

Ядра плазмочитів неправильної форми, розташовані ексцентрично, у цитоплазмі клітин добре розвинена гранулярна ендоплазматична сітка та полісоми, цистерни комплексу Гольджі.

Округлі мітохондрії мають вогнищево просвітлений матрикс та частково пошкоджені кристи (рис. 4). Ретикулярні клітини зі збільшеними ядрами, просвітленою цитоплазмою, потовщеними відростками та деструктивно зміненими органелами.

#### Підсумок

Субмікроскопічно визначено, що опікова хвороба вже на ранніх термінах свого розвитку призводить до початку глибоких змін всіх структурних компонентів селезінки. Реактивні зміни, які виникають у структурах органу, носять пристосувально-компенсаторний характер, проте наявні також початкові ознаки пригнічення регенерації.

*Перспективи подальших досліджень.* Отримані наукові результати необхідні для подальшого вивчення стану структурних компонентів селезінки в умовах застосування коригуючих чинників при термічній травмі.

#### Література

1. Булько І. В. Ультраструктурний морфометричний аналіз популяції лімфоцитів білої пульпи селезінки при опіковій хворобі / І. В. Булько, Ю. Й. Гумінський // Вісник Морфології – Вінниця. – 2011. – № 17. – Т. 2. – С. 227–230.
2. Ковешніков В. Г. Ультрабудова органів імунної та ендокринної системи в умовах імуностимуляції / В. Г. Ковешніков, С. А. Кашенко, О. С. Болгова [та ін.] // V Міжнародний конгрес з інтегративної антропології: Збірник наукових праць. – Вінниця. – 2004. – № 2. – С. 165–168.
3. Кочмарь М. Ю. Особенности ультраструктурной организации белой пульпы селезенки половозрелых крыс после антигенной стимуляции / М. Ю. Кочмарь, А. А. Гербут, А. С. Головацкий // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 70.
4. Мотуляк А. П. Структура органів імунної системи після дії малих доз іонізуючого випромінювання / А. П. Мотуляк, В. Г. Черкасов, Л. О. Стеченко [та ін.] // Івано-Франківськ-Київ : СПД, 2008. – 208 с.
5. Нужная Е. К. Электронномикроскопическое строение селезенки крыс, перенесших тимэктомия в эксперименте / Е. К. Нужная // Український морфологічний альманах. – 2003. – Т. 1, № 2. – С. 60–62.
6. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова // М.: Медицина, 1996. – 362 с.

#### Реферат

### СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ СЕЛЕЗЕНКИ В РАННИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гаврилюк-Скиба Г.А., Волков К.С.

На половозрелых белых крысах-самцах проведены субмикроскопические исследования селезенки в ранние сроки после экспериментальной ожоговой травмы. Установлено, что на 1 и 7 суток после ожога в структурных компонентах органа развиваются приспособительные-компенсаторные изменения и имеются признаки деструкции.

**Ключевые слова:** селезенка, субмикроскопические изменения, ожоговая травма.

Стаття надішла 15.01.2013 р.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 612.015.12:546.719:616-073

М.В. Горіла, І.А. Клеціна, Н.О. Мархонь, Н.І. Штеменко

Державна установа «Інститут гастроентерології амі України», Дніпропетровський національний університет ім.О.Гончара, м. Дніпропетровськ

### ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ НА БІЛКИ КРОВІ ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДІВ ТУРБІДИМЕТРІЇ

Вивчена взаємодія чотирьох типів кластерних з'єднань Ренію з альбуміном, гемоглобіном і макроглобуліном. Показано, що деякі з'єднання не утворюють спектрально детермінованих агрегатів. Характер утворення агломератів залежить від природи білків і структури з'єднань Ренію, що показано за допомогою визначення інтенсивності поглинання агломератів, швидкістю утворення максимуму поглинання і динаміки утворення агломератів. Отримані дані і продемонстроване використання методу турбідиметрії можуть бути корисні для подальших досліджень в плані створення нових лікарських препаратів на основі металоорганічних сполук.

**Ключові слова:** кластерні з'єднання ренію, білки крові, турбідиметрія.

*Робота є фрагментом НДР „Дослідження механізмів взаємодії сполук ренію з біомолекулами при діагностиці і корекції патологічних станів” (номер державної реєстрації 0104U000960).*

У наших попередніх роботах поряд із антиканцерогенною активністю кластерних сполук ренію [29] було показано, що ці сполуки взаємодіють з білками крові в залежності від природи та просторового розміщення лігандів навколо кластерного центру [3, 9].

Розкриття механізмів взаємодії металоорганічних сполук з білковими молекулами робить значний внесок у розвиток нової галузі біологічної хімії – біонеорганічної хімії [3, 9, 29], оскільки розробляє шляхи отримання лікарських препаратів нового покоління, що містять апопротеїни та іони металів у якості протестичних груп. Для здійснення таких досліджень використовуються різноманітні біохімічні методи досліджень білків, зокрема, метод турбідиметрії [11]. Метод турбідиметрії базується на визначенні швидкості процесу агрегації білкових молекул, що пов'язано із порушенням третинної і вторинної структури білків під дією різноманітних чинників. Показана висока чутливість методу щодо структури білкової глобули, яка дає можливість відрізнити незначні зміни у структурі гомологічних білків [6, 11]. У роботі ми вивчали процес агрегації трьох білків крові людини – сироваткового альбуміну (67 кД), гемоглобіну (64,5 кД) та альфа-2-макроглобуліну (725 кД), структуру яких добре вивчено [6, 10, 17]. Серед сполук ренію були обрані представники чотирьох структурних класів, що представлені у таблиці 1.

Таблиця 1

Кластерні сполуки ренію		
	Назва	Формула
Re1	Транс-тетрахлорді- $\mu$ -2-аміно-пропіонатодиреній(III) хлорид	Транс-[Re <sub>2</sub> ( $\beta$ AlaH) <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> ]
Re2	Цис-тетрахлорді- $\mu$ -2-аміно-пропіонатодиреній(III) хлорид	Цис-[Re <sub>2</sub> ( $\beta$ AlaH) <sub>2</sub> Cl <sub>6</sub> ]
Re3	Цис-діакватетрахлорді- $\mu$ -ацетатодиреній(III)	Цис-Re <sub>2</sub> Ac <sub>2</sub> Cl <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O
Re4	Цис-діакватетрабромді- $\mu$ -ацетатодиреній(III)	Цис-Re <sub>2</sub> Ac <sub>2</sub> Br <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O
Re5	Цезій діакватетра- $\mu$ -гідрофосфатодиренат(III)	Cs <sub>2</sub> [Re <sub>2</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> ]*2H <sub>2</sub> O,
Re6	Дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиреній(III)	Re <sub>2</sub> (ізо-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> COO) <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub>
Re7	Цис-діацетонітрилотетрабромді- $\mu$ -адамантилкарбоксилатодиреній(III)	Цис-Re <sub>2</sub> (AdCOO) <sub>2</sub> *Br <sub>4</sub> *2CH <sub>3</sub> CN

Re1 відноситься до класу транс-дикарбоксилатів диренію, Re2 – Re4, Re7 – до цис-дикарбоксилатів диренію; Re6 – до тетракарбоксилатів диренію; Re5 – до тетрафосфатів диренію. Другий клас сполук представлений декількома сполуками, що дає можливість вивчати вплив природи ліганду на процес агрегації білків. Re1 та Re2 містять два амінокислотних залишки  $\beta$ -аланіну у цис- та транс-положенні відносно почверного зв'язку, що дає можливість вивчати взаємодію сполук Ренію з білками різної конфігурації.

**Метою** роботи було вивчення процесу агрегації трьох білків крові людини при взаємодії з кластерними сполуками Ренію чотирьох структурних типів та визначити вплив природи лігандів та їхнього розташування навколо почверного зв'язку на цей процес.

**Матеріал та методи дослідження.** Сполуки Ренію, формули, назви та позначення яких представлено у таблиці 1, було синтезовано в ДВНЗ “Український Державний Хіміко-технологічний Університет” (м. Дніпропетровськ) [9, 28].

Білки крові людини (альбумін, гемоглобін та макроглобулін) отримували від Sigma Aldrich, США. Готували водні розчини білків у концентрації 10<sup>-4</sup> моль/л. Додавали до розчинів білків сполуки Ренію, отримуючи співвідношення білок/сполука Ренію 100/1, 10/1, 1/1, 1/10. Проводили виміри оптичної густини на спектрофотометрі КФК-2-УХЛ при довжині хвилі  $\lambda=720$  нм у часовій динаміці з інтервалом 5, 15, 35, 65, 125 хвилин. Будували графік залежності інтенсивності поглинання (А) від часу (Т, хвил.) Швидкість коагуляції розраховували шляхом апроксимації лінії росту поглинання розчину від початку утворення коагулянта (А<sub>0</sub>) до максимуму поглинання (А<sub>макс</sub>) протягом певного часу за формулою  $A_{\text{макс}} - A_0 / T_{\text{макс}} - T_0$ , 1/хв. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Excel, використовуючи t-критерій Ст'юдента та розрахунок помилки вимірювання [7].

**Результат дослідження та їх обговорення.** У наших дослідженнях було з'ясовано, що при взаємодії деяких кластерних сполук Ренію з білками відбувається зміна конформації білків, що призводить до процесу агрегації білкових молекул, а для деяких кластерних сполук Ренію, а саме для Re6 та Re7 такий процес не спостерігався зовсім (таблиця 2).

Відсутність значних змін у конформації досліджуваних білків під дією цих комплексів навіть у найвищій концентрації (10<sup>-4</sup> М) можна пояснити низькою полярністю Re6, що має чотири тетраізобутиратних ліганди і наявністю двох адамантильних лігандів у молекулі Re7 зі значною гідрофобністю, адже найбільші зміни у конформації білкової молекули викликають електростатичні взаємодії, притаманні сполукам з йонною структурою [20]. Re5 викликав агрегацію білків тільки при високих концентраціях, не дивлячись на свою йонну структуру – атоми Цезію знаходяться у зовнішній сфері лігандів. Проте, симетрична структура тетрафосфату та електростатична взаємодія іонів лужного металу з фосфатними групами, вірогідно, обумовлюють інертну властивість цієї сполуки щодо зміни конформації білків. На наш погляд, Re4 виявився також досить інертною сполукою у процесі агрегації білків. На відміну від Re3, який відрізняється природою галогену (Re3 – хлорид, Re4 – бромід), процес агрегації для бромідного аналогу спостерігається тільки при високих концентраціях та тільки для гемоглобіну, в той час як хлоридний аналог проявив себе набагато активніше у цьому процесі. Відмінність у результатах вимірювання процесу агломерації при взаємодії хлоридного та бромідного комплексів можна пояснити тим, що хлоридні аналоги набагато швидше гідролізують у водному середовищі, ніж бромідні [4]. Проте, наявність адамантильного ліганду в молекулі Re7 значно підвищує гідрофобність молекули і нівелює, вірогідно, вплив полярних продуктів гідролізу. Перші три комплекси ренію виявилися найбільш активними і здійснювали зміну конформації і агрегацію білків з різною швидкістю залежно від природи білків. Так, Re1 найбільш активно взаємодіяв з альбуміном, при цьому максимум поглинання розчину спостерігався вже при співвідношенні білок:сполука 100:1 на 5 хвилині експерименту і практично однаково взаємодіяв з гемоглобіном і макроглобуліном – максимум агрегації був відмічений також на 5 хвилині експерименту. Комплекс Re2 цис-

конфігурації був набагато менш активним ніж Re1 транс-конфігурації, хоча за порядком збільшення реакційної здатності до білків зберігалася тенденція, характерна для Re1.

Таблиця 2

**Характеристика максимуму поглинання розчинів при взаємодії сполук Ренію з білками**

Сполуки ренію	Молярне співвідношення білок/комплекс	Час утворення макс. Поглинання агломерату (Т, хв.) та інтенсивність поглинання у точці максимуму (A <sub>720</sub> )					
		Альбумін		Гемоглобін		Макроглобулін	
		Т, хв.	M±m	Т, хв.	M±m	Т, хв.	M±m
Re1	100/1	5	0,012±0,002	125	0,018±0,002	65	0,015±0,002
	10/1	5	0,028±0,003	125	0,017±0,001	65	0,015±0,001
	1/1	5	0,027±0,002	125	0,019±0,002	65	0,015±0,002
	1/10	5	0,048±0,005	5	0,048±0,005	5	0,053±0,003
Re2	100/1	35	0,012±0,002	35	0,017±0,002	125	0,015±0,002
	10/1	35	0,014±0,002	35	0,018±0,002	125	0,015±0,001
	1/1	35	0,013±0,002	35	0,018±0,002	125	0,015±0,002
	1/10	15	0,029±0,002	65	0,140±0,009	125	0,033±0,003
Re3	100/1	5	0,014±0,002	-	-	65	0,027±0,002
	10/1	5	0,014±0,003	-	-	65	0,033±0,001
	1/1	5	0,015±0,002	-	-	65	0,026±0,001
	1/10	5	0,070±0,008	5	0,045±0,007	15	0,075±0,003
Re4	100/1	-	-	-	-	-	-
	10/1	-	-	-	-	-	-
	1/1	-	-	125	0,058±0,003	-	-
	1/10	-	-	125	0,068±0,004	-	-
Re5	100/1	-	-	-	-	-	-
	10/1	-	-	-	-	-	-
	1/1	-	-	-	-	-	-
	1/10	125	0,023±0,018	35	0,023±0,003	-	-
Re6	100/1	-	-	-	-	-	-
	10/1	-	-	-	-	-	-
	1/1	-	-	-	-	-	-
	1/10	-	-	-	-	-	-
Re7	100/1	-	-	-	-	-	-
	10/1	-	-	-	-	-	-
	1/1	-	-	-	-	-	-
	1/10	-	-	-	-	-	-

Найменш активним білком, що взаємодіяв зі сполуками Ренію, виявився макроглобулін: Re1, Re2, Re3 утворювали агломерати тільки при високій концентрації 10<sup>-4</sup> М. При цьому максимум спостерігався практично за той же проміжок часу – 5 хвилин після початку експерименту. Низька агломераційна здатність цього білку у порівнянні з іншими дослідженими білками може бути пояснена його значною молекулярною масою, що перевищує молекулярну вагу альбуміну і гемоглобіну майже у 11 разів, а висока активність перших трьох сполук Ренію – їхньою високою реакційною здатністю щодо взаємодії з білковими молекулами. В результаті порівняли між собою швидкості утворення агломератів для перших трьох комплексів при максимальній концентрації (таблиця 3). На рисунку 1 подано порівняльну динаміку утворення агломератів при взаємодії гемоглобіну зі сполуками Re1 та Re2, що мають різне розташування при одній тій самій концентрації.

Таблиця 3

**Швидкість утворення максимуму агломерації білків при взаємодії з кластерними сполуками ренію при молярному співвідношенні білок/комплекс 1/10**

Сполуки ренію	Швидкість агрегації комплексів ренію з білками (од. опт. густ. за хвилину) x 10 <sup>-3</sup>		
	Альбумін	Гемоглобін	Макроглобулін
	M±m		
Re1	0,28 ± 0,01	72,34 ± 0,21	2,50±0,01
Re2	15,10±0,20	70,00±0,01	3,50±0,02
Re3	80,00±2,00	60,00±2,00	4,00±0,01

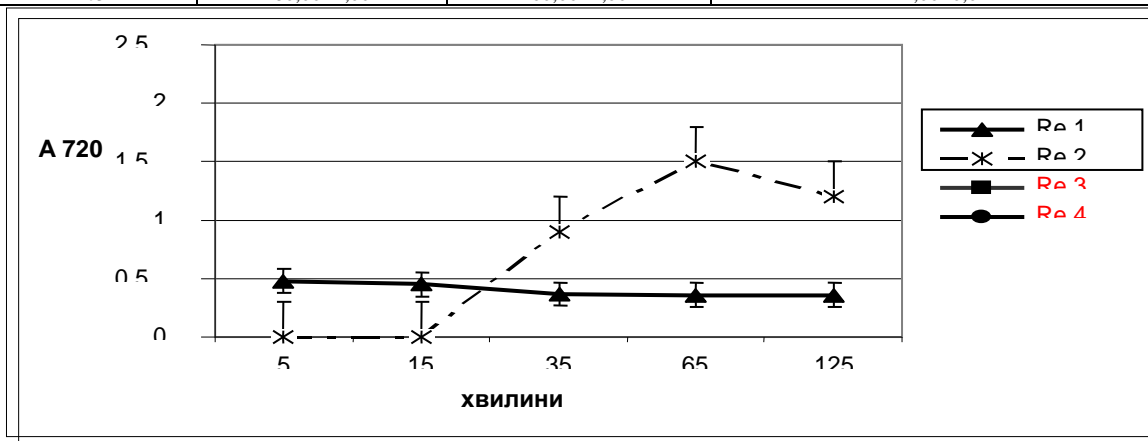


Рис. 1. Динаміка зміни оптичної густини розчину гемоглобіну A<sub>720</sub> при взаємодії з Re1, Re2, (10<sup>-4</sup> М) (n=6).

Якщо для Re1 характерно утворення агломерату, стійкого протягом усього часу експерименту, то для впливу Re2 спостерігається початок утворення агломерату тільки на 15 хвилині з поступовим збільшенням агрегації із максимумом на 65 хвилину з наступним зменшенням ступенем агрегації.

Агрегація білків – загальний термін, який включає в себе кілька видів взаємодій або характеристик [21]. Агрегати білків можуть виникнути в результаті декількох механізмів і можуть бути розчинні /нерозчинні, ковалентні/ нековалентні, зворотні /незворотні і нативні/ денатуровані. Ковалентні агрегати виникають через утворення хімічного зв'язку між двома або більшою кількістю мономерів. Утворення дисульфідних зв'язків в результаті участі раніше непарних вільних тіолів є загальним механізмом для ковалентної агрегації.[19, 27]. Окислення тирозинів може також призвести до ковалентної агрегації через формування бітирозинів [21, 23]. Для деяких білків, ковалентні взаємодії мономерів необхідні для формування стабільної структури білку. Багато факторів росту, в тому числі фактор росту ендотелію судин (VEGF), трансформуючий фактор росту-  $\beta 1$ , і фактор росту нервів, мають дуже стійкі структури через наявність декількох дисульфідних зв'язків, у тому числі такого, що існує між мономерами, та призводить до утворення нативного ковалентного димера. Зворотня агрегація білків зазвичай є результатом слабких нековалентних взаємодій білків. Зворотність іноді свідчить про наявність рівноваги між мономерами та більш вищими формами. Ця рівновага може бути зрушена в результаті зміни умов, таких як зниження концентрації білка або зміни рН. Слабка, зворотня самоасоціація цього типу спостерігається за участю моноклональних антитіл до VEGF [26].

#### Висновок

При взаємодії деяких сполук не утворюються агрегати білків крові, що є необхідною умовою при рекомендації сполук до преклінічних досліджень; деякі сполуки утворюють стійкі комплекси, що може бути використане при синтезі нових металоорганічних сполук з амінокислотними, пептидними і протеїновими лігандами; нестійкі зворотні комплекси також можуть бути використані при розробці транспортних форм металоорганічних сполук.

*Перспективи подальших досліджень* полягають у визначенні типів зв'язків, що утворюються між досліджуваними білками та кластерними сполуками ренію.

#### Література

1. Аналитическая химия ренция. М., Медицина. – 1995. – 348с.
2. Антигемолитична активність кластерних сполук ренію з органічними лігандами. Доповіді НАН України – 2006. - №6 – С.194-197.
3. Горіла М.В. Закономірності взаємодії антиген-антитіло у розчинах кластерних сполук ренію та дисплатину / М.В.Горіла, Т.М. Полішко, І.В. Кленіна, А.М. Аношко, Н.І. Штеменко // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2009. – № 7. – Вип. 17. – Т. 2. – С. 37-40.
4. Егорова Д.Е. Изучение процессов гидролиза биядерных кластерных соединений ренция (III) различных структурных типов. / Д.Е.Егорова, О.В. Берзенина, В.Г. Столяренко, А.В. Штеменко // Вопросы химии и химической технологии. 2007. - № 6.- С. 27-31.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Т.1. – 2-е изд. – М.: Беларусь, 2002. – 495 с.
6. Кухта В.А. Белки плазмы крови / В.А. Кухта, Э.И. Олецкий, А.Н. Стогаров. – Минск, 1986. – 80 с.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. Спец. Вузов – 4-е издание, перераб. И дополн. – М.: Высшая школа, 1990. – 325 с.
8. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. – Л.: Медицина, Ленинградское отделение, 1972.– 183 с.
9. Леус І.В. Взаємодія сироваткових альбумінів з кластерними сполуками ренію цис- і транс-конфігурації / І.В. Леус, І.О. Кленіна, К.А. Заболоцька, О.А. Голіченко, О.В. Штеменко, Н.І. Штеменко // Biopolymers&Cells. – 2011. – Т.27, №6 – С. 460-466.
10. Луйк А.И. Сывороточный альбумин и биотранспорт ядов. / А.И.Луйк, В.Д. Лукьянчук. – М.: Медицина, 1984. - 224 с.
11. Мышкин А.Е. Изучение структуры гемоглобина турбидиметрическим методом / А.Е. Мышкин, В.С.Коняева // Биофизика. – 1986.-Т.31, - №.6 – С.954-957.
12. Олійник С.А. Современные проблемы токсикологии / С.А. Олійник, Н.І. Штеменко, Н.О. Горчакова, О.В. Штеменко. 2001. №1. – С. 11-15.
13. Поскрипко Ю.А. Антирадикальна та антиокислювана активність структурно-модифікованих аналогів  $\alpha$ -токоферолу / Ю.А. Поскрипко // Ліки. 1998. - №2. – С.6-9.
14. Пшенкина Н.Н. «Взаимодействие лекарственных веществ с сывороточным альбумином» НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, г.Санкт-Петербург. – 2001. – 234 с.
15. Тиунов Л.А. Основы механизма метаболизма ксенобиотиков в организме человека и животных – В кн.: Итоги науки и техники. Сер. Токсикология – ВИНТИИ. – 1981. – Т. 12. – С.5 – 64.
16. Цыганенко А.Я. Клиническое биохимия (учебное пособие для студентов медицинских вузов). / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, И.В. Завгородний. - М.: Триада-Х, 2002. - 504 с.
17. Черер С. И. Транспортная функция сывороточного альбумина / С.И. Черер – Бухарест, 1975. – 183с.
18. Штеменко Н.І. Вивчення стабілізуючого впливу комплексів ренію з органічними лігандами на еритроцити людини / Н.І.Штеменко, І.В. Пірожкова, О.В. Штеменко, А.А. Голіченко // Укр.біохім.журн. – 2000. – Т. 72. – С. 77 – 81.
19. Andya J.D. Mechanisms of aggregate formation and carbohydrate excipient stabilization of lyophilized humanized monoclonal antibody formulations / J. D. Andya, C.C. Hsu, S.J. Shire // AAPS PharmSci. 2003; Vol. 5:10 p.
20. Chi E.Y. Physical stability of proteins in aqueous solution: mechanism and driving forces in nonnative protein aggregation / E.Y. Chi, S. Krishnan, T.W. Randolph, J.F. Carpenter // Pharm Res. 2003; 20 : P.1325 - 1336.
21. Cromwell M. Protein Aggregation and Bioprocessing / M. Cromwell, E. Hilario, F.Jacobson // The AAPS Journal 2006; 8 (3). – P. E572 – E579.
22. Eastland G.W.Jr Studies of rhenium carboxylates as antitumor agents. Part II. Antitumor studies of bis (mupropionate) diaquotetramolybdenum (III) in tumor-bearing mice/ G.W. Jr Eastland, G. Yang, T. Thompson // Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol.- 1983.- Vol.5, № 7.- P.435-438.
23. Giulivi C. Dityrosine: a marker for oxidatively modified proteins and selective proteolysis. / C. Giulivi, K.A Davies // In: Packer L, ed. Methods in Enzymology. Vol.233. New York,: Academic Press; 1994. – P.363- 371.
24. Keppler B.K. Metal complex in cancer chemotherapy / B.K. Keppler, G. Lipponner, B. Stenzel // - Weinheim and New York. - 1993. - 429 p.
25. Kratz P. - Metal drugs / P. Kratz, B.K. Keppler, M. Harmann [et al.] // - 1997. № 3. - P. 215-218.
26. Moore J.M. Kinetics and thermodynamics of dimer formation and dissociation for a recombinant humanized monoclonal antibody to vascular endothelial growth factor / J.M. Moore, T.W. Patapoff, M.M. Cromwell // Biochemistry. – 1999. - № 38. - P. 13960 – 13967.
27. Shahrokh Z. Disulfide-linked oligomerization of basic fibroblast growth factors: effect of sulfated compounds / Z. Shahrokh, V. Sluzky, P.R. Stratton, G.A. Eberlein, Y.J. Wang // In: Formulation and Delivery of Proteins and Peptides, ACS Symposium Series 567. Washington, DC: American Chemical Society. 1994. – P. 85- 99.

28. Shtemenko A.V. Chemistry of binuclear Rhenium Clusters / Z. Shahrokh, V. Sluzky, P.R. Stratton, G.A. Eberlein, Y.J. Wang // Rhenium and Rhenium Alloys.- Pennsylvania: TMS publication. – 1997.- P.189-197.  
29. Shtemenko N. Dichlorotetra- $\mu$ -isobutiratodirhenium(III): Enhancement of Cisplatin Action and KBC – stabilizing Properties / N. Shtemenko, P. Coltery, A. Shtemenko // Anticancer Research – 2007. – Vol.27 – P.2487-2492.  
30. Shtemenko N. I. Interaction of Rhenium cluster compounds with human blood proteins / N. I. Shtemenko, M. V. Gorelaya, L. M. Alexandrova // Metal Ions in Biology and Medicine. – 2002. – Vol. 7. – P. 34–36.

#### Реферати

##### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РЕНИЯ НА БЕЛКИ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Горелая М.В., Клеина И.А., Мархонь Н.А., Штеменко Н.И.

Изучено взаимодействие четырех типов кластерных соединений Рения с альбумином, гемоглобином и макроглобулином. Показано, что некоторые соединения не образуют спектрально детерминированных агрегатов. Характер образования агломератов зависит от природы белков и структуры соединений Рения, что показано с помощью определения интенсивности поглощения агломератов, скоростью образования максимума поглощения и динамики образования агломератов. Полученные данные и продемонстрированное использование метода турбидиметрии могут быть полезны для дальнейших исследований в плане создания новых лекарственных препаратов на основе металлоорганических соединений.

**Ключевые слова:** кластерные соединения рения, белки крови, турбидиметрия.

Стаття надійшла 09.12.2012 р.

##### DETERMINATION OF THE IMPACT OF COMPLEX COMPOUNDS OF RHENIUM ON BLOOD PROTEINS USING TURBYDIMETRIC METHODS

Gorelaya M.V., Klenina I.A., Marhon N.A., Shtemenko N.I.

The interactions of four types of cluster compounds of Rhenium with albumin, hemoglobin and macroglobulin were investigated. It was shown that some compounds do not form spectrally determined agglomerates. The nature of the formation of agglomerates depends on the protein nature and Rhenium compounds structure as it was shown by determining the intensity of the absorption of agglomerates, the formation rate of absorption maximum and the dynamics of the formation of agglomerates. The finding and demonstrated the turbidimetry method can be used for further research on new drugs based on organometallic compounds.

**Key words:** cluster rhenium compounds, proteins of blood, turbidimetry

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 616-093+612.616+612.6

Б.В. Гринюлак, В.Б. Гринюлак, О.І. Готюр, Н.П. Долінко, М.І. Подивкан  
Прикарпатський Національний Університет ім. В. Стефаника, М. Івано-Франківськ

#### ГІСТО – ТА УЛЬТРАСТРУКТУРА ЯЄЧКА ЧОЛОВІКІВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ ПРИ ВАРИКОЦЕЛЕ

Досліджено гісто - та ультраструктурні зміни в 12 біоптатах яєчка чоловіків репродуктивного віку при варикозному розширенні вен сім'яного канатика. Встановлено значне зменшення діаметру звивистих сім'яних трубочок та кількість в них статевих клітин на різних стадіях розвитку, а також об'єму ядер інтерстиційних ендокриноцитів на фоні виражених ультраструктурних змін в гемокапілярах, власній оболонці звивистих сім'яних трубочок та підтримувальних епітеліоцитах.

**Ключові слова:** яєчко, звивисті сім'яні трубочки, варикоцеле.

*Робота є фрагментом науково – дослідної роботи кафедри анатомії і фізіології людини та тварин «Морфо-функціональний стан кровоносного русла і тканинних елементів чоловічої статевої залози в умовах впливу патогенних факторів» (№ державної реєстрації 0109U009082).*

Як відомо [4,8] до розладів сперматогенезу, крім інших факторів, приводить варикозне розширення вен сім'яного канатика та оболонок яєчка, котре супроводжується сповільненням кровотоку, гіпоксією і місцевим підвищенням температури [2,3]. Варикоцеле виникає внаслідок недостатності клапанів яєчкових вен, що супроводжується нирково-яєчковим рефлексом. Важлива роль у розвитку даної патології належить компресії лівої ниркової вени, а також її впадання у ниркову вену під прямим кутом. Дана проблема є актуальною в андрології, бо при варикоцеле порушення фертильності діагностується у 80% випадків, а неплідність – у 45% [9,10]. Разом з цим дослідження гісто– та ультраструктур яєчка у чоловіків репродуктивного віку в цих умовах є неповними.

**Метою** роботи було визначити характер гісто– та ультраструктурних змін у гемокапілярах, звивистих сім'яних трубочках та інтерстиційних ендокриноцитах яєчка чоловіків репродуктивного віку при варикоцеле.

**Матеріал та метод дослідження.** 12 біоптатів яєчка, забраних у чоловіків 22 – 35 років з діагностичною метою при варикоцеле, фіксували у розчині Буена. Зрізи з парафінових блоків товщиною 7 – 8 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином з дозбарвленням гематоксиліном Ерліха. На гістологічних препаратах визначали діаметр звивистих сім'яних трубочок, кількість в них сперматогоній, сперматоцитів на стадії прелептотени, пахитени та сперматид 7-го етапу розвитку. Для оцінки активності інтерстиційних ендокриноцитів визначали об'єм їх ядер, який розраховували за допомогою еліпса  $V = \pi/6 \times LB^2$  (Л.Е. Хесін, 1967), де V - об'єм ядра, L - максимальний діаметр, B - мінімальний діаметр. Отримані результати визначали в мкм<sup>3</sup>. Статистичну обробку матеріалів проводили за допомогою комп'ютерної системи STATISTICA for Windows R. Частина матеріалу для електронномікроскопічного дослідження структур яєчка проводили за загальноприйнятими правилами. На ультрамікромомі TeslaBS-490A виготовляли ультратонкі зрізи, монтували їх на мідні бленди, додатково контрастували цитратом свинцю і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К з прискорюючою напругою 75 кВ і наступним фотографуванням при збільшенні від 4000 до 16000 разів.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Морфометричне дослідження гістологічних препаратів з біоптатів яєчка у чоловіків репродуктивного віку (22 – 35 років) при варикозному розширенні вен сім'яного канатика виявило зменшення діаметрів звивистих сім'яних трубочок до  $163,91 \pm 4,24$  мкм в середньому проти