов крыс. Установлено снижение содержания тиоловых групп в белках мембран эритроцитов на фоне повышения содержания дисульфидных связей в условиях длительного влияния ОЕНФ и их производных. Выявленное нарушение равновесия в тиолдисульфидной системе в сторону окислительных эквивалентов свидетельствует о разрывании процессов окислительной модификации белков, перекисного окисления липидов на фоне снижения антиоксидантных ресурсов, неспецифической резистентности организма экспериментальных животных при длительном действии ОЕНФ и их производных.

Ключевые слова: оксиэтилированные нонилфенолы, тиолдисульфидная система, мембрана эритроцитов.

Статья надійшла 9.02.2015 р.

THE INFLUENCE OF OXYETHYLIZED NONYLPHENOLS AND THEIR DERIVATIVES ON THE ACTIVITY OF THIOLDISULFIDE SYSTEM IN RATS

Marakushin D. I.

Researches are conducted on the study of the long-term influence of oxyethylized nonylphenols and their derivatives at doses of 1/10 and 1/100 DL50 on activity of the thioldisulfide system by determination of content of thiol groups and disulfide bonds in the membrane proteins of rats erythrocytes. The decrease of content of thiol groups in the membrane proteins of erythrocytes on a background of the rise of disulfide bonds in conditions of the long-term influence of oxyethylized nonylphenols and their derivatives. The revealed violation of the balance in thioldisulfide system toward the oxidizing equivalents testifies about the development of processes of oxidizing modification of proteins, lipid peroxidation on the background of decrease of antioxidative resources, nonspecific resistance of an organism of experimental animals during the long-term influence of oxyethylized nonylphenols and their derivatives.

Key words: oxyethylized nonylphenols, thioldisulfide system, membrane of erythrocytes.

Рецензент Бобирьов В.М.