

связано, скорее всего, с одновременным увеличением количества при уменьшении размеров этих структур. В 100 суточных крыс из ВГТ количественная плотность МПВ превышает показатель не только в 45-ти суточных крыс из ВГТ, но и в контроле. Такое увеличение может отражать усиление транцитоза и иметь компенсаторную направленность. В 240 суточных крыс с ВГТ происходит существенное уменьшение количества МПВ и их слияния, что является одним из признаков срыва компенсаторных процессов в эндотелии кровеносных капилляров миокарда.

Ключевые слова: врожденный гипотиреоз, крысы, микропинцитоз, электронная микроскопия, морфометрия.

Стаття надійшла 8.06.2016 р.

that is most probably connected with simultaneous increase of number and decrease of size of these structures. In 100-day rats with IHT the quantitative density of MPV exceeded both 45-day rats with IHT and control levels. Such increase might reflect reinforcement of transcytosis and have compensatory meaning. In 240-days rats with IHT there is a substantial decrease in MPV number and their fusion that is one of the indicators of compensatory processes fail in myocard endothelium blood capillaries.

Key words: innate hypothyroidism, rats, micropinocytosis, electron microscopy, morphometry.

Рецензент Срошенко Г.А.

УДК 612.616-092.9:615.916'175:616-073.7

Б. О. Шаталин, В. О. Костенко

ВДІЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

ВПЛИВ ІНГІБІТОРА АКТИВАЦІЇ ЯДЕРНОГО ФАКТОРА κ B НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СПЕРМИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ НІТРАТУ НАТРІЮ ТА РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

У експерименті на 21 білому щурі досліджено вплив інгібітора активації ядерного фактора κ B (NF- κ B) – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміну) – на кількісні та якісні показники сперми за умов поєднаної дії на організм нітрату натрію (у дозі 200 мг/кг протягом 30 діб) та рентгенівського опромінення (у дозі 0,08 Гр три рази протягом тижня через день, сумарно 0,25 Гр). Показано, що введення JSH-23 (у дозі 1 мг/кг, 2 рази на тиждень) за умов експерименту істотно зменшує відсоток нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм (з аномаліями голівки). При цьому порушується рухливість сперматозоїдів, що відбивається у збільшенні клітин із швидким поступальним рухом (нормокінезія, категорія А), а також спермійів з коливальним неупорядкованим рухом (дискінезія, категорія С), зменшенні клітин з повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В) та нерухомих сперматозоїдів (акінезія, категорія D).

Ключові слова: ядерний фактор κ B, нітратна інтоксикація, рентгенівське опромінення, спермограма, кінезіограма.

Робота є фрагментом НДР «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації 0114U004941).

У наших попередніх публікаціях показано, поєднана дія нітратної інтоксикації та рентгенівського опромінення виявляє більш глибокі зміни, ніж нітратна інтоксикація та рентгенівське опромінення окремо (збільшується відсоток нежиттєздатних та патологічних сперматозоїдів, акінезис) [5]. Це можна пов'язати із посиленням продукції супероксидного аніон-радикала НАДН-залежним електронно-транспортним ланцюгом, що призводить до неферментативного вільнорадикального пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), пригнічення активності цитохромоксидази та активації NO-синтази [4].

В останні роки з'ясовано участь транскрипційного ядерного фактора κ B (NF- κ B) в експресії генів індукбельної NO-синтази (iNOS). Промотор останньої містить сайти для зв'язування NF- κ B [11]. NF- κ B є родиною, що складається з п'яти білків: NF- κ B1 (або p50), NF- κ B2 (або p52), RelA (або p65), RelB і c-Rel, що утворюють 15 комбінацій димерів [7]. Найбільш розповсюдженими у тканинах сім'яників формами є димер субодиниць p50 з субодиницею p65 [6]. Виявлено участь NF- κ B у ініціації окисного стресу в яєчках за умов ішемії / реперфузії, що викликає фосфорилування і деградацію інгібіторного білка I κ B- α та ядерну транслокацію NF- κ B із наступною активацією залежних генів [9]. Роль активації NF- κ B у порушенні чоловічої репродуктивної системи при дії іонізуючої радіації відмічають лише одиничні літературні джерела. Показано, що NF- κ B у сім'яниках мишей за умов дії іонізуючої радіації опосередковує апоптоз елементів сперматогенного епітелію [10].

Проте роль NF- κ B та його інгібіторів на функціональний стан сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення раніше не досліджувалася. Розв'язання цього питання є важливим для розширення арсеналу засобів попередження та лікування репродуктивних розладів при дії екологічно небезпечних чинників.

Метою роботи було вивчення ролі NF-κB у змінах кількісних та якісних показників сперми білих щурів за умов поєднаної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення.

Матеріал та методи дослідження. Досліди проведені на 21 щурі лінії Вістар. Тварини були розподілені на три групи: 1 група – інтактні щури. 2 група складалась із тварин, які в останній тиждень 30-денної інтоксикації нітратом натрію (у щоденній дозі 200 мг/кг маси тіла) піддавалися рентгенівському опроміненню (у дозі 0,08 Гр три рази протягом тижня через день, сумарно 0,25 Гр), 3 група – під час поєднаної дії нітрату натрію та рентгенівського опромінення у названих режимах щурам внутрішньоочеревинно вводили інгібітор активації NF-κB II – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) [8] виробництва «Santa Cruz Biotechnology» (ФРН) у дозі 1 мг/кг маси тварини, 2 рази на тиждень. Тварин декапітували під ефірним наркозом.

Сперму отримували із придатків сім'яників [2]. Гомогенізовані придатки сім'яників розрізали, розмішували кожний з 2 мл 0,9% розчину натрію хлориду. Одержану суспензію використовували для підрахунку кількості і оцінки функціонального стану сперматозоїдів [1, 2]. Суспензію сперматозоїдів набирали в меланжер до мітки 0,5 і доводили спеціальним розчином до мітки 2, змішували і вносили до камери Горяєва. Підраховували кількість клітин у 5 великих квадратах і перемножували на 1000000 (до складу спеціального розчину входили 5 г натрію бікарбонату, формалін і дистильована вода до 100 мл).

Життєздатність сперматозоїдів визначали за еозиним тестом. На предметне скло вміщували 1 краплю 1% розчину суспензії сперматозоїдів і 1 краплю 1% розчину еозину, перемішували, накривали покривним склом і негайно піддавали мікроскопії. Підраховували 200 клітин і визначали серед них відсоток живих (незабарвлених) і мертвих (забарвлених в рожевий колір) сперматозоїдів. Для визначення відносної кількості патологічних форм сперматозоїдів краплю суспензії розподіляли на предметному склі, висушували, фіксували етанолом і фарбували 1% розчином метиленового синього. Мазки досліджували з імерсійним об'єктивом мікроскопу. Підрахунок проводили на 200 сперматозоїдах. Патологічними формами сперматозоїдів вважали ті, що мали аномалії голівки, тіла, хвоста [1]. З метою визначення кінезіограми краплю суспензії сперматозоїдів переносили на предметне скло. В нативних препаратах за умов світлової мікроскопії з віконцем Фоніо серед 100 сперматозоїдів підраховували відсоток клітин із швидким поступальним рухом (50 мкм/с) (нормокінезія, категорія А), повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В); коливальним неупорядкованим рухом (дискінезія, категорія С) та нерухомих (акінезія, категорія D) [3].

Статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програм «Microsoft Excel 2007» та «StatisticSoft 6.0».

Результати дослідження та їх обговорення. Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво не впливає на середнє число сперматозоїдів у порівнянні з даними другої серії (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив інгібітора активації NF-κB JSH-23 на кількісні показники сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення (M+m, n=21)

Показники	Інтактні тварини	Введення нітрату натрію + рентгенівське опромінення	
		Контроль	+ JSH-23
Середнє число сперматозоїдів, ×10 ⁶	48,4±3,1	31,4± 4,1 p1<0,01	41,3 ±2,5
Кількість нежиттєздатних сперматозоїдів, %	10,5±0,22	45,5±0,62 p1<0,001	24,5±1,34 p1<0,001 p2<0,001
Кількість патологічних форм сперматозоїдів, %	15,5±0,94	50,0±3,22 p1<0,001	25,0±1,89 p1<0,001 p2 <0,001

Примітка. У табл. 1-3: p1 – ймовірність похибки при порівнянні з даними інтактних щурів; p2 – у порівнянні з даними другої серії.

Проте за цих умов істотно зменшується кількість нежиттєздатних сперматозоїдів – до (24,5±1,34)%, що на 46,2% (p<0,001) поступається даним другої серії. Число патологічних форм сперматозоїдів за цих умов знижується – до (25,0±1,89)%, що на 50,0% (p<0,001) поступається величині другої групи. Серед патологічних форм спермій, які утворюються за цих умов, достовірно зменшується відсоток спермій з аномаліями голівки – до (64,0±5,55)%, що на 25,6% (p<0,01) поступається даним другої серії. Відповідно збільшився відсоток клітин з аномаліями шийки та середньої частини (набухання та зморщування), та хвоста (відсутність, подвоєння), нерозділених спермій у порівнянні з даними другої серії (табл. 2).

Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво впливає на показники кінезіограми (табл. 3). Ра наведених умов збільшується відсоток сперматозоїдів із швидким поступальним рухом (нормокінезія, категорія А) – до (70,6+6,5)%, що на 60,5% ($p<0,01$) перевищує результат другої групи. Зменшується число клітин з повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В) – до (12,4+1,3)%, а також нерухомих сперміїв (акінезія, категорія D) – до (7,3+0,7)%, що відповідно на 56,3% ($p<0,001$) та 64,7% ($p<0,001$) поступається даним другої серії. Число сперміїв з коливальним невпорядкованим рухом (дискінезія, категорія С) – збільшується до (9,7+0,8)%, що на 40,6% ($p<0,01$) перевищує результат другої групи, але достовірно не відрізняється від величини інтактних тварин. Одержані результати можна пов'язати із пригніченням експресії iNOS унаслідок порушення активації NF-κB, що призводить до обмеження проявів окисно-нітративного стресу, покращення біоенергетичних процесів у сім'яниках і спермі [4].

Таблиця 2

Вплив інгібітора активації NF-κB JSH-23 на розподіл патологічних форм сперматозоїдів за морфологічними ознаками за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення (M+m, n=21)

Морфологічні ознаки патологічних форм сперматозоїдів, %	Інтактні тварини	Введення нітрату натрію +рентгенівське опромінення	
		Контроль	+ JSH-23
Аномалії голівки	58,06+2,44	86,00+4,18 $p1<0,001$	64,0+5,55 $P2<0,01$
Аномалії шийки та тіла	16,13+1,30	4,00+0,29 $p1<0,001$	12,00+0,99 $p1<0,05$ $p2<0,001$
Аномалії хвоста	16,13+1,60	3,00+0,45 $p1<0,001$	10,00+0,99 $p1<0,01$ $p2<0,001$
Нерозділені спермії	6,45+1,60	1,00+0,29 $p1<0,01$	6,0+0,57 $P2<0,001$
Змішана патологія	3,23+0,92	6,00+0,49 $p1<0,02$	8,0+1,2 $p1<0,01$

Таблиця 3

Вплив інгібітора активації NF-κB JSH-23 на показники кінезіограми за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення (M+m, n=21)

Показники кінезіограми, %	Інтактні тварини	Введення нітрату натрію +рентгенівське опромінення	
		Контроль	+ JSH-23
Нормокінезіс	72,6+4,2	44,0+4,9 $p1<0,001$	70,6+6,5 $p2<0,01$
Гіпокінезіс	12,3+ 0,8	28,4+1,8 $p1<0,001$	12,4+1,3 $p2<0,001$
Дискінезіс	9,4+0,5	6,9+0,4 $p1<0,002$	9,7+0,8 $p2<0,01$
Акінезіс (нерухомі)	5,7+0,4	20,7+2,9 $p1<0,001$	7,3+0,7 $p2<0,001$

Висновки

1. Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов сукупної дії радіаційного (фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр) та токсичного (30-денна інтоксикація нітратом натрію) чинників істотно впливає на кількісні та якісні показники сперми білих щурів, що відбивається у зменшенні відсотка нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм.
2. Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов поєднаної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення істотно впливає на рухливість сперматозоїдів білих щурів, що відбивається у збільшенні клітин із швидким поступальним рухом (нормокінезія, категорія А), а також сперміїв з коливальним невпорядкованим рухом (дискінезія, категорія С), зменшенні клітин з повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В) та нерухомих сперматозоїдів (акінезія, категорія D).

Список літератури

1. Базарнова М. А. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / М. А. Базарнова, В.Т. Морозова // – К.: Вища школа, - 1988. – 318 с.
2. Бариляк І. Р. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин / І.Р. Бариляк, Л.В. Неумержицька, Т.Ф. Бишовець [та ін.] // – К.: Авіцена, - 2001. – С. 139-152.
3. Долгов В. В. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В.В. Долгов, С.А. Луговская, Н.Д. Фанченко [и др.] // – М. – Тверь: Триада, -2006. – 145 с.
4. Шаталін Б. О. Состояние окислительного метаболизма семенников на фоне действия нитратной интоксикации и рентгеновского облучения / Б. О. Шаталін, В. А. Костенко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – № 3. – С. 56-61.
4. Шаталін Б. О. Показники функціонального стану сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення / Б. О. Шаталін, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2016. – Т.16, – №3 – С. 192-195.
6. Delfino F. Stage-specific nuclear expression of NF-kappa B in mammalian testis / F. Delfino, W. H. Walker // Mol. Endocrinol. – 1998. – Vol.12, №11. – P. 1696-1707.
7. Hayden M. S. Shared principles in NF-kappaB signaling / M. S. Hayden, S. Ghosh // Cell. – 2008. – Vol. 132, № 3. – P. 344-362.

8. Kumar A. JSH-23 targets nuclear factor-kappa B and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on neuroinflammation and antioxidant defence / A. Kumar, G. Negi, S.S. Sharma // *Diabetes Obes. Metab.* – 2011. – Vol. 13, № 8. – P.750-758.
9. Lysiak J. J. Activation of the nuclear factor kappa B pathway following ischemia-reperfusion of the murine testis / J.J. Lysiak, H.J. Bang, Q.A. Nguyen, T.T. Turner // *J. Androl.* – 2005. – Vol.26. – P. 129-135.
10. Rasoulpour R. J. NF-kappa B activation elicited by ionizing radiation is proapoptotic in testis / R. J. Rasoulpour, K. Boekelheide // *Biol. Reprod.* – 2007. – Vol.76, №2. – P. 279-285.
11. Vos T.A. Expression of inducible nitric oxide synthase in endotoxemic rat hepatocytes is dependent on the cellular glutathione status / T.A. Vos, H. Van Goor, L. Tuyt [et al.] // *Hepatology.* – 1999. – Vol. 29, № 2. – P. 421-426.

Реферати

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА АКТИВАЦИИ ЯДЕРНОГО ФАКТОРА κ B НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СПЕРМЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ НИТРАТА НАТРИЯ И РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Шаталин Б. О., Костенко В. А.

В эксперименте на 21 белой крысе исследовано влияние ингибитора активации ядерного фактора κ B (NF- κ B) – JSH-23 (4-метил-N- (3-фенилпропил) бензол-1,2-диамина) – на количественные и качественные показатели спермы в условиях сочетанного действия на организм нитрата натрия (в дозе 200 мг/кг в течение 30 суток) и рентгеновского облучения (в дозе 0,08 Гр три раза в течение недели через день, суммарно 0,25 Гр). Показано, что введение JSH-23 (в дозе 1 мг/кг 2 раза в неделю) в условиях эксперимента существенно уменьшает процент нежизнеспособных клеток и их патологических форм (с аномалиями головки). При этом нарушается подвижность сперматозоидов, что отражается в увеличении клеток с быстрым поступательным движением (нормокинезия, категория А), а также спермиев с колебательным неупорядоченным движением (дискинезия, категория С), уменьшении клеток с медленным поступательным движением (гипокинезия, категория В) и неподвижных сперматозоидов (акинезия, категория D).

Ключевые слова: ядерный фактор κ B, нитратная интоксикация, рентгеновское облучение, спермограмма, кинезиограмма.

Статья надійшла 5.06.2016 р.

INFLUENCE OF NUCLEAR FACTOR κ B INHIBITOR ON FUNCTIONAL STATUS OF SPERM IN WHITE RATS UNDER COMBINED EFFECT PRODUCED BY SODIUM NITRATE AND X-RAY IRRADIATION ON THE BODY

Shatalin B. O., Kostenko V. O.

This experiment involved 28 white rats was designed to study the effect of nuclear factor κ B (NF- κ B) inhibitor – JSH-23 (4-methyl-N- (3-phenylpropyl) benzene-1,2-diamine) – on quantitative and qualitative indicators of sperm under the conditions combining chronic intoxication with sodium nitrate (200 mg / kg for 30 days) and exposure to X-rays (in a dose of 0.08 Gy three times a week on alternate days, for a total of 0.25 Gy). It has been shown the administration of JSH-23 (1 mg/kg, twice a week) in experimental conditions significantly reduces the percentage of non-viable cells and their pathological forms (with caput abnormalities). At the same time the motility of spermatozoa becomes impaired that is reflected in the cell increase with the rapid forward movement (normokinesis, category A), as well as sperm cells with oscillating disordered movement (dyskinesis, category C), reducing the cell with a slow forward movement (hypokinesis, category B) and fixed sperm (akinesis, category D).

Key words: nuclear factor kappa B, nitrate intoxication, X-ray irradiation, spermogram, kinesiogram.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 616.453:616.381-002.1-085.362

В. І. Шенітько, Т. А. Скотаренко, Г. А. Єрошенко, О. Д. Лисаченко
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА КОРИ НАДНИРНИКІВ ПРИ ГОСТРОМУ АСЕПТИЧНОМУ ПЕРИТОНІТІ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ ВВЕДЕННЯМ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

В роботі проведено ультраструктурне дослідження пучкової зони кори наднирників при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі асептичного запалення очеревини. Встановлено, що асептичний перитоніт викликає в пучковій зоні кори наднирників деструктивні зміни, які проявляються на 3 добу спостереження дистрофічними змінами ядер і органел. До 7 доби експерименту визначаються деструктивні зміни з боку органел. Введення кріоконсервованої плаценти на тлі гострого перитоніту викликає збільшення ліпідних включень та незначні дистрофічні зміни мітохондрій на 3 добу, та попереджає виникнення деструктивних змін в спонгіоцитах вже на 7 добу спостереження, що проявляється відновленням ультраструктури мітохондрій та ендоплазматичної сітки.

Ключові слова: наднирники, спонгіоцити, асептичне запалення, кріоконсервована плацента.

Робота є фрагментом НДР „Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів”, № державної реєстрації 0113U001572.

Специфічна морфологія, функціональна активність та походження з різних ембріональних джерел основних складових наднирників беззаперечно вказує на те, що дані залози є одними з найважливіших органів ендокринної системи. Доведено, що наднирники відповідають за основні вітальні функції нашого організму. А саме: приймають участь в усіх видах обміну речовин, у