

виватися внаслідок реакції клітин СОШ на стрес-індуковані розлади регуляції з боку нервової системи або бути наслідком ушкодження ліпідного обміну клітин через активацію вільнорадикального окиснення. Таким чином, адаптивна або ушкоджувальна відповідь на стрес на рівні цілого організму реалізується через мембранні системи клітин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Zuckerman G. R. Stress ulcer syndrome / G. R. Zuckerman, D. Cort, R. B. Schuman // Journal of Intensive Care Medicine. – 1988. – Vol. 3. – P. 21–31.
2. Gastric mucosal phosphatidylcholine hydroperoxide increases during

stress in rats / G. R. Zuckerman, D. Cort, R. B. Schuman [et al.] // J. Exp. Med. – 1995, Jun. – P. 127–130.

3. Zerouga M. Rat synaptic membrane fluidity parameters after intermittent exposures to ethanol in vivo / M. Zerouga, F. Beaugé // Alcohol (Fayetteville ; N. Y.). – 1992. – Vol. 9 (4). – P. 311–315.

4. Role of lipid peroxydation, anti-oxidizing enzymes and proinflammatory cytokines / S. Kwiecie, T. Brzozowski, P. C. Konturek [et al.] // J. Physiol. and Pharmacol. – 2004. – Vol. 55, N 2. – P. 337–355.

5. Гройсман С. Д. О влиянии атропина на стрессорные поражения слизистой оболочки желудка у крыс / С. Д. Гройсман, Т. Г. Каревина // Библ. указ. ВИНТИ. Деп. рукописи. – 1979. – № 12. – Б/о. – 131 с.

6. Древаль В. И. Исследование связывания бромтимолового синего

/ В. И. Древаль, А. В. Финашин, Е. А. Баранник // Украинский биохимический журнал. – 1989. – Т. 61, № 2. – С. 94–97.

7. Kates M. Techniques of lipidology. Isolation, analysis and identification of lipids / M. Kates. – Amsterdam : Elsevier, 1986. – 464 p.

8. Irsogladine maleate may preserve gastric mucosal hydrophobicity against ethanol in phospholipids independent way in rats / Y. Tatsumi, M. Tanino, T. Kodama [et al.] // J. Pharmacol. – 1998, Aug. – P. 293–299.

9. Изучение липидного обмена у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки / А. Л. Гребенев, Е. А. Сычев, Г. Н. Головки [и др.] // 4-я науч.-практ. конф. врачей 4-го Управления МЗ Латв. ССР. – Рига, 1991. – С. 44–45.

УДК 611.63:615.916'13

Я. А. Тарасенко, В. М. Бобирьов

МЕХАНІЗМИ УШКОДЖЕННЯ ТКАНИНИ СІМ'ЯНИКІВ ПРИ ТРИВАЛОМУ ВПЛИВІ ПОХІДНИХ ФЕНОКСІОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», Полтава

Стрімкий розвиток хімічної, фармацевтичної, металургійної промисловості, інтенсивна хімізація сільського господарства, широке використання хімічних речовин у побуті створюють загрозу глобального забруднення навколишнього середовища хімічними речовинами, які становлять реальну небезпеку для здоров'я населення [6; 7; 14]. Пріоритетними, з точки зору масштабності можливих негативних наслідків, є хімічні фактори довкілля, під дію яких можуть підпадати великі групи населення, і, у першу чергу, це — пестициди. В усьому світі асортимент пестицидів щороку збільшується, викликаючи забруднення навколишнього середовища та зміни стану здоров'я населення [5; 15]. Численні дані літератури свідчать про різноманітний вплив пестицидів на ор-

ганізм людини: пригнічується імунна система, що призводить до зниження захисних сил організму; виникає гостре набухання клітин кори великих півкуль мозку з вираженим хроматолізом, страждають органи травлення, зокрема, у печінці виникають глибокі дистрофічні, а іноді некротичні зміни, що спричинюють цироз, порушується серцево-судинна діяльність [12]. Трапляються повідомлення про порушення репродуктивної функції експериментальних тварин і людини під дією пестицидів [13], але їх механізм недостатньо висвітлено у сучасній літературі.

За останні десятиріччя у структурі отруєнь пестицидами провідне місце посідають речовини на основі 2,4-дихлорфеноксіцтислової кислоти [2], а саме її амінна сіль (2,4-ДА).

Мета даної роботи — дослідження механізму ушкоджуючої дії на сім'яники щурів при тривалому впливі 2,4-ДА.

Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено на трьох групах щурів-самців лінії Вістар масою 170–195 г. Усі дослідження на щурах виконувалися під контролем комісії з біоетики Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», Полтава. До інтактної групи увійшли 20 щурів, яких протягом експерименту утримували в умовах віварію по 5 тварин у клітках (1-ша група). Раціон включав усі необхідні компоненти. До 2-ї групи включено 20 щурів-самців, яким протягом 15 діб внутрішньошлунково вводили пестицид 2,4-ДА у дозі 1/10 LD₅₀



(120 мг/кг). Щурам-самцям 3-ї групи (20 тварин) токсикант вводили внутрішньошлунково протягом 30 діб у тій же дозі. Евтаназію щурів здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла, внутрішньочеревинно) шляхом взяття крові з серця до його зупинки.

Проводили оцінку загальносоматичних показників (маса, стан шерсті, рухливість), а також біохімічні та гістологічні дослідження. У тканинах сім'яників досліджували рівень продуктів, що реагують із 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [4]. Принцип ґрунтується на здатності малонового діальдегіду реагувати зі 2-тіобарбітуровою кислотою з утворенням триметинового комплексу, що має рожеве забарвлення, інтенсивність якого пропорційна концентрації ТБК-реактантів. Активність супероксиддисмутази (СОД) крові та тканин сім'яників визначали за здатністю адреналіну самоокиснюватися в лужному середовищі з генерацією супероксиданіонрадикала; у присутності СОД швидкість реакції знижується [3]. Порівняння швидкості окиснення контрольної та дослідної проб дає змогу судити про активність ензиму. Визначення активності каталази тканин сім'яників оцінювали за здатністю перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс [9].

У крові визначали рівень спонтанного гемолізу еритроцитів (СГЕ), для чого досліджували фізико-хімічні властивості еритроцитів при інкубації у фосфатному буфері (рН — 7,4) протягом 4 год при температурі 37 °С. Рожеве забарвлення, яке реєструється, зумовлене гемоглобіном еритроцитів унаслідок перекисного окиснення фосфоліпідів мембран, що дозволяє висновувати про забезпеченість мембран еритроцитів гідрофобними антиоксидан-

тами [11]. Рівень вільнорадикального перекисного окиснення (ВРПО) ліпідів оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів [10]; принцип методу базується на їх властивості поглинати світлове випромінювання в ультрафіолетовому відрізку спектра.

Для морфологічних досліджень використовували тканини сім'яників. Зразки послідовно фіксували в 2 % розчині глутарового альдегіду й 1 % розчині OsO_4 , зневоднювали у спиртах різної концентрації та поміщали в епон-812. З полімеризованих блоків готували напівтонкі зрізи за допомогою ультрамікротома УМТП-4 [8]. Потім забарвлювали їх метиленовим синім і досліджували за методом світлової мікроскопії. Проводили візуальну оцінку гістологічної структури досліджуваних органів за методом стандартних площин. Фіксували частоту зустрічальності патологічних змін гістоструктури досліджуваних органів [1]. Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Відмінності вважалися достовірними при $p \leq 0,05$. Взаємозв'язок між показниками визначали за коефіцієнтом кореляції.

Результати дослідження та їх обговорення

Хронічне надходження пестициду 2,4-ДА у щурів-самців спричинило зміни загальносоматичних і біохімічних показників крові та тканин. У тварин 2-ї групи знизився апетит, спостерігали агресивність, кволість, шерсть стала тьмяною, вологою. При більш тривалому впливі токсиканта (3-тя група) намітилася тенденція до зниження маси ($p < 0,1$), значне випадання шерсті, зниження рухливості й апетиту.

Введення пестициду протягом 15 (2-га група) та 30 (3-тя група) діб призвело до достовірного зростання рівня проміж-

них продуктів (зі кон'югати, ТБК-реактанти) ВРПО ліпідів. Так, рівень ТБК-реактантів у тканинах сім'яників дослідних груп щурів зріс порівняно з показниками інтактних тварин: $(38,53 \pm 3,90)$ нмоль/г у тварин 2-ї групи ($p_{1,2} < 0,001$) і $(29,21 \pm 2,74)$ нмоль/г — 3-ї групи ($p_{1,3} < 0,002$), тимчасом як у інтактних щурів — $(14,8 \pm 2,6)$ нмоль/г. Зіставлення на 15-й і 30-й день експерименту рівнів ТБК-реактантів у тварин показало достовірне зниження показників наприкінці експерименту. Це може бути обумовлено компенсаторною реакцією у відповідь на мобілізацію системи антиоксидантного захисту.

Дослідження рівня дієнових кон'югатів у сироватці крові під дією пестициду показало його достовірне зростання порівняно з контрольною групою тварин: у щурів 2-ї групи — $(10,2 \pm 1,9)$ ммоль/л ($p_{1,2} < 0,002$), 3-ї групи — $(12,1 \pm 2,3)$ ммоль/л ($p_{1,3} < 0,002$), а в інтактних тварин — $(3,9 \pm 0,9)$ ммоль/л.

При дослідженні показника СГЕ зареєстровано його поступове зростання: у щурів 2-ї групи — до $(23,6 \pm 2,8)$ % ($p_{1,2} < 0,001$), 3-ї — $(27,3 \pm 3,7)$ % ($p_{1,3} < 0,001$) порівняно з показниками інтактних тварин — $(7,2 \pm 1,9)$ %. Однак порівняння показників СГЕ у щурів 3-ї та 2-ї груп не виявило достовірних змін, що свідчить про гальмування падіння рівня гідрофобних антиоксидантів еритроцитарних мембран у другій половині експерименту.

Вивчення активності антиоксидантних ферментів у тканинах сім'яників показало зниження каталази в 1,7 разу у тварин 2-ї групи та в 1,6 разу — 3-ї групи порівняно з інтактними; СОД — в 1,4 разу у щурів 2-ї групи та в 1,4 разу — у щурів 3-ї групи порівняно з показниками тварин 1-ї групи (табл. 1). Проте зіставлення активності антиоксидантних ферментів у тканинах тварин 2-ї

Таблиця 1
Біохімічні показники щурів, які отримували 2,4-ДА

Біохімічний показник		Інтактні (1-ша група)	Введення 2,4-ДА, 15 діб (2-га група)	Введення 2,4-ДА, 30 діб (3-тя група)
СОД, %	кров	78,9±3,2	62,4±3,1 $p_{1-2}<0,002$	57,3±3,7 $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,25$
	сім'яники	74,7±3,1	59,8±2,7 $p_{1-2}<0,01$	52,23±2,78 $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,05$
Каталаза, ммоль/(хв·г)	сім'яники	0,433±0,030	0,249±0,018 $p_{1-2}<0,001$	0,272±0,015 $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,25$

та 3-ї груп не виявило достовірного зниження їх активності, крім активності СОД у тканинах сім'яників ($p_{2-3}<0,05$).

У крові на тлі тривалого надходження токсиканта у тварин дослідних груп також достовірно знизилась активність СОД порівняно з інтактними тваринами (див. табл. 1). Втім, порівняння активності цих ферментів у тварин 2-ї та 3-ї груп не виявило достовірних змін.

При морфологічному дослідженні тканин сім'яників у щурів на тлі введення пестициду 2,4-ДА протягом 30 діб виявляються значні структурні порушення порівняно з тваринами інтактної групи. На поперечних

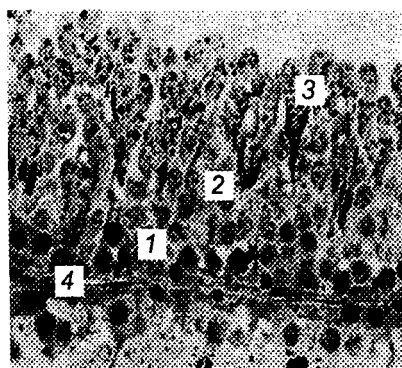
зрізах сім'яних каналців визначаються ділянки відшарування базальної мембрани від базального шару стінки. У ядрах сперматогоній мітотичні фігури практично не трапляються (рис. 1). Пошарове розташування клітин сперматогенного епітелію у більшості випадків порушене внаслідок появи багатьох щілиноподібних ділянок просвітлення, які відокремлюють деякі групи клітин. У сперматоцитах фігури мітозу практично відсутні, у багатьох сперматидях ядра не визначаються. Кількість сперматозоїдів у просвіті каналця знижена порівняно з інтактними тваринами, іноді трапля-

ються окремі фрагментовані сперматозоїди.

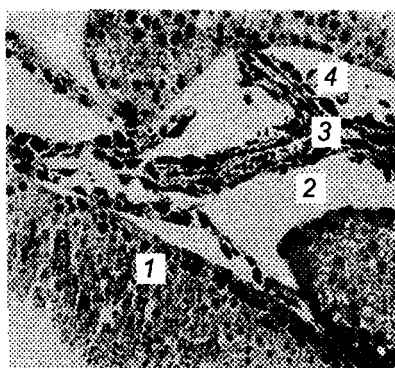
У міжчасточкових сполучнотканинних шарах спостерігається підвищення гідратації, у периваскулярних просторах знаходяться нечисленні лімфоцити, серед яких переважають плазмоцити. У просвіті кровоносних мікросудин визначається скупчення еритроцитів, місцями з явищами складж-феномену.

Аналіз цих змін у балах для оцінки тяжкості патологічного процесу у сім'яниках при введенні пестициду 2,4-ДА подано у табл. 2.

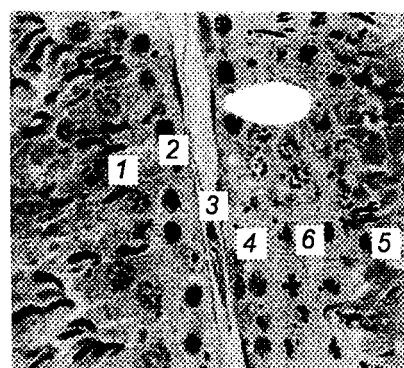
Отже, при морфологічному дослідженні тканини сім'яників виявлено чіткі зміни елементів генеративного епітелію та судин мікроциркуляторного русла, порушені стратифікація та мітотична активність сперматогенного епітелію, спостерігаються явища запалення в інтерстиції. Морфологічні зміни у тканинах сім'яників прямо корелюють з рівнем показників ВРПО ліпідів: встановлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ТБК-реактивних порушеннями мітотичної активності сперматогенного епітелію, ($r=+0,82$); а також між рівнем дієнових кон'югатів та змінами



а



б



в

Рис. 1. Гістоструктура звивистого сім'яного каналця інтактних щурів (а) та при впливі 2,4-ДА (б, в). Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім: а — об. $\times 9$, ок. $\times 20$ (1 — сперматогонія; 2 — сперматоцит II; 3 — сперматид; 4 — капіляр); б — об. $\times 40$, ок. $\times 10$ (1 — стінка каналця; 2 — набряк інтерстиція; 3 — повнокров'я у мікросудинах; 4 — інтерстиціальні клітини); в — об. $\times 20$, ок. $\times 10$ (1 — сперматоцит I; 2 — сперматогонія B; 3 — інтерстиціальний набряк; 4 — сперматогонія A; 5 — сперматоцит II; 6 — поодинокі фігури мітозу)

Таблиця 2

Порівняльна характеристика патологічних змін у тканині сім'яників при тривалому впливі пестициду 2,4-ДА

Патологічні зміни	Інтактні тварини (1-ша група)	Введення 2,4-ДА, 30 діб (3-тя група)
Порушення кровообігу	0	10
Порушення мітотичної активності сперматогенного епітелію	0	11
Порушення стратифікації сперматогенного епітелію	0	12
Зміни типової структури клітин сперматогенного епітелію	0	11
Лімфоцитарні інфільтрації, набряк в інтерстиції	0	10

Примітка. 0 балів — ознака відсутня; 3 бали — зміни слабо виражені (до 25 %); 6 балів — ознака виражена (до 50 % випадків); 12 балів — зміни значно виражені, виявляються майже у 100 % випадків.

типової структури клітин сперматогенного епітелію ($r=+0,80$).

Отримані дані свідчать: токсична дія пестициду 2,4-ДА на тканини сім'яників проявляється на морфологічному рівні й зумовлена інтенсифікацією ВРПО ліпідів, що підтверджують прямі кореляційні зв'язки між біохімічними змінами та порушенням морфологічної структури органів. Враховуючи, що в основі токсичної дії 2,4-ДА на тканини сім'яників лежить активація ВРПО ліпідів, доцільно для їх корекції використовувати препарати з антиоксидантною дією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов. — М. : Медицина, 1990. — 384 с.

2. Профілактика, клініка, діагностика та лікування гострих отруєнь гербіцидами на основі 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти у робітників сільського господарства : метод. рекомендації (затверджені наказом Міністерства охорони здоров'я України 13.03.2010 № 225) / Г. М. Балан, В. В. Вознюк [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. — 2011. — № 1/2. — С. 70–79.

3. Брусов О. С. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О. С. Брусов, А. Н. Герасимов, Л. В. Панченко // Бюллетень экспери-

ментальной биологии и медицины. — 1976. — Т. 81, № 1. — С. 33–35.

4. Гаверилов В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаверилов, А. Р. Гаверилова, Л. М. Мажуль // Вопросы медицинской химии. — 1987. — Т. 33, № 1. — С. 118–122.

5. Забруднення питної води залишками пестицидів, нормування, методи контролю, оцінка ризику / М. Г. Проданчук, О. П. Кравчук, І. В. Лепьошкін [та ін.] // Проблеми харчування. — 2007. — № 2. — С. 12–21.

6. Константинова С. А. Влияние экстремального экологического воздействия пестицидами на эффективность иммунизации крыс Salmonella enteritidis / С. А. Константинова, П. Б. Цыремпилов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2009. — № 2 (66). — С. 109–112.

7. Корнута Н. О. Вплив пестицидів на організм вагітних і розвиток плода. Взаємозв'язок між токсичністю організму вагітної та ембріо/фетотоксичністю (огляд літератури) / Н. О. Корнута, П. Г. Жмійко // Современные проблемы токсикологии. — 2010. — № 2/3. — С. 24–28.

8. Костиленко Ю. П. Методы работы с полутонкими эпиксидными срезами в гистологической практике / Ю. П. Костиленко, Е. В. Ковалев // Архив анатомии. — 1978. — № 12. — С. 68–72.

9. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лабораторное дело. — 1988. — № 1. — С. 16–19.

10. Методы диагностики метаболических нарушений при атеросклерозе и дифференцированное применение противоатеросклеротических средств : метод. рекомендации / О. М. Воскресенский, В. А. Дельва, М. А. Дудченко [и др.]. — Полтава : ПМСИ, 1982. — 26 с.

11. Слесарчук В. Ю. Нейропротекторні ефекти препаратів кверцетину при гострому порушенні мозкового кровообігу в експерименті / В. Ю. Слесарчук, В. І. Мамчур // Одеський медичний журнал. — 2008. — № 4 (108). — С. 3–6.

12. Писарев А. А. Морфологическая и электронномикроскопическая оценка воздействия фострана на сердце экспериментальных животных при различных уровнях нагрузки / А. А. Писарев, В. В. Мизин, П. Н. Колбасин // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. — 2011. — Т. 1, № 1 (1). — С. 8–14.

13. Endocrine disruptive chemicals: mechanisms of action and involvement in metabolic disorders / E. Swedenburg, J. Ruegg, S. Mäkelä [et al.] // Journal of Molecular Endocrinology. — 2009. — Vol. 43. — P. 1–10.

14. Impact of polychlorinated biphenyl Aroclor 1254 on testicular antioxidant system in adult rats / P. Murugesan, J. Senthilkumar, K. Balasubramanian [et al.] // Human Experim. Toxicol. — 2005. — Vol. 24. — P. 61–66.

15. Rhind S. M. Anthropogenic pollutants: a threat to ecosystem sustainability / S. M. Rhind // Phil. Trans. R. Soc. — 2009. — Vol. 364. — P. 3391–3401.