

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

Кузьменко Валерій Анатолійович

УДК 616.699-055.5:614.876

ЧОЛОВІЧА РЕПРОДУКТИВНА СИСТЕМА ВИВОДКУ, ОТРИМАНОВОГО
ВІД ЩУРІВ, ЩО ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ НЕСПРИЯТЛИВИХ ФАКТОРІВ
ДОВКІЛЛЯ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник

Напханюк
Володимир Клеонтійович,
доктор біологічних наук,
професор

Одеса – 2005

З М І С Т

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1 ОСОБЛИВОСТІ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЧОЛОВІЧОЇ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ДІЇ НЕСПРИЯТЛИВИХ ФАКТОРІВ ДОВКІЛЛЯ.....	1
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	30
2.1. Лабораторні тварини і моделювання експерименту.....	30
2.2. Методи досліджень	31
РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ, ВМІСТ МАКРОЕРГІВ ТА СТАН СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ В ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ФІЗІОЛОГІЧНОГО ОНТОГЕНЕЗУ.....	38
3.1. Розвиток чоловічих статевих клітин в пізньому ембріогенезі та постнатальному періоді за фізіологічних умов.....	39
3.2. Стан процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в тканинах сім'яників щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу.....	44
3.3. Особливості вмісту АТФ, АДФ та АМФ в тканинах сім'яників щурів в залежності від етапу онтогенезу.....	54
3.4. Характеристика стану системи циклічних	

	нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу.....	59
РОЗДІЛ 4	СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ, СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ ТА ВМІСТ МАКРОЕРГІВ У ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЩУРІВ ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ САМЦІВ ТА САМОК.....	69
	4.1. Розвиток чоловічих статевих клітин в онтогенезі щурів-самців отриманих від опромінених попередників.....	69
	4.2. Прооксидантно-антиоксидантні взаємовідносини на різних етапах онтогенезу в тканинах сім'яників щурів, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.....	72
	4.3. Вміст макроергів в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу нащадків отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.....	84
	4.4. Особливості вмісту циклічних нуклеотидів та активність ферментів синтезу і утилізації цАМФ в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від опромінених самців та самок.....	89
РОЗДІЛ 5	ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ, АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ, ВМІСТ МАКРОЕРГІВ ТА СТАН СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ	

	НУКЛЕОТИДІВ В ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЩУРІВ ОТРИМАНИХ ВІД АЛКОГОЛІЗОВАНИХ САМЦІВ ТА САМОК.....	98
	5.1. Особливості розвитку чоловічих статевих клітин в пізньому ембріогенезі та постнатальному розвитку щурів отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок.....	99
	5.2. Перекисне окислення ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок.....	102
	5.3. Вміст АМФ, АДФ та АТФ в тканинах сім'яників потомства, отриманого від алкоголізованих самців та самок.....	111
	5.4. Характеристика стану системи циклічних нуклеотидів на різних етапах онтогенезу в тканинах сім'яників щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок.....	117
РОЗДІЛ 6	ОКИСЛЮВАЛЬНО-ВІДНОВНІ ПРОЦЕСИ, СТАН СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ ТА ВМІСТ АДЕНІЛОВИХ НУКЛЕОТИДІВ В ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ОТРИМАНИХ ВІД САМЦІВ ТА САМОК, ЯКІ ЗАНАЛИ СУМІСНОЇ ДІЇ γ-ОПРОМІНЕННЯ ТА АЛКОГОЛЮ.....	129
	6.1 Особливості розвитку чоловічих статевих клітин в пізньому ембріогенезі та в процесі постнатального розвитку щурів	

отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали сумісного впливу γ -опромінення та алкоголю.....	129
6.2. Стан системи ПОЛ-АОС в тканинах сім'яників щурів, отриманих від попередників які зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опомінення, на різних етапах їх онтогенезу	131
6.3 Особливості вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів отриманих від самців та самок які зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення.....	141
6.4. Особливості функціонального стану системи циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від попередників які зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення.....	146
РОЗДІЛ 7 ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	155
ВИСНОВКИ	168
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	170

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,
ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АДФ – аденозиндифосфат

АМФ – аденозинмонофосфат

АОС – антиоксидантна система

АТФ – аденозинтрифосфат

АЦ – аденілатциклаза

ГП – глутатіонпероксидаза

ГТ – глутатіонтрансфераза

ГТБ – гематотестикулярний бар'єр

ДК – дієнові кон'югати

МДА – малоновий діальдегід

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

СОД – супероксиддисмутази

ФДЕ – цАМФ-залежна фосфодіестерази

цАМФ – циклічний аденозин-3',5'-монофосфат

цГМФ - циклічний гуанозин-3',5'-монофосфат

ВСТУП

Актуальність теми. Глобальні масштаби техногенного забруднення та збільшення кількості сімей, в яких під дію несприятливих факторів підпали один або обоє батьків, поставили на порядок денний питання про прогнозування стану здоров'я нащадків та збереження генофонду (Карпенко Н.О. та ін., 2000, Савцова З.Д. та ін., 2000). Особливо актуально це питання стоїть для нашої держави, так як аварія на Чорнобильській АЕС, з опроміненням значної частини населення і радіонуклідним забрудненням великих територій України, створила передумови для погіршення здоров'я нинішнього і багатьох наступних поколінь (Балаєва Л.С. та ін., 2001, Конопля Е.Ф. та ін., 2002, Севанкаєв А.В. и соавт., 2005). До цього слід також додати негативний вплив соціально-побутових факторів (Биков В.Л., 1999), які сприяють розвитку стрес-індукованої патології та розповсюдженню шкідливих звичок (куріння, вживання алкоголю та наркотиків). Окрім цього, зважаючи на появу негативного балансу приросту населення в Україні (Гойда Н.Т., 1998) викликає занепокоєння і питання про вплив сукупності вказаних негативних факторів довкілля на репродуктивну систему. Адже на відміну від усіх інших систем людського організму, зрушення в цій системі проявляються не тільки порушенням її функціонування в даного індивідуума, але і віддзеркалюються на здоров'ї та самому існуванні наступних поколінь (ВОЗ, 2000, Мамина В.П., 2005)

У зв'язку з наведеним нам представляється за доцільне дослідження стану тих критичних метаболічних процесів, які забезпечують фізіологічне функціонування як сперматогенного епітелію, так і сперматозоонів на всіх етапах їх розвитку. До таких систем, згідно існуючих уявлень (Кудряшов Ю.Б., Гончаренко Є.М., 1999), відносяться такі системи, які за фізіологічних умов є бездоганно скоректованими та забезпечують фізіологічну підтримку гомеостазу клітин, незалежно від форм їх розвитку. Порушення рівноваги в таких системах сприяє дезорганізації та дестабілізації метаболічних процесів у клітині, що може призвести навіть до її загибелі.

На жаль в доступній для нас літературі відомостей, що стосуються стану критичних метаболічних систем в тканинах сім'яників та їх впливу на сперматогенез у нащадків, отриманих від попередників які зазнали впливу негативних факторів довкілля, нам знайти не вдалося.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Одеського державного медичного університету і є фрагментом теми „Патогенетичні механізми розвитку захворювань репродуктивної системи за умов дії агресивних факторів середовища та шляхи їх корекції” (№ державної реєстрації 0199U004330). Дисертант є співвиконавцем цієї теми.

Мета і задачі дослідження З'ясувати особливості патофізіологічних зрушень в сім'яниках та процесів сперматогенезу на етапах пізнього ембріогенезу і постнатального розвитку щурів-самців, отриманих від попередників, які перед спарюванням зазнали дії несприятливих факторів.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні задачі:

1. Встановити особливості процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і активності ферментів антиоксидантної системи (АОС), системи циклічних нуклеотидів і вмісту макроергів в тканинах сім'яників щурів за умов фізіологічного онтогенезу.

2. Надати характеристику процесам сперматогенезу на різних етапах фізіологічного онтогенезу.

3. Дослідити вміст продуктів ПОЛ, активність ферментів АОС, стан системи циклічних нуклеотидів і вміст макроергів в тканинах сім'яників та особливості процесів сперматогенезу у щурів, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь.

4. Виявити залежність процесів сперматогенезу від інтенсивності процесів ПОЛ і активності ферментів АОС, стану системи циклічних нуклеотидів та вмісту макроергів на різних етапах онтогенезу щурів, отриманих від радіаційно уражених попередників.

5. З'ясувати залежність процесів сперматогенезу від інтенсивності процесів

ПОЛ і активності ферментів АОС, стану системи циклічних нуклеотидів та вмісту макроергів на різних етапах онтогенезу щурів, отриманих від самців та самок, які перед спарюванням зазнали сумісної дії гама-опромінення і алкогольної інтоксикації

Об'єкт дослідження: патофізіологічні механізми порушень в чоловічій репродуктивній системі виводку, отриманого від щурів, що зазнали впливу несприятливих факторів довкілля

Предмет дослідження: сперматогенез та функціональний стан критичних метаболічних процесів в тканинах сім'яників щурів-самців отриманих від попередників які зазнали впливу негативних факторів.

Методи дослідження: патофізіологічні, біофізичні, біохімічні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі оцінки проведених комплексних експериментальних досліджень вперше встановлено особливості функціонального стану системи ПОЛ-АОС, циклічних нуклеотидів та вмісту макроергів в тканинах сім'яників на різних етапах фізіологічного онтогенезу тварин. Вперше проведені морфологічні дослідження в обсязі який дозволяє прослідкувати динаміку змін як кількісного складу окремих клітин сперматогенного епітелію за умов фізіологічного перебігу сперматогенезу, та і якісного складу сперматозоїдів за даними спермограм. Отримані результати досліджень вперше дозволили ґрунтовно довести, що кожному етапу онтогенезу відповідає певний стаціонарний рівень систем ПОЛ-АОС та циклічних нуклеотидів.

В результаті проведених експериментальних досліджень вперше з'ясовано роль функціональних взаємовідносин ПОЛ-АОС, стану системи циклічних нуклеотидів та вмісту АТФ, АДФ та АМФ у тканинах сім'яників, в патофізіологічних механізмах порушення сперматогенезу на різних етапах онтогенезу щурів, отриманих від попередників, які зазнали впливу γ -опромінення, алкоголю та сумісної їх дії. Вперше визначена глибина розладів у функціонуванні систем циклічних нуклеотидів, ПОЛ-АОС та вмісту макроергів в

залежності від виду негативного чинника, а також виявлена подібність і відмінність їх впливу на функціональний стан сім'яників.

Практичне значення одержаних результатів. Цінність роботи полягає у розкритті раніше невідомих особливостей порушення метаболічних процесів у тканинах сім'яників, та встановлення їх ролі у виникненні зрушень процесу сперматогенезу на різних етапах онтогенезу щурів, отриманих від самців та самок, які перед спарюванням зазнали впливу негативних факторів довкілля. Отримані результати можуть стати підґрунтям для розробки засобів попередження виникнення вад розвитку.

Положення і висновки роботи впровадженні до навчального процесу і використовуються при читанні лекцій та на практичних заняттях кафедр гістології, ембріології та цитології, загальної та клінічної патологічної фізіології, медичної хімії, нормальної фізіології Одеського державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею автора. Дисертантом було проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз наукової літератури за темою дисертації, планування і проведення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, написання та оформлення дисертації. Участь автора у підготовці матеріалів, висвітлених у статтях і тезах, опублікованих у співавторстві, є визначеною і полягає у проведенні літературного пошуку, експериментальних досліджень, статистичної обробки та аналізу отриманих результатів, оформленні висновків.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати досліджень були оприлюднені та доповідалися на 70-й підсумковій конференції студентів та молодих вчених Одеського державного медичного університету (Одеса, 2001), VII Міжнародній науково-практичній конференції „Сучасні досягнення валеології та спортивної медицини” (Одеса, 2001), VIII Міжнародній науково-практичній конференції „Сучасні досягнення валеології та спортивної медицини” (Одеса, 2002), X Міжнародній науково-практичній конференції „Сучасні досягнення валеології та спортивної медицини” (Одеса, 2004).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 8 наукових праць, з них 4 наукові статті у фахових виданнях ВАК України, 4 - тези доповідей на наукових конференціях та з'їздах.

РОЗДІЛ 1

ОСОБЛИВОСТІ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ЧОЛОВІЧОЇ
репродуктивної системи за умов дії несприятливих факторів довкілля

На протязі тривалого часу зміни, які були викликані надходженням до навколишнього середовища продуктів життєдіяльності людини, відносно легко компенсувались звичайними природними процесами. Але, починаючи з середини ХХ сторіччя, бурхливий розвиток промисловості призвів до посилення забруднення біосфери, і воно набуло глобального характеру. Достатньо згадати те, що в теперішній час до атмосфери Землі щорічно викидаються мільярди тон шкідливих речовин, відбувається масивне забруднення водного середовища та ґрунту [148, 157]. До цього слід додати вплив соціально-культурних факторів: стресових станів, порушення біологічних ритмів, зумовлених зміною режимів сну та відпочинку, розповсюдженням шкідливих звичок (куріння, алкоголь, вживання наркотиків). Сукупність всіх цих факторів не може не вплинути на функціонування як окремих систем, так і цілого організму людини.

При оцінці впливу на організм факторів довколишнього середовища, обумовлених антропогенними чинниками слід особливу увагу приділити репродуктивній системі людини. На відміну від всіх інших систем людського організму, негативний вплив на дану систему проявляється не тільки порушенням її функціонування в даного індивідуума, але і віддзеркалюється на здоров'ї та самому існуванні наступних поколінь.

Інтенсифікація досліджень механізмів впливу шкідливих факторів навколишнього середовища на репродуктивну систему була ініційована трагічною аварією на ЧАЕС, яка призвела до опромінення значної частини населення, та радіонуклідному забрудненню великих територій України. В зв'язку з цим набула актуальності проблема біологічної дії хронічного низькоінтенсивного опромінення в малих дозах на організм, особливо у відношенні виникнення віддалених наслідків [65, 85].

Як відомо [104], ефект, який викликається опроміненням, визначається радіорезистентністю (радіочутливістю) тканин. І їх здатністю до відновлення порушень викликаних іонізуючим випромінюванням. Що стосується реакції чоловічої репродуктивної системи, зокрема сім'яників, то вона суттєво відрізняється від реакції більшості інших органів [6,7].

Дослідження проведені в різні роки показали, що реакція гонад на опромінення залежить від ступеню їх диференціації, віку індивідуума, гормонального статусу організму, і звичайно від типу променевого впливу та отриманої дози [68, 87].

Завдяки експериментальним дослідженням було встановлено [8,72], що як у тварин, так і в людини радіаційні ефекти у сім'яниках якісно подібні, але відрізняються кількісно, залежно від видової радіочутливості і ступеню відновлення після опромінення. Іонізуюче випромінювання призводить до руйнування зародкового епітелію сім'яників, при цьому із сім'яних каналців поступово зникають спочатку менш зрілі, а потім більш зрілі клітини [7, 117].

Після опромінення звичайно наступає період фертильності, що забезпечується резервом зрілих сперматозоїдів, які були на час опромінення, а потім настає період стерильності [27, 29]. Тривалість цього періоду залежить від дози опромінення [68, 72, 75]. Тимчасову стерильність у більшості видів ссавців спричиняє доза близька до LD_{50} для кожного із них. Стерильність є наслідком нестачі сперматогенних елементів і сперматозоонів. Адже, як відомо [104], більш радіаційну вразливість мають субпопуляції клітин, які активно розмножуються. Незважаючи на дану патологію, зниження статевої потенції та потягу не спостерігається [36, 73].

Якщо застосовано не надто великі дози опромінення, то за періодом тимчасової стерильності настає період фертильності внаслідок регенерації тканин сім'яників за рахунок сперматогоній, які не зазнали негативного впливу іонізуючого випромінювання. Із відновленого сперматогенного епітелію розвиваються статеві клітини. Але при експериментальних дослідженнях сперматогенезу після опромінення [14, 15] відзначається поява у статевих клітинах збільшення числових та структурних хромосомних аберацій. Особливо чутливими до променевого ураження виявились такі стадії мейозу як метафаза I та метафаза II [6]. Ці зрушення призводять до виникнення домінантних летальних мутацій, які зумовлюють загибель зиготи, або смерть ембріонів.

Численні клінічні дослідження генеративної функції чоловіків, які приймали участь в ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС виявили помітні

відхилення по ряду показників сперматограми [37, 39, 97]. Приблизно у кожного п'ятого пацієнта виявлена оліго-, астено-, некро- або тератоспермія. Відмічено збільшення кількості незрілих статевих клітин в еякуляті. Виявлено зниження концентрації лимонної кислоти, фруктози і іонів цинку в еякуляті, що свідчить про порушення фізіології додаткових статевих залоз. Дані ультразвукових досліджень підтверджують наявність конгестивного хронічного простатиту або простовезикуліту. Сексологічне тестування дозволило виявити у третини пацієнтів порушення копулятивної функції, яка супроводжується зниженням психогенної мотивації статевого акту.

В результаті експериментальних досліджень [10, 60] були встановлені мінімальні дози, що спричиняють помітні ушкодження сперматогенного епітелію та генетичні ураження статевих клітин, які можуть призвести до вад розвитку нащадків. Відмічено, що навіть доза 1,0 Гр. зумовлює зниження кількості сперматозоїдів протягом року [21].

Як уже відмічалось, ефект прояву впливу іонізуючого випромінювання залежить не лише від дози, а й від віку індивідуумів які підпали під її вплив. Ґрунтовні дослідження впливу іонізуючого випромінювання на сім'яники, виконані після опромінення ембріонів і дорослих мишей, дозволили зробити висновок про значно вищу радіочутливість сім'яників мишей у період ембріогенезу порівняно з їх чутливістю у дорослих тварин. Найбільш чутливими виявились сім'яники мишей опромінених на 15-17 добу ембріогенезу. Очевидно, це обумовлене тим, що саме в цей період у мишей

відбувається інтенсивне диференціювання клітин сперматогенного епітелію [106, 110].

У серіях дослідів на тваринах доведено, що сім'яники новонароджених тварин опромінених у першу добу життя дозами 0,2 – 8 Гр, більш радіочутливі, ніж дорослих тварин [98]. В подальших дослідженнях на щурах, опромінених на 20 добу вагітності в дозі 2,6 Гр, вивчали стан сім'яників і надниркових залоз на 21 добу після народження. Встановлено, що сперматогенний епітелій звивистих каналців був атрофований, і виявлялися лише клітини Сертолі. Крім морфологічних змін було відмічено зниження продукції прегненолону, прогестерону, а також багатьох ферментів обміну стероїдів [150].

Вивчення репродуктивної функції щурів віком 90 діб, які у віці 8 діб підпали під дію γ -опромінення в дозі 0,006 Гр, виявлено, що 29% опромінених самців були стерильні і мали дегенеративні або некротичні зміни у сім'яниках [140].

Визначення залежності реакції сперматогенного епітелію тварин пубертатного віку на локальне опромінення сім'яників в дозах 1; 2; 3; 4; 5; 10; 15 і 20 Гр засвідчило, що маса сім'яників значно зменшувалася після опромінення дозами 10 Гр і вище. Ефективна доза за критерієм виникнення дисфункції клітин Сертолі, оцінена за концентрацією андрогензв'язуючого білка, була визначена як 5 Гр. Значне зниження концентрації цього білка, що спостерігалось через 8 тижнів після опромінення, не вирівнювалось протягом

36 тижнів. Рівень фолікулостимулюючого гормону у плазмі крові був значно підвищеним. Наведені результати ще раз підтверджують більшу радіочутливість до опромінення сім'яників тварин пубертатного віку, ніж дорослих [72].

Порушення репродуктивної функції у людини відмічено і при дії мікрохвильового випромінювання [155]. Механізм пошкоджуючої дії, при цьому, проявляється в підвищенні температури гонад. Температурний фактор є досить важливим для процесу сперматогенезу. Завдяки екстракорпоральному розташуванню сім'яників, їх температура у людини звичайно на декілька десятків градусів нижча, ніж температура тіла. Останнє є необхідною умовою для сперматогенезу. Гостре і хронічне перегрівання гонад, пов'язане з виробничою гіпертермією, а також з рядом захворювань (варікоцеле, крипторхізм), призводить до значних змін сперматогенезу, що, нерідко, закінчується азооспермією і атрофією тканин сім'яників [167]. В останні десятиріччя серед фізичних факторів, які порушують репродуктивну функцію, виділяють вібрацію. В клініці професійних захворювань утвердилась нова нозологічна форма – вібраційна хвороба. Виявлено, що під дією довготривалої вібрації відбуваються зміни гормонального гомеостазу організму. Початковим етапом порушень, є порушення функції гіпоталамуса. Найбільш часто спостерігається збільшення продукції глюкокортикоїдів, що в свою чергу призводить до зміни у функціонуванні багатьох залоз внутрішньої секреції, в тому числі і сім'яників. Наслідком цього є порушення

сперматогенезу різного ступеню важкості, що проявляється як у зменшенні числа сперматозоїдів у еякуляті, так і зниженні їх рухливості. Все це може призводити до чоловічого безпліддя [149].

При аналізі впливу на репродуктивну систему хімічних факторів слід перш за все зупинитися на комплексно-лабораторних дослідженнях останніх років. Вдалося показати, що токсиканти, які знаходяться в оточуючому середовищі, можуть бути виявлені в тканинах гонад, і навіть у сім'яній рідині [139]. Існують данні про виявлення у працівників ряду промислових підприємств у сім'яній рідині свинцю, магнію, цинку, селену, фтору у концентраціях, які перевищують максимально допустимі норми [163]. При дослідженні біоптатів сім'яників у робітників, які на виробництві контактували з дибромхлорпропаном, і звернулися до лікарів з приводу бездітності, були виявлені дегенеративні зміни сперматогоній та різке зменшення їх кількості [167]. Все це супроводжувалось зменшенням кількості сперматозоїдів в еякуляті, зниженням їх рухливості, та збільшенням кількості морфологічно аномальних форм. Визначено, що такі метали як кадмій, марганець, ртуть та свинець, які попадають до організму, порушують диференціювання сперматоцитів і сперматид, і при цьому розвивається оліго-, астено і тератоспермія [163]. Хоча для остаточного доказу значення перерахованих вище хімічних речовин в патології репродуктивної функції та з'ясуванні механізмів їх дії необхідні подальші дослідження, ці факти заслуговують на особливу увагу.

Одним із проявів негативного впливу хімічних речовин на репродуктивну функцію є здатність до зміни характеру секреції передміхурової залози та сім'яних пухирців, що таким чином впливає на якість сперми. Іншим патофізіологічним механізмом може бути те, що токсиканти, які проникають до сім'яної рідини, можуть адсорбуватися на сперматозоїдах і переноситися до місця запліднення, і таким чином негативно впливати на яйцеклітини, сам процес запліднення і зародки на ранніх стадіях розвитку.

Однак не всі хімічні речовини при їх звичайних концентраціях в організмі можуть подолати гематотестикулярний бар'єр. В той же час вони досить легко долають гематоенцефалічний бар'єр, і опосередковано через центральні органи ендокринної системи впливають на функціонування гонад. Ці факти були підтверджені при вивченні стану здоров'я працівників на підприємствах пов'язаних з виробництвом пестицидів і гербіцидів, для виготовлення яких у технологічних процесах використовують фтор, фосфор та ряд важких металів. Показано, що у названого контингенту працівників на фоні зміни продукції гормонів гіпофіза, наднирників та щитовидної залози, зазнає змін і секреція тестостерону, що в свою чергу призводить до порушення процесу сперматогенезу [167]. Аналогічні зміни спостерігаються за умов дії таких фізичних факторів як шум та занадто високі фізичні навантаження [149].

Опосередковано через центральні регулюючі механізми може впливати на репродуктивну функцію такий несприятливий фактор, як тютюнопаління. У чоловіків які палять відмічено зниження секреції тестостерону, концентрації сперматозоїдів в еякуляті, їх рухливості та запліднюючої здібності. Цей ефект пов'язують з порушенням функціонування клітин Лейдига і Сертолі, а також з прямим цитотоксичним впливом на сперматогенні клітини [159, 162].

Негативно впливають на репродуктивну систему і наркотичні речовини. Героїн і барбітурати пригнічують секрецію гонадотропінів, що в свою чергу призводить до порушення процесу сперматогенезу [144].

До середових, безумовно, слід віднести і соціально культурні фактори. Серед них особливо слід відмітити впливи, пов'язані з “міською культурою”: інформаційне перенапруження, порушення режимів сну і відпочинку. Необхідність адаптації до вказаних факторів призвела до появи такого явища як акселерація, що одночасно призвело до конфлікту між генетично запрограмованими адаптаційними можливостями організму і вимогами, які висуваються до них все більш зростаючою кількістю інформаційних сигналів із соціально-біологічного середовища. Результатом такого конфлікту став ріст психоемоційних перенапружень організму, та розвиток стресорних станів.

В сучасному світі стрес є постійним, і у визначеній мірі, необхідним супутником людини. Однак надмірні стресові подразнення можуть негативно відбитися на ряді функцій організму людини, в тому числі і репродуктивній.

Загальний синдром адаптації, стрес, являє собою неспецифічний компонент фізіологічних і патологічних реакцій живих систем на подразнення, і визначає ступінь мобілізації системи до підтримання гомеостазу на рівні організму, системи, органу, клітини і навіть клітинних органел [16]. В більш вузькому розумінні, стосовно до вищих організмів і людини, стрес означає загальну неспецифічну нейрогуморальну реакцію, яка виникає в організмі за умов, що негативно впливають на гомеостаз [38].

Для того, щоб зрозуміти як стрес впливає на репродуктивну систему, необхідно розглянути основні принципи і механізми реалізації стресових чинників (агентів).

Стрес-реакція розвивається у відповідь на дію незвичних по якості, силі і терміну впливу подразників, шляхом активації двох провідних стрес-реалізуючих систем: гіпоталамо-симпато-адреномодулярної і гіпоталамо-гіпофізо-кортикоадреналової, що супроводжується збільшенням надходження до циркуляції їх гуморальних продуктів – катехоламінів і глюкокортикоїдів [81]. Внаслідок активації цих систем розвиваються типові прояви стрес-реакції у людини, таких як гіпертрофія кори наднирників, інволюція тиміко-лімфатичної системи та виникнення шлункових язв і кровотеча, це так звана тріада Сельє.

Таким чином, стрес являє собою стереотипну, одну із найстаріших в еволюційному аспекті, генетично детерміновану адаптивну реакцію живої системи, яка запускається у відповідь на вплив різносторонніх екстремальних агентів. Цілком логічно стверджувати, що для будь якої реакції необхідні відповідні механізми, які б запускали дану реакцію. Для запуску механізму стрес-реакції припускається існування первинного медіатора-посередника між зовнішнім впливом і активацією реалізуючих стрес-систем .

На думку деяких дослідників [20] для запуску стрес-реакції може служити стереотипна і біологічно важлива зміна внутрішнього середовища клітин організму. І таким сигналом служить зрушення в системі оксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік активації процесу перекислого окислення ліпідів (ПОЛ).

Перекисне окислення ліпідів це фізіологічний процес, який є необхідним компонентом життєдіяльності будь якої клітини, що забезпечує в організмі синтез холестерину, простагландинів, прогестерону, піно- та фагоцитоз [82]. Даний механізм лежить в основі оновлення та перебудови біологічних мембран, регуляції їх складу, проникності та активності мембранозв'язуючих ферментів [22]. За своєю хімічною природою ПОЛ це варіант вільно радикального окислення, під який підпадають всі без виключення сполуки, однак найбільш чутливі до нього є ліпіди, в першу чергу ненасичені жирні кислоти. Само по-собі вільно радикальне окислення є самоіндукуючимся ланцюговим процесом, який реалізується в

безпосередньому переносі кисню на субстрат з утворенням перекисів, кетонів та альдегідів [58]. Частіше всього ініціаторами даного процесу є активні форми кисню. Сам по собі цей елемент не є шкідливим для клітин, але при відновленні його утворюються активні і токсичні інтермедіати, такі як, перекис водню, супероксиданіон, гідроксильний радикал і т.ін. [94]

В організмі постійно відбувається утворення активних форм кисню. На молекулярному рівні цей процес визначається переносом електронів НАДФ-оксидазного комплексу, котрий здатний до відновлення молекулярного кисню в присутності відновленого НАДФ. В результаті молекула кисню відновлюється за рахунок НАДФН до супероксиданіону [134]. Крім того, цей продукт одно- електронного відновлення кисню утворюється під дією ксантинооксидази, альдегідоксидази, діоксидази, а також спонтанно за рахунок авто окислення гідрохінонів, катехоламінів та лейкофлавінів [42, 94]. Супероксиданіон під дією ферменту супероксиддисмутази перетворюється в перекис водню, котрий в свою чергу, в присутності двовалентного заліза може модифікуватися в гідроксильний радикал. Крім того, супероксиданіон здатний вступати до взаємодії з перекисом водню по реакції Габера-Вайса, що також призводить до утворення самого активного із ініціаторів вільно радикального окислення – гідроксильного радикалу, продукту трьох електронного відновленого кисню [32, 42]. Даний радикал відповідає за цілий ряд токсичних ефектів, особливо в присутності металів з перемінною

валентністю, серед яких максимальною активністю володіють іони заліза [47, 94].

Гідроксильний радикал і гідро перекиси ліпідів запускають нові ланцюги вільно радикальних, що замикає вадне коло і створюють благочинні умови для виходу процесу із під контролю захисних гомеостатичних систем, причому, чим більший вміст в ліпідах поліненасичених жирних кислот, тим вища швидкість їх переокислення. Крім того, слід відмітити, що ступінь пошкоджуючої дії кисню залежить від його парціального тиску [58] і від наявності іонів металів перемінної валентності, котрі здатні вступати до реакції ініціювання, розгілкоування та можуть „обірвати” ланку вільно радикального окислення [23].

Первинні продукти ПОЛ – гідроперекиси ліпідів, є достатньо нестійкими речовинами, котрі підпадають під подальше окислення з утворенням більш стійких вторинних продуктів: альдегідів, кетонів, спиртів та низькомолекулярних кислот [1]. Серед продуктів ПОЛ, що утворюються внаслідок повторних атак окисників на ненасичені жирні кислоти, ключове місце займає малоновий діальдегід.

Такий детальний розгляд процесу ПОЛ обумовлений тим, що ненасичені жирні кислоти, основний субстрат ліпідної пероксидації, є необхідним і обов'язковим компонентом любої біологічної мембрани [58, 67]. Таким чином, негативні наслідки стимуляції ПОЛ відображуються, в першу чергу, на стані всіх без виключення клітинних мембранах. Включення

до складу ненасичених жирних кислот гідроперекисних угруповань підвищує їх гідрофільність, що призводить до взаємної переорієнтації жирно кислотних залишків і об'єднанню їх в перекисні кластери. Поява останніх призводить до виникнення нових каналів проводимості внаслідок латентної дифузії молекул в мембрані, сприяє пониженню текучості, підвищенню жорсткості мембран та порушенню білок-ліпідних взаємовідносин. Все це перешкоджає конформаційним перетворенням ферментів в ригідному матриксі, і призводить, частіше всього, до зниження їх активності. Поява зон з різною в'язкістю може супроводжуватися концентруванням рецепторів та утворенням рецепторних кластерів зі зміненою чутливістю до гормонів [32, 46].

Подібні мембранні зміни стосуються і внутрішньоклітинних мембран. По „нових” каналах для проводи мості до клітин спрямовуються іони кальцію, котрі в досить великій мірі активують фосфоліпази, які вивільнюються із лізосом. Внаслідок дії фосфоліпаз утворюються лізоформи та вільні жирні кислоти, котрі володіють детергентними властивостями. Вказані процеси ще більше порушують структуру мембрани клітин, і роблять їх ще більш уразливими для продуктів ПОЛ [24, 58, 78].

Актуальність розгляду даних процесів стосовно репродуктивної системи людини, зокрема сім'яників, обумовлена тим, що у всіх багатоклітинних організмах, сперматогенез відбувається у визначеному і конкретному мікрооточенні. Дане мікрооточення обумовлене багатьма

факторами, але найголовніше місце посідає відкритий у 1967 році спеціальний гематотестикулярний бар'єр (ГТБ).

Основною функцією гематотестикулярного бар'єру є захисна. Вона проявляється в забезпеченні вибіркового надходження речовин (метаболітів, гормонів і т.д.) із кровоносного русла до сім'яних канальців і у зворотному напрямку, а також у перешкоджанні проникненню плазми крові до сім'яних канальців, тим самим забезпечується можливість розвитку аутоімунної агресії [43]. Окрім участі у підтримці імунного гомеостазу, гематотестикулярний бар'єр здатний підтримувати і гормональний гомеостаз у звивистих сім'яних канальцях, що сприяє забезпеченню нормального протікання спермато- та сперміогенезу, і в кінцевому підсумку дозріванню повноцінних чоловічих гамет.

Фізіологічне функціонування гематотестикулярного бар'єру забезпечується відкритими міжклітинними з'єднаннями міоїдних клітин м'язової оболонки кровоносних судин і особливим типом міжклітинних контактів підтримуючих клітин сперматогенного епітелію (клітин Сертолі), останні більш ефективні, а у вищих ссавців тільки вони і мають [135]. Особлива локалізація цих міжклітинних контактів сприяє утворенню двох відділів всередині сперматогенного епітелію звивистих сім'яних канальців: базального та адлюмінального. Доказом того, що спеціалізовані зв'язки між клітинами Сертолі виконують бар'єрну функцію є те, що деякі речовини, наприклад лантан, вільно проникають до базального відділу, але не

проходять через з'єднання між підтримуючими клітинами до адлюмінального відділу [136]. В додаток до бар'єрної щільності з'єднання між цими клітинами поділяють статеві клітини, що розвиваються, на два класи, в залежності від їх положення в тому чи іншому відділі епітеліального шару [96].

Розділивши умовно основні неблагоприємні фактори, які впливають на активність сперматогенезу, на три групи:: хімічні, фізичні та побутові, серед побутових слід виділити вплив алкоголю.

Перші спостереження, які торкаються стану чоловічих гонад при алкоголізмі, зроблені ще в XIX столітті. Хоча вони і обмежувалися, в основному, тільки описом макроскопічного виду сім'яників, але уже на той час було відмічено значне зменшення їх у осіб які зловживали алкоголем.

Клінічні, патоморфологічні і біохімічні, дослідження, і отримані завдяки їм данні, находили своє підтвердження в експериментальних дослідженнях на тваринах, і дозволили уточнити та розширити уявлення про патогенетичні механізми токсичного впливу алкоголю на паренхіму сім'яників.

Цікавими є дані отримані дослідниками [143], яким вдалося встановити в експерименті на білих мишах той факт, що тестикули затримують більше, ніж інші органи, кількість алкоголю, який, на думку авторів, ушкоджує мембрани статевих клітин. Але, як свідчать інші дослідження, гонадотоксичністю володіє не сам спирт, а продукти його окислення –

НАДФН та ацетальдегід. Останній зв'язується з макромолекулами, в тому числі з білками хроматину. І призводить до зміни фізико-хімічних і імунологічних властивостей, напряду інгібує ферменти стероїдогенезу [160, 161]. Основним джерелом уксусного альдегіду в організмі, який поступає в периферійні органи, є печінка. Однак, якщо врахувати, що для ацетальдегіду в сім'яниках існує сильний гематотестикулярний бар'єр [135], то питання про можливість інтратестикулярного окислення етанолу набуває сенсу.

Експериментальні дослідження показали, що ураження тканин сім'яників при довготривалій алкоголізації тварин не відрізняється специфічністю [128, 130]. Цей факт заслуговує особливої уваги, так як він демонструє відсутність при довготривалій алкогольній інтоксикації закономірних зв'язків між ураженням сім'яників і інших органів, зокрема печінки, яка є для алкоголю органом-мішенню [143]. Підтвердженням даного припущення можуть бути прижиттєві гістологічні дослідження, які були проведені у 30 хворих на хронічний алкоголізм, при односторонній біопсії печінки і сім'яників [151]. Дані дослідження показали відсутність взаємозв'язку між захворюванням печінки (особливо цирозом) і тестикул. Подібні дослідження підтверджують думку про прямий токсичний вплив алкоголю на паренхіму сім'яників, в результаті котрого, вже на початковій стадії розвитку алкоголізму, виникають порушення сперматогенезу, які призводять до зниження кількості сперматозоїдів в 1 мл. еякуляту [164]. У хворих які страждають на хронічний алкоголізм відмічено не тільки

зменшення числа сперматозоїдів, але і появу в сім'яній рідині великої кількості біологічно неповноцінних форм сперматозоїдів і збільшення кількості морфологічно неповноцінних сперматозоїдів, спостерігається поява в еякуляті „молодих” клітин сперматогенезу, що свідчить про пригнічення сперматогенезу на стадії сперматид [165]. Підтвердженням того, що негативний вплив алкоголю на сперматогенез найбільш виражений у чоловіків котрі стали вживати його в період формування статевої функції, стали дослідження, проведені у 708 чоловіків, із котрих 251 вживали його помірно, а 457 – систематично і у великих кількостях [174]. В результаті цих досліджень було встановлено значне зменшення числа сперматозоїдів в еякуляті (в середньому на 43% менш ніж в контролі), пригнічення їх активності та рухливості.

Електронно-мікроскопічне дослідження сперматозоїдів, взятих у 25 чоловіків, котрі страждали на хронічний алкоголізм, виявлено зникнення гранулярності хроматину, появу вакуолей на периферії ядра, не типовість або розірваність акросоми, порушення однорідності клітинної мембрани, зміни мітохондріальної спіралі, зміну числа волокон осьового апарату, досить рідко спостерігалась наявність центріолі [146].

Не дивлячись на досить достатню кількість досліджень впливу алкоголю на чоловічі статеві клітини, що розвиваються, данні про патогенез і морфологію цього процесу залишаються д теперішнього часу суцільно фрагментарні. Спроби гістохімічного аналізу різних ферментативних систем

статевих чоловічих клітин що розвиваються при хронічній алкогольній інтоксикації були безуспішні.

В сучасній літературі з'являється все більше даних які свідчать, що при хронічному алкоголізмі порушується не тільки гермінативна функція, але і ендокринна функція сім'яників, яку пов'язують з діяльністю інтерстиціальних клітин (клітин Лейдига) і суспендоцитів (клітин Сертолі) [13].

Багато авторів відмічають на початковій стадії алкоголізму деяку гіперплазію інтерстиційних клітин з незначним накопиченням в їх цитоплазмі ліпофусцину, а у випадку хронічного алкоголізму, який призводить до атрофії гонад – зменшення числа клітин Лейдинга, що супроводжується пігментною дегенерацією цитоплазми цих клітин [40].

На порушення ендокринної функції вказують також і клінічні та біохімічні дослідження. Використовуючи радіоізотопний метод і зіставивши отримані дані з результатами клінічного обстеження дозволило авторам зробити висновок, що при хронічному алкоголізмі відбувається зниження функціональної активності сім'яників, що зумовлено токсичним впливом алкоголю. При спеціальному ендокринному обстеженні 128 хворих на хронічному алкоголізмі дослідниками відмічені явні ендокринні порушення, зокрема симптом зворотного розвитку вторинних статевих ознак, атрофію передміхурової залози і гінекомастію [41].

Дослідження андрогенної активності тестикул, яка визначалась по екскреції 17-КС з сечею у хворих на хронічний алкоголізм, відмічено пригнічення екскреції естрогенів. Але існують роботи в яких викладені зворотні дані. Так дослідження інкреторної функції сім'яників у 97 чоловіків, які страждали алкоголізмом, на основі досліджень екскреції з сечею естрогенів і 17 – КС, показали що у чоловіків з алкогольним стажем більше 10 років посилюється гормональна активність гонад, тобто посилюється активність як естрогенів так і андрогенів [54].

Не дивлячись на деяку протиречивість у висновках авторів про зміну ендокринної функції чоловічих гонад, безперечним є той факт, що при хронічному алкоголізмі інкреторна функція органу суттєво порушується.

Вказані вище факти, що свідчать про зміни гістологічної структури чоловічих гонад, зміни в ендокринній функції сім'яників та грубі порушення морфологічної будови цитоплазми і ядра статевих клітин можуть викликати у хворих на хронічний алкоголізм не тільки розвиток статевої слабкості, але і здійснити суттєво негативний вплив на їх нащадків.

Отже, з'являється ще одна проблема, яка в останній час набула не аби якої актуальності, і це питання стосується опосередкованої дії неблагоприємних факторів навколишнього середовища через батьків на їх нащадків. В сучасній літературі накопичено достатню кількість робіт які вказують на актуальність цієї проблеми. Так, аналізуючи роботи про опосередкований вплив алкоголю можна відмітити три напрямки досліджень:

1) при умові що зловживав алкоголем тільки батько; 2) зловживала алкоголем тільки мати, як до так і після вагітності; 3) обоє батьків зловживали алкоголем.

В роботах, присвячених дослідженню зловживання алкоголем тільки батька, відмічаються порушення як фізичного так і психічного розвитку їх дітей. Так при обстеженні 86 дітей у віці від 3 місяців до 15 років, у котрих батько страждав алкоголізмом, порушення нормального розвитку було виявлено у третини із них [63]. Данні деяких авторів [64] вказують на те що, алкоголізм батьків сильніше відображається на психічному розвитку нащадків, ніж на фізичному. При обстеженні 64 дітей і підлітків із 22 сімей, були визначені 2 групи: 1) 10 дітей були зачаті в початковий період розвитку алкоголізму у батька; 2) 31 дитина – в період розвинутого алкоголізму. Майже у всіх дітей першої групи при задовільних фізичних та соматичних станах, було відмічено затримку розвитку мови, діти відмічалися пасивністю та нездатністю до засвоєння шкільної програми. Ведучим симптомом в клінічній картині дітей другої групи була розумова відсталість, яка характеризувалась зниженням пізнавального процесу, зниженням пам'яті, уваги, бідністю уяви. У 15 дітей у віці 7-19 років відмічалися неврози та астенії.

Ще більш тяжкі порушення в розвитку та здоров'ї були виявлені при обстеженні дітей в сім'ях яких алкоголем зловживала мати, як до так і під час вагітності. При обстеженні матерів, які страждали на хронічний алкоголізм, та

їх дітей було виявлено велику частоту різних патологічних факторів: патологію вагітності (46,5%) та патологію пологів (53,5%), синдром загальмованості або збудження у дітей в перші місяці життя (47,8%) та соматичні порушення у дітей в перші роки життя (79%) [84].

Іншими дослідниками [92] було підтверджено, що алкогольна інтоксикація у матерів збільшує ризик зниження маси тіла, окружності голови і відставання фізичного розвитку у дітей. Такий стан справ призвів до появи нового терміну – „алкогольний синдром плоду” [63]. Цей синдром характеризується відставанням пре- і постнатального росту, мікроцефалією, порушенням морфогенезу серця і мозку, моторними дисфункціями у дітей.

Не дивлячись на різноманіття літературних даних, які стосуються даної проблеми, в літературі майже не зустрічаються роботи, які б були присвячені дослідженню впливу алкоголю на репродуктивну систему нащадків хворих на алкоголізм. Але і ті поодинокі дослідження вказують на не однозначні зміни з боку чоловічої репродуктивної системи нащадків, батьки яких страждали на алкоголізм. Так, ряд авторів, які вивчали вплив алкоголю на гонади самців щурів та їх нащадків, відмітили зменшення концентрації і пригнічення рухливості сперматозоїдів, збільшення числа їх патологічних форм, пригнічення сперматогенезу [129]. Звертає на себе увагу встановлений факт опосередкованого, через попередників, однонаправленого пошкоджуючого впливу алкоголю на гонади нащадків. Не дивлячись на менш виражені, ніж у самців-батьків, зміни процесів сперматогенезу в

гонадах щурят, ступінь функціональних порушень стану сперматозоїдів у них була практично такою ж як і у їх батьків. Виключенням стало число патологічних форм сперматозоїдів, яка виявилась навіть більшою у щурят отриманих від алкоголізованих батьків.

Ще більш цікавими є данні про можливість порушення процесу сперматогенезу у нащадків отриманих від батьків які зазнали впливу іонізуючої радіації.

Проблема генетичних наслідків опромінення осіб репродуктивного віку залишається однією із найактуальніших. Наявність спадкових радіаційних ефектів, на сьогодні, встановлено як у модельних експериментах на різних біологічних об'єктах [8, 14], так і у клінічних спостереженнях за станом дітей, батьки яких зазнали професійних радіаційних уражень [21]. Мутації спадкових структур, які виникають під впливом іонізуючого випромінювання, можуть проявлятися порушеннями з боку різних органів та систем, в тому числі і з боку репродуктивної системи [27]. На підтвердження цього є дані отримані при дослідженні впливу гамма-опромінення на сперматогенез щурів та їх нащадків першого покоління [28, 29]. В результаті цих досліджень було встановлено, що при оцінці сперматогенезу у нащадків отриманих від опромінених батьків по ряду кількісних морфологічних критеріях: числу звивистих каналців з відсутністю стовбурових клітин сперматогенезу, числу звивистих каналців зі спустошенням каналців та відшаруванням статевих клітин в просвіт

звивистих канальців, оцінці стадій сперматогенезу на ста поперечних зрізах звивистих сім'яних канальців, відмічається зниження індексу сперматогенезу. Поряд с цим достовірно знижується число звивистих сім'яних канальців в яких б знаходилися статеві клітини на третій та четвертій стадіях розвитку, тобто порушується процес сперміогенезу. Також було відмічено зниження числа сперматозоїдів в еякуляті і збільшення числа звивистих сім'яних канальців з відшаруванням сперматогенних клітин [49].

Наведені вище факти є доказом того, що опромінення батьків негативно віддзеркалюється на сперматогенній функції сім'яників їх нащадків, що проявляється порушенням міжклітинних контактів як між самими статевими клітинами, так і між статевими клітинами та клітинами Сертолі, що в подальшому призводить до дегенерації статевих клітин і злуцвання їх до просвіту звивистих канальців. Все це в кінцевому результаті призводить до зниження числа повноцінних, зрілих сперматозоїдів [65, 68, 72].

Провівши аналіз доступної нам літератури, та підводячи підсумок, звертає на себе увагу той факт, що не дивлячись на достатню кількість робіт, які присвячені дослідженню впливу негативних факторів довкілля на організм людини та тварин в цілому, і на репродуктивну систему зокрема, більшість робіт носить описовий характер і зводиться до констатації факту зрушень, а от робіт, які б допомогли зрозуміти патофізіологічні механізми, які лежать в основі цих зрушень, дуже мало.

Саме цій актуальній проблемі і присвячена наша робота. Результати, які ми плануємо отримати, допоможуть в розробці засобів профілактики порушень репродуктивної функції, які виникають під впливом негативних факторів навколишнього середовища.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Лабораторні тварини та моделювання експерименту

Експериментальні дослідження проведені на лінії Вістар. Усі тварини утримувалися за стандартних умов віварію [69]. Дослідження планували враховуючи основні положення моделювання експериментів по вивченню спадкових ефектів у ссавців [88]. У відповідності до мети та задач дослідження експеримент був розподілений на дві частини.

Перша частина заключалася в моделюванні впливу несприятливих факторів оточуючого середовища (радіація в низьких дозах, алкоголь). Для цього було використано 53 самці та 147 самок віком три місяці та вагою 180-200 г. Самок відбирали таким чином, щоб вони знаходились на одній стадії естрального циклу, останню визначали за допомогою мазків з піхви [100].

Експериментальні тварини піддавали тотальному γ -опроміненню на гама терапевтичній установці АГАТ-Р (ізоотоп ^{60}Co). Опромінення проводили натщесерце о 9-й годині ранку, за наступних технічних умов: потужність 107 рад/хв, відстань від джерела до поля 0,75 м; поле 20x20 см; одноразова доза 0,1 Гр (експозиція 6 с) кожні 72 години до досягнення сумарної дози 1,0 Гр. Тварин розміщували у спеціально виготовлених клітках-фіксаторах з органічного скла. Дозиметричний контроль проводився дозиметричною службою Одеського онкологічного диспансеру, на базі котрого проводили опромінення.

При виборі методу алкоголізації нами використана методика вільного вибору з використанням 5% водного розчину алкоголю і води [77], як одного із найбільш адекватних методів.

Тварин розміщували в індивідуальних клітках 20x30x15, які були оснащені мірними поїлками з 5% водним розчином спирту та водою, котрі кожний день міняли місцями. Кожний день визначали кількість алкоголю та

води які вживалися тваринами. Пристрасть до алкоголю вважали набутою тоді, коли тварини стабільно віддавали перевагу водному розчину алкоголю, і його добове вживання не підпадало різким коливанням. Для виявлення синдрому абстиненції щурів через 2,5 місяці лишали спирту на 7 днів, після чого вони знову мали змогу вільно вибирати між алкоголем та водою. Оцінювали реакції поведінки на протязі деприваційного періоду і кількість алкоголю, що вживався після відновлення алкоголізації.

Відбір самок для запліднення та визначення першого дня вагітності проводили за методиками отримання тварин з точно датованим строком вагітності [69].

Друга частина експерименту була проведена на 106-ти 15-денних ембріонах та 247 щурах-самцях отриманих від опромінених та алкоголізованих перед спарюванням самців та самок. З отриманих нащадків було сформовано для дослідження вісім груп за віковим цензом: I група - 15-денні ембріони; II - 5-денні щурята; III - 2-тижневі щурята; IV - 1-місячні щурі; V - 3-місячні щурі; VI - 6-місячні щурі; VII - 12-місячні щурі; VIII - 24-місячні щурі. Щурів забивали шляхом швидкої декапітації під ефірним наркозом. Вилучали сім'яники, зважували, та заморожували їх в рідкому азоті.

Об'єктом для дослідження були тканини сім'яників.

2.2 Методи досліджень

Для того, щоб отримати уявлення про перекисне окислення, яке відбувається в тканинах живих організмів, доцільно було визначити вміст дієнових кон'югатів (ДК), які з'являються на початкових етапах ПОЛ, та малонового диальдегіду (МДА) – одного з найбільш важливих кінцевих продуктів вказаного процесу. Найважливішим критерієм функціонального стану ферментативної системи антиоксидантного захисту являється активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази, які забезпечують нейтралізацію активних форм кисню – супероксиданіону та перекису водню, пригнічуючи тим самим процес ліпопероксидації на стадії його ініціації.

Враховуючи те, що в нашому експерименті використовувались сім'яники ембріонів нами були використані мікрomodифікації відомих методик [95], що надало можливість у кожній піддослідній тварини комплексно визначити функціональний стан системи ПОЛ-АОС.

Для визначення вмісту дієнових кон'югатів брали 0,2 мл із приготовленого гомогенату тканин сім'яників потім вносили 2 мл суміші гексан-ізопропанол. Герметично закриті пробірки спочатку інтенсивно струшували впродовж 15 хв, а потім центрифугували при 4000 об/хв. також впродовж 15 хв. Отриманий супернатант виливали до чистих скляних пробірок та додавали 0,5 мл 0,1 N HCl і 1 мл гексану, струшували і залишали на 30 хв. для розшарування фаз. Відібравши верхній гексанмісткий шар вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 233 нм в 1 см³ кюветі на спектрофотометрі СФ-46. Розрахунки проводили на основі закону Бугера-Ламберта-Бера [119].

$$E_{233} = \varepsilon \cdot c \cdot l ; \quad c = E_{233} / \varepsilon \cdot l \quad (2.1)$$

де $\varepsilon = 2,20 \cdot 10^5 - \text{см}^{-1} \cdot \text{М}^{-1}$ – молярний коефіцієнт оптичної густини для дієнових кон'югатів;

E_{233} – оптична густина розчину, що досліджується ;

c – вміст дієнових кон'югатів;

l – довжина оптичного шляху.

Для визначення вмісту малонового диальдегіду до 0,4 мл гомогенату додавали 0,8 дистильованої води; 0,06 мл 5 N HCl і 0,3 мл 17% трихлороцтової кислоти. Проводили центрифугування при 4000 об/хв. на протязі 20 хв. Після центрифугування супернатант виливали до чистих пробірок та додавали 0,5 мл 0,8% тіобарбітурової кислоти. Після перебування на протязі 10 хв при 100⁰С на водяній бані пробірки переносили до крижаної бані. Вимірювання оптичної густини проводили при довжині хвилі 532 нм в 1 см³ кюветі на спектрофотометрі СФ - 46 проти контролю, до якого замість гомогенату вносили 0,4 мл дистильованої води. Розрахунки проводили на основі закону Бугера-Ламберта-Бера .

$$E_{532} = \varepsilon \cdot c \cdot l ; \quad c = E_{532} / \varepsilon \cdot l \quad (2.2)$$

де $\varepsilon = 1,56 \cdot 10^5 - \text{см}^{-1} \cdot \text{М}^{-1}$ – молярний коефіцієнт оптичної густини для дієнових кон'югатів;

E_{532} – оптична густина розчину, що досліджується;

c – вміст дієнових кон'югатів;

l – довжина оптичного шляху.

Для визначення активності супероксиддисмутази [К.Ф.1.15.1.1], до пробірки вносили 60 мг кристалічного однозаміщеного фосфату калію; 0,2 мл гомогенату; 0,03 мл хлороформу та 0,05 мл етанолу. Після ретельних змішувань проводили центрифугування при температурі 4 °С та швидкості обертання 1500 об/хв на протязі 15 хвилин. Паралельно *ex tempore* готували два реагенти. Реагент №1 містив 9,3 натрієвої солі етилендіамінтетраацетату, 75 мг нітросинього тетразолу та 13,8 мг феназинметасульфату розчиненого в 150 мл 0,15 М фосфатному буфері, рН – 7,8. Для приготування реагенту №2 19,1 мг НАДН розчиняли в 25 мл Трис-ЕДТА буфері, рН – 8,0. Після переінкубації реагенту №1 впродовж 5 хв. при температурі 25 °С додавали 0,05 мл прозорого супернатанту та 0,1 мл реагенту №2. Перемішуючи проводили інкубацію на протязі 10 хв. Паралельно ставили нульову пробу (E_{5400}) в якій замість супернатанту використовували 0,05 мл дистильованої води. Після інкубації вимірювали оптичну густина дослідної проби ($E_{540\text{пр}}$) і нульової проби (E_{5400}) в 1 см³ кюветі на спектрофотометрі „СФ-46” проти контролю, в який замість реагенту №2 додавали 0,1 мл дистильованої води. Активність супероксиддисмутази розраховували за формулою:

$$\text{СОД} = (E_{5400} - E_{540\text{пр}} / E_{5400}) \times 100\% \quad (2.3)$$

За одиницю активності супероксиддисмутази приймали здібність ферменту відновити 50% тетразолу за хвилину.

Для визначення активності каталази [К.Ф.1.11.1.6] до приготовленого *ex tempore* 2 мл 0,03% перекису водню додавали 0,05 мл гомогенату. Реакцію проводили при температурі 37 °С в термостаті. Через 10 хв від початку реакції додавали 1 мл 4% молібдату амонію. Одночасно ставили холосту

пробу в якій замість гомогенату використовували 0,05 мл дистильованої води. Вимірювання оптичної густини проводили на спектрофотометрі СФ-46 в 1 см³ кюветі при довжині 410 нм для пустої (E₄₁₀₀) та дослідної (E_{410Д}) проб проти контролю в якому була лише дистильована вода. Активність каталази розраховували за формулою:

$$\text{Каталаза} = E_{4100} - E_{410Д} / \varepsilon \quad (2.4)$$

де $\varepsilon = 2,22 \cdot 10^4 \text{ – мм}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ – мілімолярний коефіцієнт оптичної густини для перекису водню.

Для визначення активності глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази після перфузії охолодженням 154 mM KCl pH 7,4 тканини сім'яників гомогенізували в середовищі яке містило 250 mM сахарози, 10 mM трис-HCl pH 7,4 и 0,1 mM ЕДТА [71]. Активність фермента вимірювали при 25 °С на спектрофотометрі СФ-46. Гідрофобні субстрати розчинювали в етанолі з таким розрахунком щоб кінцева концентрація спирту в інкубаційному середовищі не перевищувала 3%.

Глутатіонтрансферазну (GSH-трансферазну) активність в тканинах сім'яників визначали по утворенню кон'югатів глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом [71]. Реакційна суміш містила 100 mM К-фосфатний буфер pH 7,01, 1 mM GSH, 1 mM 1-хлор-2,4-динітробензолу та 1 mM ЕДТА. Кінетику утворення кон'югованого глутатіону вимірювали по зміні оптичної густини при 340 нм .

Активність глутатіонпероксидази (GSH-пероксидази) визначали використовуючи в якості субстрату гідро перекис-трет-бутилу [72]. Кінетику утворення кон'югованого глутатіону вимірювали по окисленню НАДФ-Н при 340 нм в присутності надлишку GSSG-редуктази в середовищі яка утримувала 50 mM К-фосфатний буфер pH 7,0; 0,85 mM GSH; 0,3 mM H₂O₂; 3 mM NaN₃; 0,15 mM НАДФ-Н і 1 mM ЕДТА. Активність ферментативної реакції визначали як різницю оптичної щільності в пустій (без присутності гомогенату тканин сім'яників) та дослідних пробах.

Для визначення вмісту циклічних нуклеотидів (цАМФ, цГМФ) та активності ферментів їх синтезу і утилізації використовували гомогенат тканини сім'яників. Визначення вмісту циклічних нуклеотидів (цАМФ, цГМФ) проводили з використанням стандартних наборів Ria Kit фірми “Amersham” (Великобританія) [120].

Для визначення активності аденілатциклази реакційна суміш містила 50 мМ трис-НСІ, рН 7,5; 1 мМ ЕДТА, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ теофіліну, 1мМ АТФ, 20 мМ креатин фосфату, 1 мг/ мл креатинфосфокінази. Об'єм проби складав 200 мкл. Реакцію розпочинали, додаючи 50 мкг гомогенату, інкубували проби 10-20 хв при t 37 °С. Зупиняли реакцію кип'ятінням проб 1 – 2 хв. Проби центрифугували для осадження білку і в надосадковій рідині визначали вміст утвореного в результаті реакції цАМФ за допомогою наборів Cyclic AMP assay kit (“Amersham”, Великобританія). Активність аденілатциклази висловлювали в пмоль на 1 г тканини [120].

Активність фосфодіестерази цАМФ визначали по наростанню в пробі [³Н] 5'-AMP в ході гідролізу [³Н] 3' : 5' -AMP. Середовище інкубації містило 5 мМ MgCl₂, 20 мМ трис- НСІ (рН 8,5), 10⁻⁴ – 10⁻⁶ М 3' : 5' -AMP, 0,1–0,3 мкКи [³Н] 3' : 5'-AMP. Для забезпечення постійної концентрації іонів Са²⁺ до проби додавали Са – ЕДТА- буфер, що містить 2 мМ ЕДТА і СаCl₂, концентрацію якого розраховували по методу Імаї і Такеди. Реакцію розпочинали додаванням розчину фосфодіестерази і проводили при 37 °С на протязі 10-15 хв. Зупиняли реакцію нанесенням 5мкл інкубаційної суміші на пластинку Silufol UV – 254. Для ідентифікації “плям“ нуклеотидів в тіж точки наносили по 2 – 3 мкл 5x10⁻³ нерадіоактивних розчинів 3':5' - AMP і 5' -AMP. Нуклеотиди хроматографували в суміші розчинників ізопропанол /вода/ аміак в об'ємних співвідношеннях 7:2:1. “Плями” цАМР ідентифікували в УФ – світлі, вирізали і переносили до флаконів для визначення радіоактивності. Потім до флаконів додавали по 0,5 мл дистильованої води і проводили елюцію нуклеотидів на протязі ночі. Після чого до флаконів приливали по 10 мл диоксанової сцинтиляційної суміші

(800 мл диоксана, 20 мл етиленгліколя, 100 мл метанола, 0,2 г РОРОР, 4 г РРО і 60 г нафталіну) і вимірювали радіоактивний розпад на лічильнику Mark II (“Nuklear Chicago”, США) по каналу ^3H або ^{14}C . Активність висловлювали в пмоль/г тканини.

Визначення вмісту аденілових нуклеотидів (АДФ, АМФ, АТФ) проводили за допомогою наборів Test-Combination фірми Boehringer. Розмірність концентрації нмоль на 1 г тканини.

Для гістологічних методів досліджень брали частки одразу вилучених сім'яників розмірами 0,2x0,2x0,2; 0,4x0,4x0,4 та 1,0x1,0x1,0 і фіксували на протязі 1,5 години у рідині Карнуа. Потім за схемою Меркулова заливали у парафін. Зрізи товщиною 5-7 мкм готували на мікротомі МПС-2, фарбували гематоксиліном-еозином, та залізним гематоксиліном [83]. Забарвлені зрізи досліджували за допомогою світлової мікроскопії на мікроскопі Axiostar plus фірми “Zeiss”, з подальшою обробкою отриманих зображень за допомогою програми „ВидеоТест - Мастер 4.0” (Санкт-Петербург, 2003).

Для підрахунку тотальної кількості основних видів клітин сперматогенного епітелію застосовували методику основу на приготуванні клітинного гомогенату із тканин сім'яника, та підрахунку клітин в камері Горяєва [50]. Вилучені сім'яник звільнювали від білкової оболонки. Після цього проводили гомогенізацію тканин сім'яника, спочатку ножицями, а потім в шприці з голкою діаметром 2,5 мм з додаванням до гомогенату 10 мл 1% розчину гінціанового фіолетового на 5% розчині уксусної кислоти. Клітинну суспензію набирали в лейкоцитарний меланжер до відмітки 1 та доводили до повного об'єму меланжера гінціановим фіолетовим. Клітини в камері Горяєва підраховували за методикою підрахунку еритроцитів, з перерахунком на розведення в меланжері і всього гомогенату за формулою:

$$П = \alpha/2 * 10^7 \quad (2.5)$$

де П – загальна кількість клітин,

α – кількість клітин підрахованих в камері.

Спочатку підраховували сперматогонії, потім сперматоцити, сперматиди, сперматозоїди та клітини Сертолі.

Дослідження проводили за допомогою світлової мікроскопії на мікроскопі Axiostar plus фірми “Zeiss”, з подальшою обробкою отриманих зображень з використанням комп’ютерної програми „ВидеоТест - Мастер 4.0” (Санкт-Петербург, 2003).

Для отримання сперми у статевозрілих щурів використовували метод електроеякуляції [111]. Отриману сперму поміщали до камери ОС (Росія), та проводили дослідження на світовому мікроскопі Axiostar plus фірми “Zeiss” обладнаного аналоговою відеокамерою, з використанням комп’ютерної програми „ВидеоТест – Сперм 2.1” (Санкт-Петербург, 2003).

Отримані результати досліджень були опрацьовані методом статистичної обробки з використанням програми „Статистика - 2003” (Росія)

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ,
ВМІСТ МАКРОЕРГІВ ТА СТАН СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ
В ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ
ФІЗІОЛОГІЧНОГО ОНТОГЕНЕЗУ

Проблема генетичних зрушень, що виникають внаслідок дії несприятливих факторів довкілля на людину, є на сьогоднішній день однією із актуальних і складних сучасної медичної науки. Важливість дослідження стану здоров'я нащадків осіб, які зазнали в репродуктивному віці негативного впливу ксенобіотиків, радіаційних та інших факторів, з якими людина зустрічається в повсякденному житті, значно зросла після аварії на Чорнобильській АЕС. Це обумовлено тим, що значний контингент населення України в молодому віці підпав під тривалу дію низько інтенсивної іонізуючої радіації [14, 39]. Важливим є і те, що дія цих факторів відбувалася на фоні нашарування складних соціальних і психоемоційних негаразд, це було однією із причин широкого поширення побутового пияцтва у значній кількості сімей [92]. При цьому необхідно підкреслити, що в більшості випадків вживалися алкогольні напої далеко не вищого ґатунку (сурогати виготовлені зі спирту, самогон та інші).

Безумовно, що радіонуклідне забруднення території, несприятливі соціально-побутові умови життя, надмірна алкоголізація населення репродуктивного віку, та дія різного роду ксенобіотиків відносяться до факторів, що сприяють виникненню мутацій, які спроможні успадковуватися і негативно впливати на генофонд України. З іншого боку, небезпечним є і той факт, що такі мутації можуть виникати не тільки в соматичних клітинах, але й і в сперматогоніях та ооцитах.

Оскільки дослідження таких зрушень на популяціях людей, які зазнали негативної дії γ -опромінення, алкоголю чи сумісної дії цих факторів є трудоемкими і їх важко змоделювати, то в цьому плані необхідні дослідження на експериментальних тваринах.

3.1 Розвиток чоловічих статевих клітин в пізньому ембріогенезі та постнатальному періоді за фізіологічних умов

Розвиток чоловічих статевих клітин розподіляють [105] на три великих періоди: 1) розвиток первинних статевих клітин; 2) пресперматогенез та 3) сперматогенез. Враховуючи це ми вирішили прослідити та надати характеристику морфологічним ознакам популяції клітин сперматогенного епітелію від моменту поділу первинних статевих клітин (пресперматогенез) до визначеності їх в якості сперматозоїдів. Як відомо [106], пресперматогенез у щурів відбувається лише в конкретно означений період, а саме з 14 по 16 день ембріонального розвитку та з четвертого по шостий день постнатального розвитку, і завдяки цьому поділу первинні статеві клітини перетворюються на гоноцити. Враховуючи вище сказане нами був обраний п'ятнадцятий день ембріонального розвитку та п'ятий день після народження.

На гістологічних препаратах виготовлених із сім'яників 15-денних ембріонів (рис 3.1) звивисті каналці без просвіту, стінка представлена

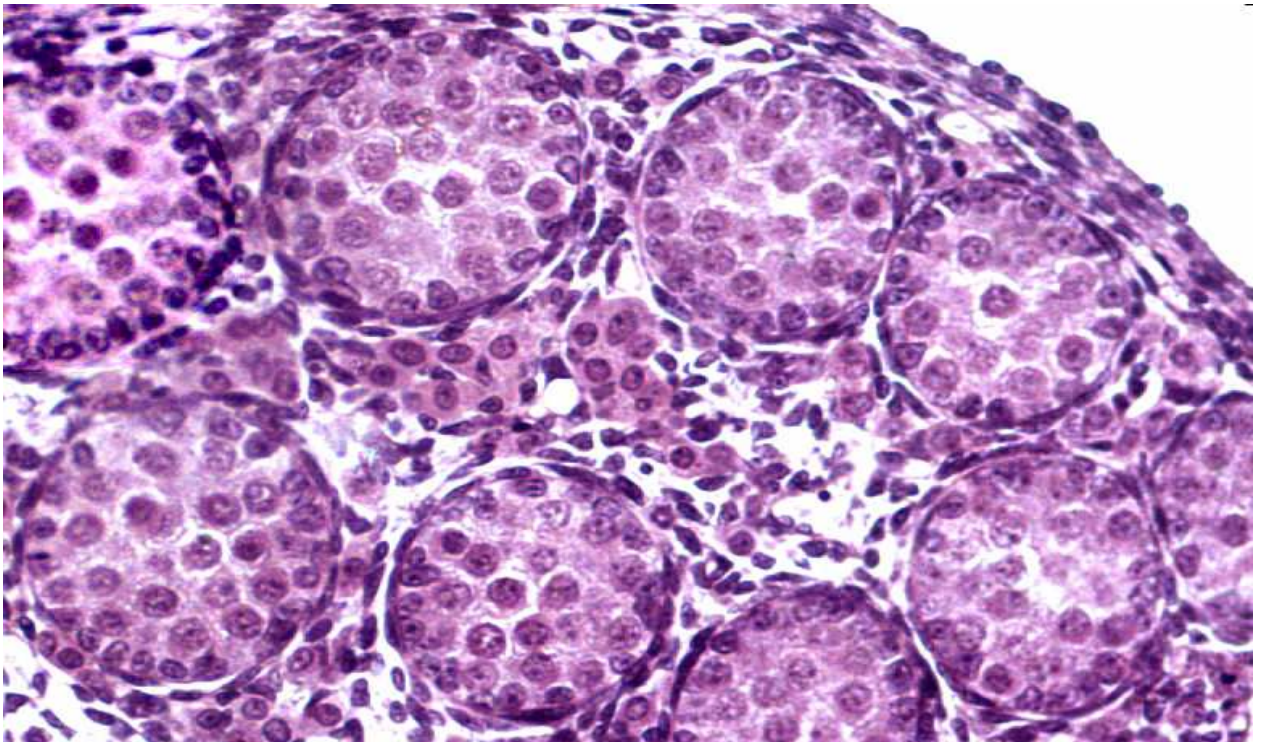


Рис 3.1 Сім'яник 15-денних ембріонів. Забарвлення: гематоксилін-еозин.

Збільшення x200

м'язовою тканиною, фолікулярним епітелієм популяцією клітин серед яких за морфологічними ознаками визначаються гоноцити та первинні статеві клітини. Серед популяції гоноцитів та первинних статевих клітин визначаються активні процеси мітотичного поділу. Мітотичний індекс (кількість мітозів на 1000 підрахованих клітин) складав 0,4, процент патологічних мітозів складав 8%.

При дослідженні гістологічних препаратів виготовлених із сім'яників п'ятиденних щурят (рис 3.2) відзначається, що звивисті каналці за будовою

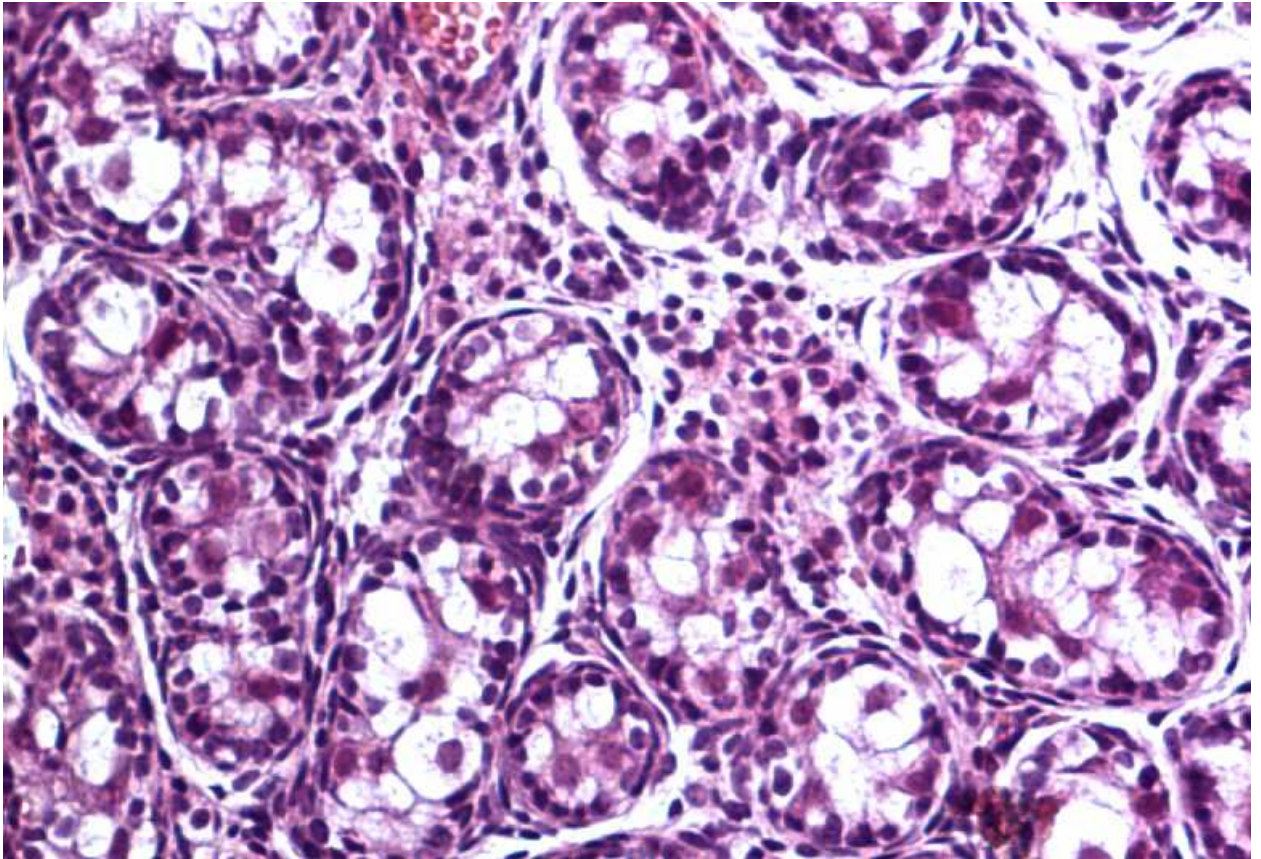


Рис 3.2 Сім'яник 5-денних щурят. Забарвлення: гематоксилін-еозин.

Збільшення x200

не відрізнялися від каналців 15-денних ембріонів. Їх стінка також представлена м'язовою тканиною, клітинами Сертолі та гоноцитами. Звертає на себе той факт, що кількість гоноцитів в одному каналці зменшувалась по відношенню до 15-денних ембріонів, але вони були більші за розмірами. В популяції гоноцитів виділяються клітин в яких ядерно-цитоплазматичний індекс зменшується і конденсація хроматину в ядрі посилюється. Можна

зробити припущення, що це пресперматогоній та фетальні сперматогонії. Мітотичний індекс дорівнював 0,32, процент патологічних мітозів складав 5%. Оскільки відмічається наявність сперматогоній, можна сказати, що пресперматогенез завершується і розпочинається безпосередньо сперматогенез. Слід сказати, що згідно існуючим уявленням [54], сперматогенез можна розділити на три періоди: перший період – сперматоцитогенез, в результаті якого відбувається проліферація сперматогоній з утворенням гістогенетичного ряду в якому наступна генерація клітин більш диференційована ніж попередня; другий період – безпосередньо мітоз, в результаті якого утворюються сперматоцити та сперматиди з гаплоїдним набором хромосом; третій період – сперміогенез, в ході якого сперматоцити завдяки цілому ряду цитологічних трансформацій перетворюються на сперматозоїди. Вказані періоди відповідають певним віковим відрізкам постнатального онтогенезу.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що сперматогенний епітелій 2-тижневих щурят утримував популяцію клітин серед яких можна було розрізнити сперматогоній трьох основних типів: тип А, проміжні та тип В. Клітини Сертолі чітко означені і відзначається початкова компартментізація звивистих каналців на базальну та адлюмінальну частини.

Подальші дослідження показали, що на гістологічних препаратах виготовлених із сім'яників 1-місячних тварин сперматогенний епітелій був представлений, як і в 2-тижневих щурят сперматогоніями трьох основних типів, але при цьому слід відмітити, що кількість сперматогоній типу А була значно більшою від кількості проміжних та типу В. Клітини Сертолі були менш означені ніж у 2-тижневих щурят, чітко можна визначити лише базальні частини цих клітин. Очевидно це явище обумовлене тим, що більшість відростків клітин Сертолі „маскувалися” сперматоцитами та сперматидами на початкових етапах розвитку, які з'являються на даному етапі розвитку. Отже, поява сперматид на початкових етапах розвитку надає

підставу вважати, що в даній період онтогенезу розпочинається третій етап сперматогенезу – сперміогенез. Оскільки розвиток сперматогенного епітелію в звивистих каналцях статевозрілих щурів складається з 14 етапів [44], і в подальших дослідженнях лише гістологічних препаратів могли б виникнути труднощі з визначенням патології, ми вирішили починаючи з 1-місячних тварин використовувати методику досліджень яка надає змогу отримати данні про абсолютну кількість основних типів клітин сперматогенного епітелію в сім'яниках.

В результаті проведених досліджень було встановлено (табл. 3.1), що на момент статевого дозрівання (один місяць життя) кількість окремо взятих клітин сперматогенного епітелію була меншою ніж у статевозрілих тварин. Так кількість сперматогоній була меншою на 27,9%, сперматоцитів на 23,8%, сперматид на 37,1% та клітин Сертолі на 12,7%. На трьохмісячний вік припадає найбільша активність сперматогенезу. Це проявляється в найбільших значеннях кількості як окремо взятих клітин сперматогенного епітелію так і загальної кількості клітин. Починаючи з даного періоду онтогенезу, в подальшому, спостерігається спадання активності сперматогенезу, що проявляється в зменшенні кількості окремо взятих клітин та загальної їх кількості.

Таблиця 3.1

Кількість клітин сперматогенного епітелію в сім'яниках тварин отриманих за фізіологічних умов. (млн, $M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Сперматогонії	Сперматоцити	Сперматиди	Сперматозоїди	Клітини Сертолі	Загальна кількість
1-міс	143,3±8,4	113,1±7,5	206,7±16,4	-	43,2±6,9	506,3±26,3
3-міс	198,7±12,7	148,3±10,7	328,6±15,7	286,3±11,3	49,5±8,1	1011,4±42,6
6-міс	169,5±11,3	120,6±8,2	271,1±12,9	248,5±13,4	45,3±5,2	855,0±38,6
12-міс	141,9±9,8	113,9±7,6*	241,9±14,1	236,5±9,8*	41,2±7,4*	775,4±26,7*
24-міс	136,8±13,2*	93,7±6,8	214,9±10,9	210,2±10,2	37,2±7,1*	693,2±19,4

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну досліджень.

Цікавими були дані отримані при дослідженні еякуляту отриманого у статевозрілих щурів. В результаті проведених досліджень (табл. 3.2) було встановлено, що концентрація сперматозоїдів в еякуляті максимальною була у 3-місячних та 6-місячних тварин 26,2 млн/мл та 24,1 млн/мл відповідно. Паралельно, у вказаних періодах онтогенезу, спостерігається найкраща картина при розподіленні сперматозоїдів на класи за рухливістю.

Таблиця 3.2

Показники спермограми статевозрілих щурів за умов
фізіологічного онтогенезу
($M \pm m$, $n=6$)

Вік тварин	Концентрація сперматозоїди (млн./мл)	Розподіл на класи за рухливістю (%)				Живі сперматозоїди (%)
		A	B	C	D	
3-міс	26,2±4,7	60,1±7,1	12,6±3,8	9,4±2,7	17,9±3,1	94,3±5,3
6-міс	24,1±3,8*	53,0±4,8	13,4±3,6*	11,2±5,9	22,4±3,6	92,6±6,2*
12-міс	18,3±2,9	43,7±4,1	16,8±2,4	12,3±4,3*	27,2±4,1	91,8±4,7*
24-міс	17,8±3,1*	31,5±2,7	19,3±3,2	15,1±5,2	34,1±3,9	87,6±5,1*

- Примітки: 1. А-активнорухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;
 2. В – малорухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;
 3. С - малорухливі сперматозоїди з коливальним або круговим рухом;
 4. D – сперматозоїди без руху.
 5. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну досліджень.

Так у 3-місячних щурів активно рухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом складала 60,1%, а у 6-місячних 53,0%. Відмічається також не значна кількість сперматозоїдів без руху, 17,9% та 22,4% відповідно. В подальших періодах онтогенезу спостерігається як зменшення концентрації сперматозоїдів так і зміни в процентних відношеннях між класами сперматозоїдів розподілених за рухливістю. Найменші значення фіксувалися у старих щурів (12 місяць життя).

На наш погляд було б за доцільне дослідити стан так званих „критичних” метаболічних процесів в тканинах сім'яників, та визначити їх внесок в розвиток патології, і можливості її успадкування, в першому поколінні нащадків, отриманих від самців та самок, які перед спарюванням зазнали тривалого впливу γ -опромінення в низьких дозах, хронічної дії алкоголю та сумісного впливу цих факторів.

3.2. Стан процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в тканинах сім'яників щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу.

Оскільки з'ясування патологічних зрушень, що можуть виникнути в тканинах сім'яників щурів на різних етапах онтогенезу, неможливе без вивчення цих процесів за фізіологічних умов, то першим етапом нашої роботи було вивчення характерних моментів для цих процесів в пізньому ембріогенезі, в період формування організму, зрілості та старості.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що прооксидантно-антиоксидантні взаємовідносини в тканинах сім'яників щурів в певній мірі залежать від їх морфо-функціонального стану. Так, наприклад, встановлено (табл. 3.3), що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів вміст дієнових кон'югатів складав $(6,08 \pm 0,22)$ нмоль/г, а малонового диальдегіду - $(8,27 \pm 0,32)$ нмоль/г. Коефіцієнт стаціонарних взаємовідносин між кількістю початкових і кінцевих продуктів перекисного окисленого ліпідів, у даному випадку, дорівнював 0,74. У 5-денних щурят спостерігалось збільшення вмісту дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників тканинах сім'яників, порівняно з аналогічними значеннями у ембріонів, на 13,0%, тоді як кількість малонового диальдегіду зростала стосовно останнього на 15,0%. При цьому коефіцієнт співвідношення між кількістю дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду складав 0,73. Виявлені факти свідчать про те, що у новонароджених щурят в тканинах сім'яників спостерігається посилення процесів перекисного окислення ліпідів за рахунок збільшення як первинних,

так і вторинних продуктів ПОЛ, але коефіцієнт стаціонарного стану процесу перекисного окислення ліпідів знаходився на рівні ембріонів. Очевидно, що такі зміни в цій системі направлені на те, щоб забезпечити високу інтенсивність мітотичних процесів які відбуваються в гонадах.

Таблиця 3.3

Вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у тканині сім'яників щурів за умов фізіологічного розвитку

($M \pm m$; n = 10; нмоль/г)

Вік тварин	Вміст продуктів ПОЛ		
	ДК	МДА	ДК/МДА
15-денні ембріони	6,08±0,22	8,27±0,32	0,74
5-денні щурята	6,87±0,19	9,5±0,42	0,73
2-х недільні	8,35±0,23	12,6±0,38	0,66
1 місячні	9,22±0,25	13,6±0,28*	0,68
3-х місячні	9,45±0,43*	13,68±0,23*	0,69
6 місячні	9,47±0,51*	13,82±0,32*	0,69
12-ти місячні	12,76±0,52	18,67±0,53	0,68
24-х місячні	14,66±0,37	20,08±0,69	0,73

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну дослідження

При дослідженні процесів ПОЛ в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят було встановлено, що кількість дієнових кон'югатів у тканинах сім'яників цих тварин переважала показники ембріонів на 37,3% а кількість малонового диальдегіду на 52,4%, що було також вищим за рівень 5-денних тварин відповідно на 21,6% та на 32,70%. Коефіцієнт співвідношення між

дієновими кон'югатами та малоновим діальдегідом у даному випадку дорівнював 0,66. Ці факти свідчать про те, що в процесі формування організму щурів спостерігалось посилення активності процесів перекисного окислення ліпідів за рахунок збільшення кількості малонового діальдегіду по відношенню до 5-денних щурят. Наведені дані надають нам змогу припустити, що зростання інтенсивності утворення кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів в тканинах сім'яників на протязі перших двох тижнів життя супроводжується зниженням стаціонарного рівня взаємовідносин між дієновими кон'югатами та малоновим діальдегідом, що очевидно направлене на забезпечення процесів фізіологічного розвитку чоловічих статевих залоз.

Внаслідок проведених досліджень також було встановлено, що в тканинах статевих залоз 1-місячних щурів вміст дієнових кон'югатів був вищим за показники 15-денних ембріонів на 51,7%, а малонового діальдегіду на 64,5%. При цьому виявляється, що кількість дієнових кон'югатів була вищою за показники 5-денних щурят на 34,2% а малонового діальдегіду на 43,2%. Якщо порівняти отримані дані з показниками 2-тижневих щурів, то виявляється, що вміст дієнових кон'югатів у тканинах чоловічих статевих залоз був вищим на 10,4% а вміст малонового діальдегіду майже не змінювався. Коефіцієнт співвідношення між ДК та МДА у 1-місячних щурів дорівнював 0,68%. Отже, ці факти свідчать, що в період розвитку від двох тижнів життя до місяця, коефіцієнт взаємовідносин між дієновими кон'югатами та малоновим діальдегідом дещо зменшувався порівняно з першим періодом життя, за рахунок менш інтенсивного утворення дієнових кон'югатів. Такий стаціонарний рівень системи ПОЛ очевидно забезпечує процес диференціювання сперматогоній, якій інтенсивно протікає в цей період розвитку.

При обстеженні статевозрілих щурів (3-місячні) було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів, в тканинах сім'яників цих тварин, був вищим за показники ембріонів на 55,4% а малонового діальдегіду на 65,4%. При цьому

необхідно підкреслити, що зазначені показники практично не відрізнялися за аналогічності у 1-місячних щурів. Коефіцієнт співвідношення між дієновими кон'югатами та малоновим диальдегідом у цій групі тварин дорівнював 0,69, що також не мало достовірних відмінностей від 1-місячних щурят. Встановлені факти свідчать про те, що в період від одного до трьох місяців життя вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду, в тканинах сім'яників щурів, утримувався на одному стаціонарному рівні. При цьому необхідно підкреслити те, що в даний віковий період відбувається активне диференціювання чоловічих статевих клітин з утворенням зрілих сперматозоїдів. Крім того наведені факти є підтвердженням існуючих уявлень про роль перекисного окислення ліпідів в процесах диференціювання, поділу та дозрівання молодих клітин [8].

Проведені дослідження інтенсивності утворення продуктів перекисного окислення ліпідів в тканинах статевих залоз 6-місячних щурів показали, що кількість як дієнових кон'югатів, так і малонового диальдегіду не мала достовірних відмінностей від аналогічних показників одно та трьохмісячних тварин. Коефіцієнт співвідношення між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду дорівнював 0,69, що практично відповідало показникам попередніх двох груп. Наявність такого тривалого і стійкого плато на протязі тривалого відрізка онтогенезу щурів очевидно є необхідною умовою забезпечення функціональної стабільності статевих залоз. Адже для цього періоду характерною є висока репродуктивна спроможність самців.

При обстеженні 12-місячних тварин було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах статевих залоз щурів був вищим за рівень у ембріонів на 109,9%, а малонового диальдегіду на 125,8%, і водночас він був вищими за відповідні показники у всіх попередніх термінах постнатального онтогенезу. Коефіцієнт співвідношення між дієновими кон'югатами та малоновим диальдегідом у цьому випадку складав 0,68. Це свідчило про те, що в процесі старіння спостерігалось рівномірне посилене утворення як початкових так і кінцевих продуктів перекисно окислення ліпідів. Такий стан

процесів ПОЛ на даному етапі онтогенезу, очевидно, є однією із умов фізіологічного старіння організму, який супроводжується зниженням функціональної спроможності статевих залоз самців, та зниження їх статевої активності. Означені факти збігаються з існуючими в літературі даними, які вказують на те, що надмірні кількості продуктів перекисного окислення ліпідів є предикторами старіння [42].

Підтвердженням висловлених припущень являються результати досліджень інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів в тканинах сім'яників старих щурів (24-місячні). Внаслідок проведених досліджень було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах гонад цих щурів був вищим за показники 15-денних ембріонів на 141,1%, а малонового диальдегіду на 142,8%. Слід зазначити, що ці показники були самими високими порівняно з аналогічними показниками в усіх попередніх вікових групах тварин. Коефіцієнт співвідношення між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду складав 0,73, і за своїм значенням був близьким до показників 15-денних ембріонів та 5-денних щурят. Ці факти свідчать про високу інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів у даному віці, яке на відміну від показників ембріонів та новонароджених щурят посилювалось за рахунок рівномірного росту як початкових так і кінцевих продуктів ПОЛ.

Безумовно, що з'ясування ролі процесів перекисного окислення ліпідів у забезпеченні фізіологічного функціонування статевих залоз самців неможливе без визначення функціонального стану антирадикальних механізмів захисту. Так, як відомо, що фізіологічна роль ПОЛ обумовлюється потужною антиоксидантною системою, і тільки при умові фізіологічної динамічної рівноваги в прооксидантно-антиоксидантній системі.

В результаті проведених досліджень (табл. 3.4) було встановлено, що активність супероксиддисмутази (СОД) в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів дорівнювала $(62,7 \pm 3,42)$ у.о/г тканини., активність каталази -

22,88±1,28 м.о/г тканини., глутатіонпероксидази (ГП) – (12,75±0,79) нмоль/г тканини, і глутатіонтрансферази (ГТ) – (56,4±1,16) нмоль/г тканини. Для з'ясування взаємовідносин в системі ПОЛ-АОС нами проведені розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів (табл. 3.5). На наш погляд розрахунки такого коефіцієнту надають можливість встановити характер рівноваги між активністю ферменту який дисмутує супероксид-аніон кисню та вмістом початкових продуктів перекисного окислення ліпідів. У 15-денних ембріонів такий коефіцієнт дорівнював 10,3.

Таблиця 3.4

Активність СОД, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази у тканинах сім'яників щурів за умов фізіологічного онтогенезу

($M \pm m$; n = 10)

Вік тварин	Активність ферментів			
	СОД (у.о/г тк.)	Каталаза (м.о./г тк.)	ГП (нмоль/г тк)	ГТ (нмоль/г тк)
15-денні ембріони	62,70±3,42	22,88±1,28	12,75±0,79	59,40±1,16
5-денні щурята	72,94±3,81	26,21±1,57	16,28±1,06	79,01±1,25
2-тижневі	95,05±4,56	31,57±0,71	17,99±1,3*	85,42±1,53*
1-місячні	97,54±4,38*	33,86±1,25*	18,89±1,43*	91,74±1,53*
3-місячні	95,82±4,29*	34,5±1,99*	19,49±1,62*	94,31±1,07*
6-місячні	98,21±4,26*	34,73±2,12*	19,06±1,58*	89,93±1,26*
12-місячні	54,79±3,08	18,22±0,96	9,75±1,18	41,46±1,24
24-місячні	47,76±2,69	16,12±1,18	9,01±1,03*	39,73±1,37*

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну

Таблиця 3.5

Коефіцієнт співвідношення між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у тканинах сім'яників щурів за умов фізіологічного розвитку

СОД/ДК	Вік тварин							
	15-денні ембріони	5-денні щурята	2- тижневі	1- місячні	3- місячні	6- місячні	12- місячні	24- місячні
Коефі- цієнт	10,3	10,6	11,4	10,6	10,1	10,3	4,3	3,25

Під час обстеження 5-денних щурят встановлено, що активність супероксиддисмутази в тканинах сім'яників самців посилювався порівняно з показниками 15-денних ембріонів на 16,3%. Паралельно з цим спостерігається посилення активності каталази на 14,6%, глутатіонпероксидази на 27,7% та глутатіонтрансферази на 40,08%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у цих щурят складав 10,6. Отже, результати проведених досліджень свідчать про те, що в перші дні життя спостерігається збільшення рівня стаціонарної активності ферментів антиоксидантної системи, який забезпечує сталу динамічну рівновагу між інтенсивністю утворення продуктів перекисного окислення ліпідів та можливістю їх утилізації за допомогою антирадикальних процесів захисту. Така сталість динамічної рівноваги системи ПОЛ-АОС підтверджується тим, що коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів практично не відрізнявся від його значень у 15-денних ембріонів. Як уже зазначалося вище, можливо, що підйом стаціонарного стану системи ПОЛ-АОС на більш високий рівень є необхідною умовою для забезпечення перебігу процесів мітозу, який відбувається саме в цей термін у гонадах. Звертає на себе увагу і ще одна дуже важлива деталь, яка показує, що найбільш інтенсивно у цей період посилюється активність ферменту глутатіонтрансферази. Це є свідченням того, що на даному етапі онтогенезу, очевидно, в організмі відбувається активація процесів направлених на евакуацію якомога найбільш токсичних продуктів, так як глутатіотрансфераза являє собою фермент який забезпечує зв'язування та виведення цих продуктів [94].

При обстеженні 2-тижневих щурят було встановлено, що в тканинах сім'яників активність СОД на 51,6% переважала аналогічні показники ембріонів і на 30,3% значення 5-денних щурят. У цей час активність каталази була вищою за аналогічні значення у 15денних ембріонів на 37,9% і за показники 5-денних щурят на 20,5%. Досить істотно у цих тварин посилювалась активність глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази порівняно з показниками 15-денних ембріонів, але при цьому переважала значення 5-денних щурят відповідно лише на 10,5% та 8,1%. Таким чином, наведені вище результати досліджень показують, що на даному етапі розвитку також спостерігалось посилення функціональної спроможності ферментативної ланки антиоксидантної системи, але у даному випадку цей процес відбувається за рахунок більш інтенсивної активації ферментів першої ланки захисту (СОД, каталаза). Можливо, що це продиктовано тим, що, як уже зазначалось вище, в цей період інтенсифікація процесів ПОЛ відбувалася за рахунок більшого утворення дієнових кон'югатів. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази, в тканинах сім'яників цих щурів, та вмістом дієнових кон'югатів показав, що він у даному випадку дорівнював 11,4. Цей факт свідчить про те, що спостерігалась більш інтенсивна реалізація кисень реактивних сполук, внаслідок чого рівновага в системі ПОЛ-АОС зсувається вправо. Очевидно, що переважання функціональної активності ферментативної ланки антиоксидантної системи направлено на гальмування процесів вільно-радикального окислення, так як необхідність в кисень-активних сполуках в даний термін зменшується. Останнє підтверджується тим, що на даному етапі онтогенезу відбувається в гонадах початок процесів диференціювання сперматогоній, який не потребує високого рівня окислювально-відновних реакцій.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 1-місячних тварин активність супероксиддисмутази практично не відрізнялася від показників 2-тижневих щурят, і в той же час була вищою за показники

15-денних ембріонів на 55,6% і 5-денних щурят на 33,7%. Активність каталази в 1-місячних тварин також майже не змінювалась порівняно з значеннями у 2-тижневих щурят, і одночасно були вищою за показники 15-денних ембріонів на 47,9% і 5-денних щурят на 29,2%. У цей час активність глутатіонпероксидази практично не відрізнялася від показників 2-тижневих щурят, тоді як вона була вищою від аналогічних значень 15-денних ембріонів на 48,2% і 5-денних тварин на 16,1%. Встановлено також, що на даному етапі онтогенезу в тканинах сім'яників не спостерігалось значного посилення активності глутатіонтрансферази відносно аналогічних даних у 2-тижневих щурів на, але була вищою за показники 15-денних ембріонів на 54,5% і 5-денних щурят на 16,1%. Коефіцієнт співвідношення між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів в 1-місячних щурів дорівнював 10,6.

Наведені факти свідчать про те, що на даному етапі онтогенезу спостерігалось відновлення динамічної рівноваги в системі ПОЛ-АОС у тканинах сім'яників, за рахунок стабілізації активності ферментативної ланки антиоксидантної системи та рівномірного посилення утворення як дієнових кон'югатів так і малонового діальдегіду. Порівнюючи отримані дані з тими процесами які відбуваються в сперматогенному епітелії (початок процесів формування та дозрівання сперматозоїдів), ми дійшли до висновку, що таке помірне посилення утворення як початкових, так і кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів є необхідною умовою забезпечення початку фізіологічного сперматогенезу.

При обстеженні 3-місячних щурів було встановлено, що активність супероксиддисмутази практично не відрізнялась від показників 1-місячних тварин, але була вищою за показники 15-денних ембріонів на 52,8%, та переважала показники 5-денних щурят на 31,4%. При цьому слід зазначити, що виявленні значення знаходилися на одному рівні починаючи з 2-тижневих щурів. Активність каталази в тканинах сім'яників цієї вікової групи була вищою за рівень 15-денних ембріонів на 50,8% та переважала показники 5-

денних щурят на 31,6% і практично не відрізнялась починаючи з 2-тижневих тварин. Активність глутатіонпероксидази на цей час також була вищою за рівень 15-денних ембріонів на 52,8%, а також переважала показники 5-денних щурят на 19,7%. Відносно показників 2-тижневих та 1-місячних тварин майже не змінювалась. Стосовно активності глутатіонтрансферази, то вона була вищою, на даному етапі онтогенезу, за показники 15-денних ембріонів на 58,8%, 5-денних щурят на 19,4% та на 10,4% за показники 2-тижневих тварин. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів дорівнював 10,1.

Таким чином, наведені факти свідчать про те, що у 3-місячних щурів активність ферментів антиоксидантної системи практично не відрізнялась від показників 1-місячних тварин, і взаємовідносини в системі ПОЛ-АОС знаходились на попередньому стаціонарному рівні, це ще раз підтвердило висловлене нами припущення про те, що такий стаціонарний рівень в даній системі є необхідною умовою для фізіологічного сперматогенезу.

Аналіз отриманих результатів досліджень активності ферментів антиоксидантної системи в тканинах сім'яників 6-місячних щурів показав, що вона практично не відрізнялась від показників 1- і 3-місячних тварин, і при цьому коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів складав 10,3.

Отже, наведені факти показують, що в період статевої зрілості в тканинах сім'яників спостерігається стабільний стаціонарний рівень в системі ПОЛ-АОС, який направлений на реалізацію функціональної спроможності сперматогенного епітелію та забезпечення фізіологічного сперматогенезу.

Проведені обстеження 12-місячних щурів показали, що в тканинах сім'яників спостерігалось різке зниження активності супероксиддисмутази як по відношенню до показників 15-денних ембріонів так і щурів в усіх попередніх вікових групах. Було також виявлено, що у цих тварин активність каталази, в тканинах сім'яників, була нижчою від показників 15-денних

ембріонів на 20,3%, глутатіонпероксидази на 23,5% і глутатіонтрансферази на 30,2%. Таке різке зниження активності антиоксидантних ферментів супроводжувалась падінням величини коефіцієнта взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів, і він складав 4,3, що було більш як у двічі нижче за показники статевозрілих тварин. Такі зміни у взаємовідносинах в системі ПОЛ-АОС в тканинах сім'яників, супроводжується зниженням пулу сперматогоній (див. табл. 3.1), що є ознакою старіння організму тварин та зниженням їх репродуктивної здібності.

При обстеженні 24-місячних щурів було встановлено, що активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази проявляла тенденцію до зниження по відношенню до показників 12-місячних тварин. Але виявлені відмінності не мали достовірного характеру у випадку глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Коефіцієнт співвідношення активності супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у цій віковій групі дорівнював 3,25.

Таким чином, наведені факти свідчать про те, що у старих щурів (12-ти та 24-місячні) динамічна рівновага в системі ПОЛ-АОС зсувається вліво, тобто інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів значно переважала можливість їх утилізації антиоксидантною системою. Такі зміни є ознакою фізіологічно старіння організму та інволюційних змін, які відбуваються в тканинах сім'яників. Це, в свою чергу, негативно віддзеркалюється на репродуктивній активності таких самців.

Оскільки такі зміни у функціонуванні системи ПОЛ-АОС на різних етапах онтогенезу, очевидно, можуть відображувати стан метаболічних процесів як в тканинах сім'яників, так і організму в цілому, то, безумовно, особливу цікавість являють собою результати дослідження процесів енергозабезпечення процесу сперматогенезу.

3.3 Особливості вмісту АТФ, АДФ та АМФ в тканинах сім'яників щурів в залежності від етапу онтогенезу.

Виходячи з тих позицій, які були викладені в попередньому підрозділі, безумовно, що важливу роль в процесі розвитку та фізіологічного функціонування чоловічих статевих залоз, відіграє їх енергозабезпечення. Тому це дало нам підстави для дослідження вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів на етапах пізнього ембріогенезу та постнатального онтогенезу.

Враховуючи той факт, що пізній ембріогенез являється тою відправною точкою, від якої розпочинають перші етапи сперматогенезу, то показники вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників на цьому етапу ми взяли як висхідні, і всі наступні зміни відносили до них.

В результаті таких досліджень (табл. 3.6) було встановлено, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів вміст АМФ дорівнював 2,85 нмоль/1г.тк, АДФ – 2,97 нмоль/1г.тк та АТФ – 18,61 нмоль/1г.тк. Для того щоб чітко з'ясувати залежність між окремими формами аденілових нуклеотидів за умов фізіологічного ембріогенезу і наступного постнатального онтогенезу, нами були проведені розрахунки коефіцієнтів взаємовідносин між вмістом АТФ та АМФ, АТФ та АДФ і АДФ та АМФ. На наш погляд такі розрахунки дозволять в певній мірі визначити стаціонарний рівень ендogenous пулу макроергів.

Проведені розрахунки коефіцієнтів взаємовідносин між вмістом аденілових нуклеотидів показали, що вони у 15-денних ембріонів дорівнювали (табл. 3.7) АТФ/АМФ – 6,53, АТФ/АДФ – 6,27 і АДФ/АМФ – 1,04. Проведені дослідження вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 5-денних щурят показали, що вміст АМФ був вищим від аналогічних даних 15-денних ембріонів на 20%, АДФ на 21,2% і АТФ на 24,88%. Коефіцієнти взаємовідносин між вмістом окремих аденілових нуклеотидів у цій віковій групі складали: АТФ/АМФ – 6,8, АТФ/АДФ – 6,46 та АДФ/АМФ – 1,05. Таким чином, на п'ятий день після народження в

тканинах сім'яників щурят спостерігалось збільшення вмісту всіх форм аденілових нуклеотидів, що в свою чергу також викликало підвищення коефіцієнтів їх взаємовідносин. Очевидно, що таке посилення ендogenous вмісту аденілових нуклеотидів є необхідною умовою для забезпечення мітотичного поділу пресперматогоній, який відбувається на даному етапі розвитку постнатального онтогенезу.

Таблиця 3.6

Вміст аденілових нуклеотидів у тканинах сім'яників щурів за умов фізіологічного онтогенезу
($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г тканини)

Вік тварин	Вміст аденілових нуклеотидів		
	АТФ	АДФ	АМФ
15-денні ембріони	18,61±1,58	2,97±0,48	2,85±0,46
5-денні щурята	23,24±1,72	3,6±0,53	3,42±0,61
2-тижневі	25,09±1,68*	3,84±0,42*	3,67±0,51*
1-місячні	24,89±1,75*	3,91±0,49*	3,77±0,63*
3-місячні	24,28±1,71*	3,75±0,54*	3,67±0,56*
6-місячні	17,94±1,94	2,72±0,52	2,66±0,66
12-місячні	15,74±1,59	2,44±0,58	2,29±0,47
24- місячні щурі	13,84±1,9	2,29±0,45	2,23±0,49

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну

Коефіцієнт співвідношення між вмістом аденілових нуклеотидів
у тканинах сім'яників щурів за умов фізіологічного розвитку

Аденілові нуклеотиди	Вік тварин							
	15-денні ембр.	5-денні щурята	2-тижневі	1-місячні	3-місячні	6-місячні	12-місячні	24-місячні
АТФ/АДФ	6,27	6,46	6,54	6,37	6,48	6,6	6,46	6,05
АТФ/АМФ	6,53	6,8	6,84	6,6	6,62	6,75	6,88	6,21
АДФ/АМФ	1,04	1,05	1,05	1,04	1,02	1,02	1,03	1,03

В результаті проведених досліджень вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят було встановлено, що кількість АТФ збільшувалось відносно показників попереднього терміну, і була вищою за значення його вмісту у 15-денних ембріонів на 34,8%. Таке збільшення вмісту АТФ супроводжувалось ростом кількості АДФ та АМФ як по відношенню до 5-денних щурят і 15-денних ембріонів і при цьому вони переважали показники останніх відповідно на 29,9% та 28,8%. Проведені розрахунки взаємовідносин вмісту АТФ та АМФ показали, що він у цих тварин дорівнював 6,84, АТФ та АДФ – 6,54 і АДФ та АМФ – 1,05. Таким чином, незважаючи на те, що спостерігається збільшення вмісту усіх форм аденілових нуклеотидів, коефіцієнт взаємовідносин між їх вмістом практично не відрізнявся від показників 5-денних щурят. Ці факти свідчать про те, що для цього періоду онтогенезу стаціонарний рівень ендогенного пулу аденілових нуклеотидів є стабільним і вищим ніж у 15-денних ембріонів. Вказані данні дають нам підставу вважати, що такий рівень ендогенного пулу аденілових нуклеотидів є необхідною умовою для фізіологічного розвитку статевих залоз цих тварин.

При обстеженні 1-місячних щурів було встановлено, що вміст АТФ у тканинах сім'яників цих тварин був вищим за показники 15-денних ембріонів на 33,8%, АДФ на 31,7% і АМФ на 32,3. Звертає на себе увагу і той факт, що в цій віковій групі щурів, показники вмісту аденілових нуклеотидів в

тканинах сім'яників практично не відрізнявся від 5-денних та 2-тижневих щурят. Підтвердженням цього факту були результати розрахунку коефіцієнтів взаємовідношень між вмістом окремих форм аденілових нуклеотидів, які також практично не відрізнялись від показників попередніх вікових груп.

Проведені дослідження вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 3-місячних щурів показали, що кількість АТФ була вищою за показники 15-денних ембріонів на 30,5%, АДФ на 26,3% та АМФ на 28,8%. Порівняльний аналіз отриманих результатів зі значеннями вмісту аденілових у тканинах сім'яників 5-денних та 2-тижневих щурят свідчить про те, що спостерігалась тенденція до зниження, хоча і виявлені відмінності носили недостовірний характер. Підтвердженням цього факту були результати розрахунків коефіцієнтів взаємовідносин вмісту окремих форм аденілових нуклеотидів, величина яких також проявляла тенденцію до зниження з аналогічними показниками 5-денних та 2-тижневих щурят.

Аналіз отриманих даних про вміст аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 6-місячних щурів показав, що вміст АТФ, АДФ та АМФ практично не відрізнявся від аналогічних значень 15-ембріонів, і водночас був достовірно нижчим за показники попередніх термінів постнатального онтогенезу. Але розрахунки коефіцієнтів взаємовідношення вмісту окремих форм аденілових нуклеотидів показали, що вони істотно не відрізнялись від показників 1- та 3-місячних тварин. Таке явище очевидно обумовлено тим, що у 6-місячних тварин спостерігався дещо нижчий ендогенний вміст всіх форм аденілових нуклеотидів, що безперечно продиктовано їх необхідністю для фізіологічного сперматогенезу.

У 12-місячних тварин в результаті проведених досліджень встановлено, що вміст АТФ був нижчим за показники 15-денних ембріонів на 15,4%, АДФ на 17,8% і АМФ на 19,6%. Розрахунки коефіцієнтів співвідношення вмісту окремих форм аденілових нуклеотидів показали, що в усіх випадках вони

практично не відрізнялися від аналогічних даних на попередніх етапах онтогенезу.

Отже, зниження ендogenous пулу аденілових нуклеотидів у 12-місячних тварин також спостерігалось рівномірно, що не викликало порушень між окремими їх формами. З іншого боку встановлений факт очевидно відображає ті інволюційні процеси, які на даному етапі відбуваються у сім'яниках щурів цього віку.

При обстеженні 24-місячних тварин було встановлено, що вміст АТФ в тканинах сім'яників був нижчим за показники 15-денних ембріонів на 25,6%, АДФ на 21,9% і АМФ на 21,7%. Крім цього виявлені зміни вмісту аденілових нуклеотидів також були достовірно нижчими за показники тварин на всіх попередніх етапах постнатального онтогенезу. Для цієї вікової групи тварин було характерним і те, що зниження ендogenous пулу аденілових нуклеотидів відбувалося, в основному, за рахунок АТФ, що, в свою чергу, призводило до зниження коефіцієнтів взаємовідносин вмісту його з АДФ та АМФ, тоді як коефіцієнт взаємовідносин між вмістом АДФ та АМФ практично не відрізнявся від усіх попередніх значень. Очевидно, що таке зниження вмісту макроергів у старих тварин є ознакою зниження функціональної спроможності сперматогенного епітелію, сперматогенезу та їх репродуктивної здібності внаслідок глибоких інволюційних змін. Але, при цьому необхідно підкреслити, що такі зміни енергозабезпечення тканини сім'яників старих щурів не є ознакою патології, а віддзеркалює процес фізіологічного старіння не тільки статевих залоз, а й організму в цілому.

3.4 Характеристика стану системи циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів на різних етапах фізіологічного онтогенезу.

На сьогоднішній день достеменно відома роль циклічних нуклеотидів, як однієї із провідних систем у забезпеченні стабільного функціонування метаболічних процесів, направлених на забезпечення життєдіяльності клітин, тканин та органів. Виходячи з цього ми вважаємо за доцільне провести

дослідження вмісту циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів, та визначити характерні особливості їх синтезу та утилізації за умов пізнього ембріогенезу (коли всі структури організму практично сформовані) і на наступних етапах постнатального онтогенезу тварин, які знаходились у звичайних умовах життєдіяльності.

В результаті проведених досліджень (табл.3.8) були виявлені істотні розбіжності у кількості циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів, величина яких залежала від етапу онтогенезу.

Оскільки на першому етапі досліджень об'єктами були 15-денні ембріони, то за мітку відліку були взяті були використані їх показники вмісту циклічних нуклеотидів та активності ферментів синтезу і гідролізу цАМФ в тканинах сім'яників.

Аналіз отриманих результатів показав, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів вміст цАМФ дорівнював ($61,3 \pm 1,05$) пмоль/г тканини, а цГМФ – ($30,4 \pm 1,05$) пмоль/г тканини. Коефіцієнт співвідношення між вмістом цАМФ та цГМФ у даному випадку дорівнював 2,02, що в певній мірі співпадає з існуючими літературними даними [106], які стосуються взаємовідносин між даними циклічними нуклеотидами.

При обстеженні 5-денних щурят було встановлено, що вміст цАМФ був вищим за рівень 15-денних ембріонів на 22,1%, а цГМФ на 20,38%, при цьому коефіцієнт взаємовідносин між вмістом цих нуклеотидів практично не відрізнявся від аналогічних значень 15-денних ембріонів. Наведені факти, очевидно, є свідченням того, що на п'ятий день після народження в тканинах сім'яників таких тварин спостерігають метаболічні перебудови які направлені на забезпечення фізіологічного їх розвитку і супроводжуються більш високим стаціонарним вмістом як цАМФ так і цГМФ, але при цьому спостерігається незмінні співвідношення між цими нуклеотидами (коефіцієнт дорівнює 2,05). Ці факти також є свідченням того, що на даному етапі онтогенезу спостерігається перевага анаболічних процесів над катаболічними.

У 2-тижневих щурят, в результаті проведених досліджень, було встановлено, що вміст цАМФ в тканинах сім'яників був достовірно вищим за показники 15-денних ембріонів, і водночас переважав аналогічні значення 5-денних щурят лише на 9,3%. Кількість цГМФ в тканинах сім'яників цих тварин також був достовірно вищим за показники 15-денних ембріонів та переважав рівень 5-денних щурят на 8,6%. Слід зазначити, що і на даному етапі постнатального розвитку коефіцієнт взаємовідносин між цАМФ та цГМФ, незважаючи на деяку тенденцію до збільшення вмісту циклічних нуклеотидів, не мав достовірної відмінності від усіх попередніх показників. Очевидно таке збільшення кількості циклічних нуклеотидів є однією з тих умов регуляції метаболізму на всіх рівнях організації організму, і зокрема в сім'яниках, направлених на забезпечення початкових процесів диференціації пресперматогоній та фізіологічного розвитку в цілому.

Таблиця 3.8

Вміст циклічних нуклеотидів у тканині сім'яників щурів
за умов фізіологічного онтогенезу
($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г тканини)

Вік тварин	Вміст циклічних нуклеотидів		
	цАМФ	цГМФ	цАМФ/цГМФ
15-денні ембріони	61,33±1,05	30,38±1,17	2,02
5-денні щурята	74,89±1,18	36,57±1,2	2,05
2-х тижневі	81,85±1,24*	39,69±1,79*	2,06
1 місячні	88,65±1,45*	43,31±1,17*	2,05
3-місячні	93,36±1,16*	45,56±1,14*	2,05
6-місячні	85,82±1,31*	42,16±1,26*	2,04
12-місячні	52,44±1,17	38,93±1,35	1,35

24-місячні	46,04±1,05	42,26±1,25	1,09
------------	------------	------------	------

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну

В 1-місячних щурів вміст цАМФ в тканих сім'яників продовжував дещо збільшуватись по відношенню до показників попередніх етапів постнатального онтогенезу, і при цьому переважав рівень показників 15-денних ембріонів на 44,6%. Подібна динаміка змін спостерігається в тканинах сім'яників цих щурів і з боку вмісту цГМФ, який при цьому переважав рівень 15-денних ембріонів на 42,6%. Коефіцієнт взаємовідносин між цАМФ та цГМФ в даному випадку дорівнював 2,5, що практично було на рівні всіх попередніх етапів досліджень. Останнє ще раз підтверджувало висловлену нами думку, що подібний стаціонарний рівень цАМФ та цГМФ в тканинах сім'яників сприяє забезпеченню, у даному випадку, фізіологічний сперматогенез, оскільки в цей період розвитку, на думку дослідників [105], тварини є майже статевозрілими.

Тенденція до збільшення вмісту цАМФ в тканинах сім'яників спостерігалась і у 3-місячних щурів. Але при цьому якщо стосовно 5-денних і 2-тижневих тварин ці відмінності були достовірними, то між 1-місячними достовірність не виявлялась і стосовно 15-денних ембріонів його кількість була вищою на 52,2%. Кількість цГМФ в тканинах сім'яників 3-місячних тварин також збільшувалась по відношенню до показників 1-місячних, але і в даному випадку виявлені відмінності не носили достовірного характеру. Достовірність визначалась тільки по відношенню до 5-денних та 2-тижневих щурят. Порівняно з показниками 15-денних ембріонів вміст цГМФ на даному етапі онтогенезу був вищий майже на 50%. При такому досить істотному збільшенні кількості циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників коефіцієнт взаємовідносин між ними практично знаходився на попередньому рівні і дорівнював 2,5.

При обстеженні 6-місячних щурів було встановлено, що вміст цАМФ в тканинах сім'яників знижувався порівняно з показниками тварин попередніх

етапів онтогенезу і знаходився на стаціонарному рівні 2-тижневих щурят, але при цьому переважали значення 15-денних ембріонів на 39,44%. В результаті проведених досліджень також було встановлено, що в тканинах сім'яників 6-місячних тварин вміст цГМФ знижувався порівняно з попередніми даними і практично знаходився на рівні 2-тижневих щурят, і водночас на 38,8% переважав рівень 15-денних ембріонів. Незважаючи на зниження вмісту циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників 6-місячних щурів коефіцієнт взаємовідносин між ними практично не змінювався, що свідчило про стабільне функціонування системи циклічних нуклеотидів.

Дещо інший напрямок змін вмісту циклічних нуклеотидів спостерігався в тканинах сім'яників 12-місячних тварин. Так, наприклад, кількість цАМФ, в цих структурах, різко знижувалася по відношенню до всіх попередніх етапів онтогенезу і при цьому була меншою за рівень 15-денних ембріонів на 28,2%. За рахунок різкого зниження вмісту цАМФ коефіцієнт взаємовідносин між цАМФ та цГМФ у цих тварин дорівнював 1,35, що складало 65,9% відносно усереднених показників тварин на всіх попередніх етапах онтогенезу.

Очевидно, що наведені факти є свідченням розвитку інволюційних змін як в організмі цих тварин, так і в сім'яниках, що як уже зазначалося в попередніх розділах, супроводжувалось інволюційними змінами сперматогенезу та зниженням статевої активності таких самців.

Підтвердженням висловленого припущення були результати дослідження вмісту циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників 24-місячних щурів. Так наприклад, вміст цАМФ, в досліджуваних структурах, достовірно знижувався відносно їх значень у 12-місячних щурів і був нижчим за показники 15-денних ембріонів на 24,9, а кількість цГМФ збільшувалась порівняно з 12-місячними щурами, і при цьому досягала рівня 6-місячних тварин переважаючи значення 15-денних ембріонів на 39,1%.

Такі зміни вмісту циклічних нуклеотидів призводили до зниження величини коефіцієнту їх співвідношення як по відношенню до 12-місячних

тварин так і стосовно щурів всіх попередніх етапів онтогенезу. Означені зміни вмісту циклічних нуклеотидів очевидно свідчили про глибокі інволюційні зміни як в організмі, так і в сім'яниках таких тварин, і супроводжувалися вони різким посиленням катаболічних процесів.

З метою уточнення механізмів змін в системі циклічних нуклеотидів нами були проведені дослідження активності аденілатциклази, ферменту який каталізує процес утворення цАМФ, та активності цАМФ-залежної фосфодіестерази, яка забезпечує гідроліз цього нуклеотиду.

В результаті проведених досліджень (табл. 3.9) було встановлено, що в 15-денних ембріонів в тканинах сім'яників активність аденілатциклази (АЦ) дорівнювала $(18,31 \pm 1,4)$ пмоль/г тканини, а цАМФ-залежної фосфодіестерази $(12,9 \pm 1,08)$ пмоль/г тканини. З метою з'ясування взаємовідносин процесів біосинтезу цАМФ та його гідролізу нами були проведені розрахунки коефіцієнту взаємовідносин активності аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази. Внаслідок таких розрахунків було встановлено, що у 15-денних ембріонів такий коефіцієнт дорівнює 1,4.

Таблиця 3.9

Активність аденілатциклази та цАМФ-фосфодіестерази у тканинах сім'яників щурів за умов фізіологічного онтогенезу
($M \pm m$; $n = 10$; пмоль /г тканини)

Вік тварин	Активність ферментів		
	АЦ	ФДЕ	АЦ/ФДЕ
15-денні ембріони	$18,31 \pm 1,4$	$12,87 \pm 1,08$	1,4
5-денні щурята	$23,56 \pm 0,87$	$14,19 \pm 0,81$	1,7
2-х тижневі	$24,87 \pm 0,87^*$	$14,93 \pm 0,82^*$	1,7
1 місячні	$28,19 \pm 1,36$	$13,56 \pm 0,69^*$	2,1

3-х місячні	27,79±0,63*	13,08±0,72*	2,1
6 місячні	26,71±0,81	11,29±1,2	2,4
12 місячні	15,36±0,81	16,77±0,95	0,9
24 місячні	13,51±0,92	18,05±1,88	0,75

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну

Також як і в попередніх умовах за точку підрахунку змін активності ферментів були взяті показники 15-денних ембріонів.

При обстеженні 5-денних щурят активність аденілатциклази посилювалась на 28,7% порівняно з аналогічними показниками 15-денних ембріонів. Паралельно з цим спостерігалось також посилення активності цАМФ-залежної фосфодіестерази на 10,3% стосовно показників ембріонів. При цьому коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази дещо підвищувався і дорівнював 1,7, що свідчило про те, що синтез цАМФ в аденілатциклазній реакції на даному етапі онтогенезу був вищим за його гідроліз у фосфодіестеразній реакції. Така ситуація, очевидно, продиктована тим, що на даний момент необхідність цАМФ у великих кількостях забезпечується посиленням його синтезу. Можливо це є необхідною умовою для процесів формування функціональної спроможності сім'яників щурят цього віку, і зокрема сперматогенного епітелію. Ці факти підтверджують отримані нами вище результати досліджень, які свідчать про активацію метаболічних процесів в тканинах сім'яників за рахунок анаболічних реакцій.

При обстеженні 2-тижневих щурят була виявлена тенденція до посилення активності аденілатциклази в тканинах сім'яників порівняно з аналогічними показниками 5-денних тварин, але виявлена різниця мала не достовірний характер, а от стосовно до показників 15-денних ембріонів активність аденілатциклази на цей час була вищою на 35,8%. В тканинах

сім'яників щурят цього віку також спостерігалось і деяке посилення активності цАМФ-залежної фосфодіестерази по відношенню до аналогічних значень у тварин попереднього етапу онтогенезу і стосовно до показників 15-денних ембріонів вона була вищою на 16,1%. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між інтенсивністю синтезу цАМФ та його утилізацією показали що він дорівнював 1,7 і не відрізнявся від аналогічних показників 5-денних щурят. Останній факт дає підставу нам вважати, що за період життя цих тварин від п'яти днів до двох тижнів процеси синтезу та утилізації цАМФ в тканинах сім'яників знаходились на стаціонарному рівні, який характеризується переважанням процесів його утворення.

В результаті проведених досліджень встановлено, що в 1-місячних самців активність аденілатциклази посилювалась по відношенню до показників 2-тижневих щурят на 18,2% і водночас була вищою за рівень 15-денних ембріонів на 54%. В той же час, слід зазначити, що активність цАМФ-залежної фосфодіестерази в тканинах сім'яників цієї вікової групи знижувалась по відношенню показників 2-тижневих тварин на 10,6% і при цьому практично не відрізнялась від аналогічних значень у 15-денних ембріонів. Проведені розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між синтезом цАМФ та його гідролізом показали, що його величина збільшувалась відносно значень 5-денних та 2-тижневих щурят на 23,5% і водночас була вищою за 15-денні ембріони на 50%. Отже, наведені факти свідчать про те, що активність синтезу цАМФ в тканинах сім'яників щурів на даному етапі онтогенезу досить істотно посилювалось, тоді як його гідроліз знижувався і відновлювався до рівня 15-денних ембріонів. Сказане вище співпадає з отриманими нами результатами про активність всіх досліджуваних метаболічних процесів у таких тварин, що, очевидно, обумовлено частковим статевим дозріванням цих тварин, і активацією процесів сперматогенезу.

У статевозрілих щурів (3-місячні) було встановлено, що в тканинах сім'яників активність аденілатциклази практично не відрізняється від аналогічних значень у тварин попереднього етапу онтогенезу, але при цьому

був вищим на 51,8% відносно 15-денних ембріонів. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази в тканинах сім'яників на цьому етапі онтогенезу знаходилась на рівні значень 1-місячних тварин 15-денних ембріонів. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між синтезом та утилізацією цАМФ показав, що він дорівнював 2,1, що відповідало показнику коефіцієнта 1-місячних тварин. Таким чином, в період статевого дозрівання та статевої зрілості інтенсивність утворення цАМФ в аденілатциклазній реакції значно переважала його утилізацію, що очевидно є необхідною умовою для фізіологічного перебігу сперматогенезу.

При обстеженні 6-місячних щурів було встановлено, що в тканинах сім'яників цих тварин активність аденілатциклази була на 45,9% вищою за показники 15-денних ембріонів і при цьому дещо знижувалась відносно 1- та 3-місячних щурів, але виявляла деяку схильність до зниження. Коефіцієнт співвідношення між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у 6-місячних щурів зберігався на рівні 1- та 3-місячних тварин. Таким чином, наведені вище факти свідчать про те, що в період статевого дозрівання та статевої зрілості активність аденілатциклази більш як у два рази є вищою ніж активність синтезу цАМФ-залежної фосфодіестерази, що є ознакою переважання процесів біосинтезу цАМФ над його утилізацією і, очевидно, є також необхідною умовою для фізіологічного перебігу сперматогенезу.

При обстеженні 12-місячних встановлено, що в тканинах сім'яників цих тварин спостерігалось достовірне зниження активності аденілатциклази по відношенню до показників всіх попередніх вікових груп постнатального онтогенезу, і при цьому вона була нижчою за значення 15-денних ембріонів на 16,1%. Звертає на себе увагу той факт, що у тканинах сім'яників 12-місячних тварин різко зростала активність цАМФ-залежної фосфодіестерази яка при цьому достовірно переважала показники всіх періодів постнатального розвитку і була вищою за значення 15-денних ембріонів на 30,3%. При цьому коефіцієнт взаємовідносин між активністю

аденілатциклази та цАМФ-залежною фосфодіестеразою дорівнював 0,92, що свідчило про переважання процесів гідролізу цАМФ над його синтезом. Отримані факти узгоджуються з встановленими раніше даними відносно вмісту цАМФ та цГМФ в даній віковій групі. Крім того слід також зазначити, що в таких тварин також відмічалось поступове затухання сперматогенезу та різке падіння статевої активності.

В результаті проведених досліджень встановлено, що в тканинах сім'яників 24-місячних щурів активність аденілатциклази знижувалась відносно її значень у 12-місячних тварин на 10,1% і була достовірно нижчою від аналогічних показників у 15-денних ембріонів та тварин на всіх попередніх етапах постнатального онтогенезу. Активність цАМФ-залежною фосфодіестеразою у тканинах сім'яників цих щурів збільшувалась по відношенню до їх значень у 12-місячних тварин, але виявлена різниця не носила достовірного характеру і в той же час вона була достовірно вищою за всі показники попередніх етапів постнатального онтогенезу і переважала на 40,3% рівень 15-денних ембріонів. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази на цьому етапі дослідження дорівнював 0,75, що було достовірно нижчим за показники 12-місячних тварин та всіх даних у щурів на всіх попередніх етапах онтогенезу. Ці факти свідчать про те, що в тканинах сім'яників цих тварин спостерігалися глибокі інволюційні зміни, які можуть викликати дистрофічні порушення в сперматогенному епітелії і відповідно віддзеркалюється на статевій активності цих тварин.

РОЗДІЛ 4

СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ, СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ ТА ВМІСТ МАКРОЕРГІВ У ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ НА РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЩУРІВ ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ САМЦІВ ТА САМОК

4.1 Розвиток чоловічих статевих клітин в онтогенезі щурів-самців отриманих від опроміненних попередників.

Дослідження проведені на щурах-самцях отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали впливу хронічного γ -опромінення в сумарній дозі 1 Гр показали деякі відмінності в розвитку чоловічих статевих клітин. При дослідженні гістологічних препаратів виготовлених із сім'яників 15-денних ембріонів (Рис. 4.1) було встановлено, що активність мітотичних процесів була дещо вищою по відношенню до одновікового контролю. Мітотичний індекс складав 0,7, при цьому слід відмітити збільшення проценту патологічних мітозів.

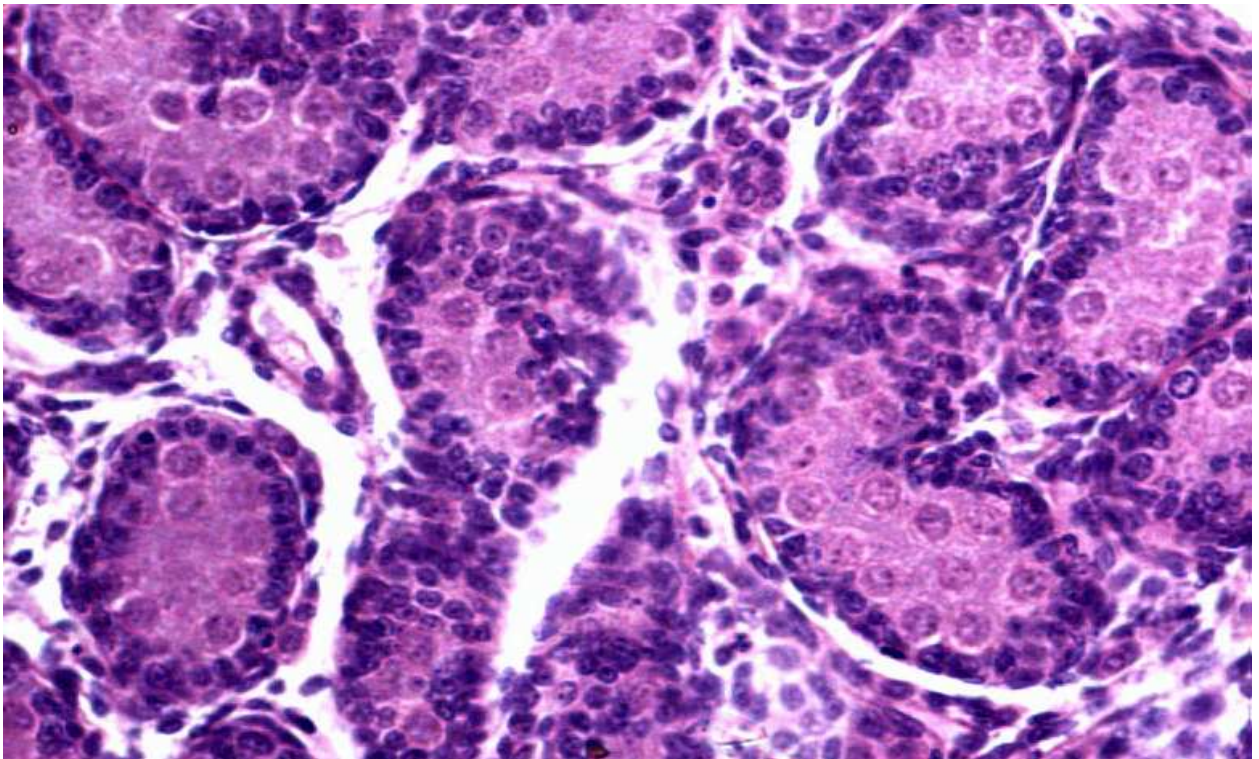


Рис 4.1 Сім'яник 15-денних ембріонів отриманих від опроміненних попередників. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення x200

Аналіз гістологічних препаратів виготовлених із сім'яників 5-денних щурят показав, що як і за фізіологічних умов стінка звивистого каналця утримувала популяцію гоноцитів. Як і за фізіологічних умов відмічалось зменшення їх кількості по відношенню до попереднього терміну дослідження, але необхідно підкреслити у цьому випадку мітотичний індекс складав 0,54, що було на 68,8% вищим за контроль. При цьому слід зазначити, що патологічні мітози склали 11%.

В результаті проведених досліджень по підрахунку абсолютної кількості основних клітин сперматогенного епітелію в сім'яниках більш дорослих щурів, було виявлена (табл. 4.1) тенденція до зниження їх кількості, як окремо взятих клітин, так і загального їх числа. Так, у 3-місячних тварин

Таблиця 4.1

Кількість клітин сперматогенного епітелію у тварин отриманих від опромінених попередників (млн., $M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Сперматогонії	Сперматозити	Сперматиди	Сперматозоїди	Клітини Сертолі	Загальна кількість
1-місячні	135,7 \pm 12,2*	100,3 \pm 8,7*	148,6 \pm 11,4	-	24,7 \pm 5,7	409,3 \pm 18,3
3-місячні	156,2 \pm 17,1	118,3 \pm 11,3	179,9 \pm 13,2	205,7 \pm 16,4	29,3 \pm 6,3	689,4 \pm 22,4
6-місячні	125,6 \pm 13,6	93,4 \pm 7,9	142,7 \pm 15,3	171,8 \pm 13,7	25,4 \pm 8,1	558,9 \pm 19,6
12-місячні	106,7 \pm 10,7	88,9 \pm 8,1**	131,2 \pm 14,7**	168,1 \pm 15,4**	24,3 \pm 7,4**	519,2 \pm 17,3**
24-місячні	103,4 \pm 9,5**	74,2 \pm 7,8	112,9 \pm 12,8	149,4 \pm 13,2	21,6 \pm 4,9	461,5 \pm 15,8

Примітки: 1. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікового контролю

2. ** $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну

загальна кількість клітин сперматогенного епітелію була меншою від контролю на 31,9%. Цікавим був той факт, що якщо порівняти кількість сперматогоній у 1-місячних та 3-місячних тварин контролю, то відзначалося, що їх кількість у 3-місячних тварин була більшою на 139%, тоді як

аналогічне порівняння у тварин отриманих від опромінених попередників вказує на те, що кількість сперматогоній збільшується лише на 115%.

Провівши аналіз вище вказаних фактів, можна зробити припущення, що у тварин отриманих від опромінених попередників спостерігається інтенсифікація процесів мітотичного поділу гоноцитів в ембріональному періоді та на ранніх постнатальних етапах розвитку. Вказане могло б призвести до збільшення кількості клітин сперматогенного епітелію на момент статевого дозрівання (1-місячні тварини) та статевої зрілості (3-місячні тварини). Але ми виявили зворотну картину, яка вказує на деяке „виснаження” функціональної спроможності адаптивних механізмів регуляції сперматогенезу. Підтвердженням нашого припущення були дані отримані при аналізі показників спермограми щурів отриманих від опромінених самців та самок.

В результаті проведених досліджень встановлено (табл. 4.2), що концентрація сперматозоїдів у 3-місячних тварин складала 108% від контролю, але звертає на себе зменшення проценту активно рухливих форм

Таблиця 4.2

Показники спермограми щурів отриманих від опромінених попередників

($M \pm m$, $n=6$)

Вік тварин	Концентрація сперматозоїди (млн./мл)	Розподіл на класи за рухливістю (%)				Живі сперматозоїди (%)
		A	B	C	D	
3-місячні	28,3±5,2*	48,4±4,2	13,7±5,4*	14,8±3,4	23,1±3,6	92,3±5,8*
6-місячні	22,9±4,5*	43,6±3,6	11,3±4,2	18,6±4,2	26,5±2,8	87,4±5,7*
12-місячні	17,6±3,9*	32,8±2,8	15,6±3,7*	19,2±3,6	32,4±4,1	85,2±6,1*
24-місячні	14,8±3,4	23,4±2,3	15,7±2,9	24,1±2,4	36,8±2,5*	80,4±4,8*

Примітки: 1. А-активнорухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;

2. В – малорухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;

3. С - малорухливі сперматозоїди з коливальним або круговим рухом;

4. D – сперматозоїди без руху.

5. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікового контролю

сперматозоїдів з прямолінійним рухом на 19,5% та збільшення проценту сперматозоїдів без руху на 29%. Отримані результати співпадають по деяким напрямкам з існуючими уявленнями [170]. Але вказані відомості надають характеристику змін фіксованих на одному віці тварин. Останнє в деякій мірі затрудняє трактовку отриманих нами морфологічних досліджень. Але дослідження проведені на подальших етапах онтогенезу щурів підтвердили наше припущення. Так, нами було відзначено більш інтенсивне погіршення показників спермограми в онтогенезі щурів отриманих від опромінених попередників по відношенню до одновікових контрольних груп. Так у 12-місячних концентрація сперматозоїдів зменшувалась на 47,7% по відношенню до 3-місячних, тоді як за фізіологічних умов концентрація сперматозоїдів у 12-місячних тварин була меншою на 32%.

Підтвердженням нашого припущення стали результати біохімічних досліджень стану системи ПОЛ-АОС, вмісту макроергів та взаємовідносин в системі циклічних нуклеотидів у тканинах сім'яників нащадків отриманих від опромінених попередників.

4.2 Прооксидантно-антиоксидантні взаємовідносини на різних етапах онтогенезу в тканинах сім'яників щурів, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 15-денних ембріонів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок вміст дієнових кон'югатів (табл. 4.3) був вищим за показники інтактних ембріонів на 18,1%, а малонового диальдегіду на 30,35%. При цьому необхідно зазначити, що спостерігається зниження коефіцієнту взаємовідношення між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду на 10,1%. Останні факти свідчать про те, що у 15-денних ембріонів дослідної групи інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) зростала в більшій мірі за рахунок накопичення кінцевих продуктів ПОЛ, тобто малонового диальдегіду. Наявність дисбалансу між

дієновими кон'югатами та малоновим диальдегідом при посиленому процесі їх утворенні є ознакою того, що у даному випадку, існують відхилення від фізіологічної рівноваги в системі ПОЛ, що в свою чергу може негативно вплинути на функціональний стан сім'яників цих тварин.

ТАБЛИЦЯ 4.3

ВМІСТ ДІЄНОВИХ КОН'ЮГАТИВ ТА МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГІДУ У
ТКАНИНІ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ
САМОК ТА САМЦІВ

($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г)

Вік тварин	Вміст продуктів ПОЛ		
	ДК	МДА	ДК/МДА
15-денні ембріон	7,18±0,4	10,78±0,31	0,66
5-денні щурята	9,05±0,2	13,66±0,3	0,66
2-тижневі	13,46±0,3	20,74±0,48	0,65
1-місячні	16,0±0,54	25,43±0,37	0,63
3-місячні	17,71±0,46	27,08±0,57	0,66
6-місячні	18,75±0,51	29,01±0,56	0,65
12-місячні	33,21±0,55	41,70±0,7	0,8
24-місячні	40,88±1,44	52,43±0,14	0,78

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну дослідження

Підтвердженням про відхилення від фізіологічного рівня в системі ПОЛ були результати отримані у 5-денних щурят. Для цього віку щурят характерним було те, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах їх сім'яників збільшувався порівняно з показниками 15-денних ембріонів на 26%, що одночасно переважало рівень одновікового контролю на 31,8%. Вміст малонового диальдегіду в тканинах сім'яників 5-денних щурят, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, також збільшувався порівняно с показниками 15-денних ембріонів на 26,7%, і водночас переважав одновіковий контроль на 43,8%. Розрахунки коефіцієнту

взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду показали, що він у даному випадку дорівнював 0,66, що практично не відрізнялось від показників 15-денних ембріонів, але він був достовірно нижчим за значення одновікового контролю. І в даному випадку звертає на себе увагу той факт, що посилення активності перекисного окислення ліпідів відбувається за рахунок більш значного росту вмісту малонового диальдегіду, що згідно існуючим уявленням [134] дає підставу трактувати даний факт як відхилення від фізіологічного стану.

Отже, наведені результати досліджень свідчать про те, що на етапах пізнього ембріогенезу та у ранньому постнатальному періодах в тканинах сім'яників першого покоління отриманого від опромінених перед спарюванням самців та самок, спостерігаються досить істотні відхилення у функціонуванні процесів ПОЛ, і зазначені зміни в основному відбувалися за рахунок різкого зростання вмісту малонового диальдегіду, що призводить до зрушення взаємовідносин між дієновими кон'югатами та малоновим диальдегідом. Такі зміни, можливо, негативно впливають на активність мітотичного поділу пресперматогоній, який активно відбувається саме на даних етапах розвитку, це проявляється в активації його, та збільшенні кількості патологічних форм мітозу.

При обстеженні 2-тижневих тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, було встановлено, що кількість дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників щурів цієї дослідної групи переважала рівень 15-денних ембріонів на 87,5% і була вищою за показники 5-денних щурят на 48,7%. Слід також зазначити, що кількість дієнових кон'югатів у тканинах сім'яників цих тварин переважала одновіковий контроль на 62,4%. Дослідження вмісту малонового диальдегіду, у тканинах сім'яників 2-тижневих щурят отриманих від опромінених попередників, показали, що він був вищим за рівень 15-денних ембріонів на 92,4%, що також було вищим на 51,8% за показники 5-денних щурят і водночас переважало данні одновікового контролю на 64,6%. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом

дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у даному випадку дорівнював 0,65, проявляючи при цьому тенденцію до зниження як порівняно з показниками попередніх вікових груп, так і по відношенню до аналогічних показників одновікового контролю. Таким чином, у 2-тижневих щурят в тканинах сім'яників спостерігалось пропорційне підвищення як кількості дієнових кон'югатів, так і малонового диальдегіду, і не зважаючи на їх високий вміст, коефіцієнт взаємовідносин між ними знаходиться майже на фізіологічному рівні. Означені зміни співпадали з тими морфологічними процесами які відбувалися у сперматогенному епітелії сім'яників. У даної групи тварин спостерігалось продовження мітотичного поділу пресперматогоній, хоча і не активний, тоді як за фізіологічних умов розвитку вони відсутні і переважають процеси диференціювання пресперматогоній у сперматогонії. Тобто, враховуючи існуючі дані відносно фізіологічної ролі процесів ПОЛ [32], ми дійшли до висновку, що система яка забезпечує сталість сперматогенезу, намагається в тій чи іншій мірі стабілізувати ситуацію.

Підтвердженням висловлених припущень про нестабільність функціонування сім'яників щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, свідчать і результати проведених досліджень у 1-місячних тварин. В результаті таких досліджень було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників цих щурів зростав порівняно з показниками 2-тижневих щурят та 15-денних ембріонів відповідно на 18,9% та 122,9%, і також переважав рівень одновікового контролю на 73,6%. Паралельно зазначеним змінам, спостерігалось збільшення вмісту малонового диальдегіду у цій віковій групі як порівняно з показниками 2-тижневих тварин так і стосовно 15-денних ембріонів та контролю. Цікавими були результати розрахунків коефіцієнту взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малоновим диальдегідом в тканинах сім'яників щурів на даному етапі онтогенезу. В результаті таких розрахунків встановлено, що коефіцієнт дорівнював 0,63, що було нижче порівняно зі значеннями цього

коефіцієнту у 2-тижневих щурят. Наведені факти свідчать про те, що у даному випадку інтенсифікація процесів ПОЛ в основному зростає за рахунок різкого збільшення утворення малонового диальдегіду. Наслідком таких змін в системі ПОЛ було те, що у цей час в сперматогенному епітелії сім'яників цих тварин з'являються патологічні мітози та відбувається інтенсифікація процесу сперматогенезу порівняно зі значеннями одновікового контролю.

При обстеженні 3-місячних щурів було виявлено, що в тканинах сім'яників вміст дієнових кон'югатів був вищим за показники 1-місячних, 2-тижневих, 5-денних тварин та 15-денних ембріонів відповідно на 100,7%, 31,6%, 95,7% та 146,7%. Вміст малонового диальдегіду в тканинах сім'яників цієї групи також зростав і при цьому майже не відрізнявся від показників 1-місячних, але був вищим за аналогічні значення 2-тижневих, 5-денних тварин та 15-денних ембріонів відповідно на 30,6%, 92,8% та 151,2%. Слід також зазначити, що вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у цій віковій групі щурів, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, був вищим за показники одновікового контролю відповідно на 87,4% та 97,9%. Таким чином, наведені результати досліджень показують, що в даній групі тварин спостерігається досить різка інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів і як на передніх етапах онтогенезу у цих тварин вона зростає за рахунок малонового диальдегіду. Підтвердженням цього є розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у цих тварин. Внаслідок яких встановлено що він дорівнював 0,66. Тобто, на даному етапі онтогенезу спостерігається вирівнювання швидкості утворення дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду, і незважаючи на відмінності їх кількості від контролю, взаємовідносини між ними знаходяться у фізіологічних межах. Така відносна сталість взаємовідносин між дієновими кон'югатами та малоновим диальдегідом при їх надмірній кількості спричинює до деяких позитивних змін у процесі сперматогенезу, що супроводжується деяким

збільшенням кількості звивистих каналців в яких відбувається нормальний процес сперматогенезу, хоча такі зміни не відповідають фізіологічному рівню.

При обстеженні 6-місячних щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів проявляв тенденцію до збільшення по відношенню до показників попереднього етапу онтогенезу і був достовірно вищим як за значення у тварин одновікового контролю, так і тварин всіх попередніх етапів онтогенезу. Кількість малонового диальдегіду в тканинах сім'яників даної групи тварин також проявляла тенденцію до збільшення порівняно з попереднім етапом онтогенезу і водночас була достовірно вищою як за рівень контролю. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малоновим диальдегідом в даному випадку достовірних відмінностей від контролю не мав, і дорівнював при цьому 0,65.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників 12-місячних тварин різко зростав як по відношенню до всіх значень у тварин попередніх етапів онтогенезу так і контролю, та при цьому переважав останній на 160,3%. Вміст малонового диальдегіду у цих тварин був також достовірно вищим за всі попередні показники і переважав рівень контролю на 123,4%. Такі зміни вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів викликали достовірне збільшення коефіцієнту взаємовідносин між дієновими кон'югатами та малоновим диальдегідом, що в свою чергу призводило до дезорганізації процесу сперматогенезу у цих тварин, різкому збільшенню звивистих каналців зі спустошенням та росту дегенеративних форм клітин сперматогенезу.

Результати обстеження 24-місячних щурів, які були отримані від опромінених перед спарюванням самців та самок показали, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників переважав рівень контролю на 178,9%, що водночас було достовірно вищим за його значення у тварин на попередніх етапах онтогенезу та раннього ембріогенезу. Паралельно з цим

також в тканинах сім'яників цих тварин спостерігався ріст вмісту і малонового диальдегіду на 161,1% порівняно з показниками контролю, що було також значно вищим за його значення у тварин на всіх попередніх етапах постнатального розвитку та пізнього ембріогенезу. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду залишався на рівні 12-місячних тварин, що також супроводжувалось порушенням процесу сперматогенезу.

Очевидно, що такі зміни процесів ПОЛ є свідченням того, що тварини, які були отримані від опромінених перед спарюванням самців та самок є ознакою зниження неспецифічної резистентності організму в цілому і у сім'яниках зокрема, що в свою чергу негативно впливало на перебіг всіх етапів сперматогенезу.

Підтвердженням цих припущень були результати досліджень функціонального стану ферментативної ланки антиоксидантної системи за показниками активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази.

В результаті проведених досліджень (табл. 4.4) було встановлено, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, активність супероксиддисмутази була дещо нижчою за показники контролю. Активність каталази в тканинах сім'яників цих тварин, порівняно до контролю, складала 80,7%. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів показали, що він дорівнював 8,4 (табл. 4.5), що було нижчим від його аналогічних значень в контролі на 18,4%. Отже, характерним для даної вікової групи тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, є те, що спостерігається зниження активності ферментів першої ланки антиоксидантного захисту, і зокрема супероксиддисмутази, що в свою чергу є ознакою накопичення супероксиданіону кисню, який сприяє посиленому окисленню ненасичених вищих жирних кислот. Проведені дослідження глутатіонзалежних ферментів в тканинах сім'яників 15-денних

АКТИВНІСТЬ СОД, КАТАЛАЗИ, ГЛУТАТІОНПЕРОКСИДАЗИ ТА
ГЛУТАТІОНТРАСФЕРАЗИ У ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ,
ОТРИМАНИХ ВІД ОПРОМІНЕНИХ ПОПЕРЕДНИКІВ

($M \pm m$; $n = 10$)

Вік тварин	Активність ферментів			
	СОД (у.о./г тк.)	Каталаза (м.о./г тк.)	ГП (нмоль/г тк)	ГТ (нмоль/г тк)
15-денні ембріони	52,99±0,48	18,46±0,76	9,21±0,88	41,88±1,54
5-денні щурята	57,58±1,31	18,55±0,98	10,49±1,23	46,39±0,82
2-тижневі	58,58±0,81	18,69±1,05	9,20±1,5	42,85±1,22
1-місячні	54,35±1,16	17,72±0,8	8,68±0,88	38,68±1,17
3-місячні	48,49±0,92	17,09±0,51	7,61±0,78	30,63±1,52
6-місячні	40,31±1,72	13,66±0,61	5,57±0,81	28,27±1,36
12-місячні	16,50±0,77	5,43±0,49	2,04±0,29	8,82±1,01
24-місячні	15,81±0,83	4,9±0,54	2,36±0,35	9,79±1,02

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну дослідження

Таблиця 4.5

Коефіцієнт співвідношення між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у тканинах сім'яників щурів отриманих від опромінених самців та самок

СОД/ ДК	Вік тварин							
	15-денні ембріони	5-денні щурята	2- тижневі	1- міс.	3- міс.	6- міс.	12-міс.	24-міс.
Коефі- цієнт	8,4	6,4	4,4	3,4	2,8	2,15	0,5	0,4

ембріонів отриманих від опромінених самців та самок показали, що активність глутатіонпероксидази у даному випадку була нижчою від контролю на 27,8%, а глутатіонтрансферази на 29,5%. Такі зміни в активності

глутатіонзалежних ферментів можуть свідчити про те, що в тканинах сім'яників тварин даної дослідної групи відбувається накопичення перекисів органічного походження з одного боку, і з другого, зниження інтенсивності транспорту продуктів їх розщеплення в глутатіонтрансферазній реакції. Слід також наголосити, що виявлені зміни в активності ферментів антиоксидантної системи добре погоджуються з викладеними вище результатами дослідження вмісту дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду.

В процесі обстеження 5-денних щурят було встановлено, що активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах їх сім'яників практично не відрізнялась від аналогічних значень 15-денних ембріонів і водночас була нижчою від значень одновікового контролю відповідно на 21,1% та 29,2%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у даному випадку дорівнював 6,4. Тобто проявлялась тенденція до зниження відносно попередніх показників і був достовірно нижчим за контроль на 39,6%. Таким чином, у новонароджених щурят, незважаючи на те, що відсутні достовірні відмінності активності супероксиддисмутази та каталази порівняно з 15-денними ембріонами, спостерігається зниження коефіцієнту взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів на 23,8% , що свідчить про зниження буферної ємності та потужності ферментативної ланки антиоксидантної системи. Активність глутатіонпероксидази та глутатіонтрансфери в тканинах сім'яників 5-денних щурят отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок проявляла деяку тенденцію до зниження відносно їх значень у попередньому терміні і при цьому стосовно одновікового контролю вона відповідно дорівнювала 35,6% та 41,3%. Наведені факти є ознакою того, що уже на п'ятий день після народження спостерігається зниження потужності ферментативної ланки антиоксидантної системи не тільки по відношенню до контролю але і порівняно з 15-денними ембріонами. Такі зміни є ознакою зниження

неспецифічної резистентності організму новонароджених щурят, що підтверджується змінами в функціональному стані сім'яників.

При обстеженні 2-тижневих тварин було встановлено, що активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах їх сім'яників також практично не відрізнялася від їх значень у 15-денних ембріонів та 5-денних тварин але стосовно до контролю їх показники становили відповідно 38,4% та 40,8%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у даному випадку дорівнював 4,4, що було нижчим за рівень одновікового контролю на 61,4%. При дослідженні активності глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази було встановлено, що у даному випадку їх показники також не відрізнялися попередніх термінів, але при цьому були нижчими стосовно одновікового контролю відповідно на 48,9% та 49,8%. Наведені факти свідчать про те, що на протязі двох тижнів життя активність ферментів практично знаходиться на одному рівні, тоді як за умов фізіологічного онтогенезу спостерігалось їх поступове підвищення. Отже, наведені дані досліджень показують, що у ранньому постнатальному онтогенезі практично не відбувається посилення буферної ємності антиоксидантної системи, внаслідок чого відбувається дисбаланс між процесами утворення кисеньреактивних продуктів та їх реалізацією. Такі зміни взаємовідносин в системі ПОЛ-АОС сприяють модифікації процесів сперматогенезу.

При обстеженні 1-місячних тварин було встановлено, що активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах сім'яників проявляла тенденцію до зниження порівняно з показниками всіх попередніх етапів онтогенезу і при цьому була нижчою за рівень контролю відповідно на 44,3% та 47,6%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів в даному випадку складав 3,4, що було нижчим від попереднього терміну на 22,7%, та стосовно контролю на 67,9%. Таким чином наведені факти свідчать про те, що функціональна спроможність антиоксидантних ферментів першої ланки різко падає порівняно з

фізіологічним контролем, що є ознакою накопичення супероксиданіону кисню, який сприяє інтенсифікації окислення органічних сполук, і з іншого боку блокує активність каталази, що сприяє накопиченню перекисних сполук водню. Активність глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази в тканинах сім'яників цих тварин у першому випадку практично не відрізнялася від рівня попереднього терміну, а в другому дещо знижувалась. При цьому активність глутатіонпероксидази стосовно одновікового контролю дорівнювала 45,9%, а глутатіонтрансферази 42,2%. І в даному випадку відзначається зниження функціональної спроможності ферментів, які спроможні утилізувати перекисні сполуки органічного характеру. Безумовно, що такі зміни в системі ПОЛ-АОС негативно відбиваються на функціональному стані сім'яників цих щурів.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що активність супероксиддисмутази в тканинах сім'яників 3-місячних щурів, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, достовірно знижувалась порівняно до попереднього терміну і водночас була достовірно нижчою за рівень контролю на 49,4%. Активність каталази в тканинах сім'яників цих тварин майже не відрізнялась від показників попереднього терміну, але при цьому була нижчою за показники одновікового контролю на 50,5%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів дорівнював 2,8, що було нижчим за попередній термін на 17,7% і нижчим ніж в контролі на 72,3%. Дослідження активності глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази в тканинах сім'яників щурів цієї дослідної групи показали, що у першому випадку вона практично не відрізнялася від рівня 1-місячних тварин а в другому проявляла тенденцію до зниження. Слід зазначити, що стосовно контролю активність цих ферментів була достовірно нижчою і дорівнювала для глутатіонпероксидази 60,9% і для глутатіонтрансферази 67,5%. Таким чином, у 3-місячних щурів активність каталази та глутатіонпероксидази є майже стабільною по відношенню до 1-

місячних тварин, тоді як активність супероксиддисмутази та глутатіонтрансферази проявляють тенденцію до зниження.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у 6-місячних щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, активність супероксиддисмутази та каталази проявляє тенденцію до зниження як по відношенню до попереднього терміну так і по відношенню до одновікового контролю, і стосовно останнього вона дорівнювала відповідно 58,9% та 60,7%. Тенденція до зниження активності спостерігалась і у випадку з глутатіонпероксидазою та глутатіонтрансферазою, а але якщо порівнювати з попереднім терміном то виявленні відмінності не носили достовірного характеру. Розрахунки коефіцієнту між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у даному випадку показали що він дорівнював 2,15. Отже, наведені факти свідчать про те, що починаючи з трьох місяців життя щурів народжених від опромінених самців та самок, і по шестимісячній місяць включно, спостерігається деяка сталість стаціонарного рівня антиоксидантних ферментів в тканинах сім'яників, але цей рівень більш як у два рази є нижчим від фізіологічного, а інтенсивність утворення продуктів перекисного окислення ліпідів більш як у чотири рази переважає функціональну спроможність цих ферментів до їх утилізації. Такі зміни в системі антиоксидантних ферментів, як уже зазначалось вище, супроводжуються досить істотною дезорганізацією процесу сперматогенезу.

При обстеженні 12-місячних тварин було встановлено, що активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах сім'яників щурів отриманих від опромінених попередників, майже в 3 рази була нижчою від їх значень в 3- та 6-місячних тварин, і стосовно до контролю вона відповідно дорівнювала 30,1% та 29,8%. Аналогічні зміни спостерігалися і в активності глутатіонзалежних ферментів. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів показав що він в даному випадку дорівнював 0,5. Слід зауважити, що зовнішній вигляд тварин, їх рухливість та реакція на зовнішні подразники також знаходилися

на дуже низькому рівні, що є очевидно ознакою передчасного старіння цих тварин. Ці данні цілком співпадають з існуючими уявленнями відносно того, що надмірні кількості продуктів перекисного окислення ліпідів при низькій спроможності антиоксидантної системи є предикторами старіння [42].

Підтвердженням цих припущень були результати дослідження активності антиоксидантних ферментів в тканинах сім'яників 24-місячних щурів отриманих за умов описаних вище. Слід зауважити, що дожили до цього періоду лише 48% тварин.

Таким чином, виявлені зміни функціонального стану ферментів антиоксидантної системи в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від хронічно опромінених перед спарюванням в сумарній дозі 1,0 Гр самців та самок, показали, що практично у всіх термінах їх активність була значно нижчою за аналогічні показники одновікових контролів. Такі зміни в системі ПОЛ-АОС є ознакою того, що у тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, різко пригнічена неспецифічна резистентність тканин, що негативно впливає на функціональний стан. Безумовно, що такі порушення прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин негативно віддзеркалюються на всіх інших метаболічних процесах, і зокрема на біоенергетиці та системах регуляції.

4.3 Вміст макроергів в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу нащадків отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок

В результаті проведених досліджень (табл. 4.6) було встановлено, що у 15-денних ембріонів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок в сумарній дозі 1,0 Гр вміст АТФ був нижчим на 12,6% порівняно з показниками контролю. Вміст АДФ у цих ембріонів практично не відрізняється від контролю, тоді як вміст АМФ був нижчим на 14%. Характерним також для даного етапу було і те, що коефіцієнти співвідношення між АТФ та АМФ дорівнював 6,64, а між АТФ та АДФ – 6,54 (табл. 4.7), що в обох випадках було дещо вищим за контроль.

Таблиця 4.6

Вміст аденілових нуклеотидів у тканині сім'яників щурів, отриманих від опромінених батьків

($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г тканини)

Вік тварин	Вміст аденілових нуклеотидів		
	АТФ	АДФ	АМФ
15-денні ембріони	16,27±1,54	2,49±0,55	2,45±0,54
5-денні щурята	17,09±1,72*	2,59±0,58*	2,48±0,54*
2-тижневі	15,45±1,76	2,39±0,41	2,4±0,39
1-місячні	15,63±1,78	2,42±0,4	2,27±0,67
3-місячні	15,57±1,59	2,38±0,59	2,21±0,54
6-місячні	8,9±0,33	1,33±0,41	1,34±0,39
12-місячні	6,09±0,86	0,96±0,26	0,92±0,25
24-місячні	5,04±0,14	0,7±0,16	0,74±0,19

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну дослідження

Таблиця 4.7

Коефіцієнт співвідношення між вмістом аденілових нуклеотидів у тканинах сім'яників щурів отриманих від опромінених самців та самок

Аденілові нуклеотиди	Вік тварин							
	15-денні ембріони	5-денні щурята	2-тижневі	1-місячні	3-місячні	6-місячні	12-місячні	24-місячні
АТФ/АДФ	6,54	6,59	6,47	6,46	6,54	6,69	6,35	7,2
АТФ/АМФ	6,64	6,89	6,14	6,89	5,89	6,64	6,62	6,81
АДФ/АМФ	1,02	1,05	0,99	1,07	1,08	0,99	1,05	0,95

Але при цьому необхідно зазначити, що виявлені відмінності не носили достовірного характеру. Отже, у 15-денних ембріонів, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, спостерігається достовірне зниження ендogenous пулу АТФ та АМФ, тоді як кількість АДФ практично

не відрізнялась від контролю. Очевидно виявлені зміни обумовлені негативним впливом γ -опромінення на синтез макроергів у самців та самок, що в свою чергу відображається на їх стані у ембріонів.

При обстежені щурят, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок в сумарній дозі 1 Гр, на п'ятий день після народження було встановлено, що в тканинах сім'яників спостерігалась деяка тенденція до збільшення кількості ендогенного пулу аденілових нуклеотидів порівняно з показниками 15-денних ембріонів, але стосовно до одновікового контролю вміст АТФ був нижчим на 26,5%, АДФ на 28% і АМФ на 27,5%. Таким чином, в тканинах сім'яників щурят які були отримані від опромінених попередників, на першому тижні їх життя спостерігалась деяка тенденція до збільшення вмісту АТФ, АДФ та АМФ, але вона була не достовірною, що в загальних рисах по своїй динаміці в деякій мірі нагадувало фізіологічні показники. В той же час виявлені відмінності між показниками контролю свідчать про те, що хоча напрямок і зберігається, проте енергозабезпечення тканин сім'яників є досить істотно нижчим. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між АТФ і АМФ показали, що він у даному випадку дорівнював 6,89, між АТФ та АДФ – 6,59, між АДФ та АМФ – 1,05. В перших двох випадках величина коефіцієнту проявляла тенденцію до збільшення порівняно з аналогічними даними в контролі, тоді як в третьому випадку він дещо знижується.

В результаті проведених досліджень вмісту макроергів в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят отриманих від хронічно опромінених перед спарюванням самців та самок в сумарній дозі 1,0 Гр, було встановлено, що їх кількість знижувалась відносно показників 5-денних щурят і особливо це стосується АТФ. В той же час кількість АТФ була нижчою за рівень одновікового контролю на 38,4%, АДФ на 37,8%, АМФ на 34,6%. Наведені факти показують, що найбільш інтенсивно знижується кількість АТФ. Відповідно з цим було виявлено, що коефіцієнт співвідношення між вмістом АТФ та АМФ дорівнював 6,44, між АТФ та АДФ – 6,47, між АДФ та АМФ –

0,99. Слід зазначити, що в усіх випадках коефіцієнти були нижчими як за значення контролю так і за значення 5-денних щурят, що було ознакою не тільки зниження ендогенного пулу макроергів, але і про порушення їх взаємовідносин між собою. Звідсіля стають зрозумілими і виявлені відхилення в процесах сперматогенезу таких тварин.

В результаті проведених досліджень встановлено, що в тканинах сім'яників 1-місячних щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, вміст АТФ, АДФ та АМФ практично не відрізнявся в абсолютних показниках від аналогічних значень у 2-тижневих щурят, але водночас був нижчим від показників одновікового контролю відповідно на 37,2%, 38,1% та 39,8%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом АТФ та АМФ в тканинах сім'яників цих тварин дорівнював 6,89, між АТФ та АДФ – 6,47 та між АДФ та АМФ – 1,07. Аналіз розрахунків коефіцієнтів співвідношення між окремими формами аденілових нуклеотидів у даному випадку показав, що ступінь дезорганізації зростає як по відношенню до показників попереднього терміну, так і по відношенню до одновікового контролю. Виявлені зміни вмісту та взаємовідносин між макроергічними сполуками в тканинах сім'яників супроводжувались і досить істотними відхиленнями в процесі сперматогенезу від фізіологічного рівня.

Дослідження вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 3-місячних щурів, отриманих від опромінених попередників, показали, що їх абсолютна кількість знаходиться на рівні показників 1-місячних тварин, але стосовно до контролю вона була нижчою для АТФ на 35,9%, АДФ на 36,5% і для АМФ на 39,8%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом АТФ та АМФ дорівнював 7,05, між вмістом АТФ та АДФ – 6,54 та між вмістом АДФ та АМФ – 1,08. Отже в усіх випадках коефіцієнти співвідношення між окремими макроергічними сполуками були дещо вищими за контроль, що було ознакою відхилення в біосинтезі цих сполук. Таким чином, наведені факти свідчать, що починаючи з двохтижневого и по трьохмісячний вік включно, не дивлячись на зростаючі потреби організму який росте, та

зокрема сім'яників, вміст аденілових нуклеотидів знаходиться на дуже низькому стаціонарному рівні порівняно з показниками контролю, що в свою чергу негативно віддзеркалюється на функціональному стані сперматогенного епітелію та процесах сперматогенезу.

При обстеженні 6-місячних щурів, отриманих від хронічно опромінених в сумарній дозі 1,0 Гр перед спарюванням самців та самок, було встановлено, що вміст АТФ, АДФ та АМФ майже вдвічі був нижчим від аналогічних показників у 3-місячних тварин, і стосовно до контролю дорівнював відповідно 49,6%, 48,9% і 50,4%. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між вмістом АТФ та АМФ показали, що він дорівнював 6,64, між АТФ та АДФ – 6,69, між АДФ та АМФ – 0,99. Наведені факти показують, що дезорганізація між вмістом окремих форм аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників цієї вікової групи щурів продовжувала зростати.

У 12-місячних тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням попередників, вміст АТФ, АДФ та АМФ достовірно знижувалась відносно аналогічних значень у 6-місячних щурів, і стосовно до одновікового контролю дорівнював відповідно 38,7%, 39,4% та 40,2%. Відповідні коливання також відбувалися і взаємовідносинах між окремими формами аденілових нуклеотидів, що в сукупності було ознакою різкого падіння енергозабезпечення тканин сім'яників.

Аналіз результатів дослідження вмісту макроергічних сполук в тканинах сім'яників 24-місячних щурів, отриманих за умов викладених вище показав, що вміст АТФ, АДФ та АМФ був нижчим від аналогічних показників 12-місячних і стосовно до одновікового контролю відповідно дорівнював 36,4% 30,6% та 33,2%. Розрахунки коефіцієнтів співвідношення між окремими формами аденілових нуклеотидів виявили також відхилення як по відношенню до попереднього терміну так і контролю.

Таким чином, отримані результати досліджень показали, що у самців, які були отримані від хронічно опромінених перед спарюванням в сумарній

дозі 1,0 Гр самців та самок, спостерігалось зниження вмісту, по відношенню до контролю, усіх форм аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників як у пізньому ембріогенезі, так і на всіх етапах постнатального розвитку. Отримані результати також дають нам підставу висловити припущення про те, що надмірні кількості продуктів перекисного окислення ліпідів та низька активність ферментативної ланки антиоксидантної системи захисту у тканинах сім'яників таких щурів спричиняють пригнічення окислювального фосфорилування внаслідок порушення структури і функціонування мембран мітохондрій, що в свою чергу призводило до зниження кількості макроєгрічних сполук та порушення фізіологічного перебігу сперматогенезу.

4.4 Особливості вмісту циклічних нуклеотидів та активність ферментів синтезу і утилізації цАМФ в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від опромінених самців та самок.

В результаті проведених досліджень встановлено (табл.4.8), що у 15-денних ембріонів самці та самки яких перед спарюванням підпали під тривале, хронічне γ -опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр, вміст цАМФ був на 14,7% нижчим, а цГМФ вищим на 18,0% за аналогічні значення в контролі. Такі зміни вмісту циклічних нуклеотидів супроводжувались не тільки кількісними проявами, але і відхиленнями у взаємовідношеннях між ними. При цьому коефіцієнт взаємовідношення між вмістом цАМФ та цГМФ був нижчим на 27,7% від аналогічних значень в контролі.

У новонароджених (5-денні щурята) вміст цАМФ в тканинах сім'яників в абсолютних величинах практично не відрізняється від аналогічних значень у ембріонів, але водночас був нижчим за рівень контролю на 29,8%. Кількість цГМФ в тканинах сім'яників цих тварин була на 32,6% вищою від аналогічних значень у 15-денних ембріонів і водночас переважала рівень одновікового контролю 29,2%. Коефіцієнт взаємовідношення між цАМФ та цГМФ у цих тварин достовірно знижувався як по відношенню до його значень у 15-

денних ембріонів так і по відношенню до одновікового контролю, і стосовно останнього він дорівнював 54,1%.

Таблиця 4.8

Вміст циклічних нуклеотидів у тканині сім'яників щурів, отриманих від опромінених батьків
($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г тканини)

Вік тварин	Вміст циклічних нуклеотидів		
	цАМФ	цГМФ	цАМФ/цГМФ
15-денні ембріон	52,33±2,02	35,85±1,22	1,46
5-денні щурята	52,56±1,46	47,24±1,25	1,11
2- тижневі	50,93±1,57	54,11±1,23	0,94
1-місячні	53,34±1,68	59,61±2,12	0,9
3-місячні	45,07±1,96	70,21±2,01	0,64
6 місячні	33,12±2,01	68,67±1,5	0,48
12-місячні	15,82±1,61	67,68±1,69	0,24
24-місячні	11,66±1,69	79,83±1,65	0,15

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну дослідження

Таким чином, наведені факти свідчать про те, що у новонароджених щурят самці та самки, які перед спарюванням зазнали впливу хронічного γ -опромінення в низьких дозах спостерігалось зниження вмісту цАМФ та збільшення вмісту цГМФ порівняно одновіковим контролем. Такі кількісні зміни вмісту циклічних нуклеотидів призводять до порушення взаємовідносин між ними. Посилаючись на результати досліджень інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів ми вважаємо, що надмірні кількості їх продуктів негативно впливають на функціональний стан системи циклічних нуклеотидів і наслідком цього виявляються такі глибокі зміни. Виявленні відхилення вмісту циклічних та їх кількісні взаємовідносини між собою, очевидно, є ознакою дестабілізації метаболічних

процесів в тканинах сім'яників, що в свою чергу негативно віддзеркалюється на їх функціональному стані.

При обстеженні 2-тижневих щурят було встановлено, що в тканинах їх сім'яників вміст цАМФ практично не відрізняється в абсолютних величинах від показників 15-денних ембріонів та 5-денних щурят, але стосовно одновікового контролю він дорівнював 62,2%. Паралельно до зазначених змін було встановлено, що в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят спостерігалось достовірне збільшення кількості цГМФ як по відношенню до його значень на всіх попередніх етапах онтогенезу, так до одновікового контролю, і при цьому він переважав рівень останнього на 36,3%. Такі зміни вмісту циклічних нуклеотидів супроводжувались зниженням величини коефіцієнту взаємовідносин між вмістом цАМФ та цГМФ як по відношенню до його значень на всіх попередніх етапах розвитку, так і до контролю, і він дорівнював 0,94, що на 54,4% було нижче стосовно останнього.

При обстеженні 1-місячних щурів встановлено, що вміст цАМФ в його абсолютних значеннях залишався приблизно на тому ж рівні, як і на попередніх етапах онтогенезу, але стосовно до контролю він був нижчим на 49,8%. При цьому необхідно підкреслити, що кількість цГМФ продовжувала неухильно зростати, порівняно з його значеннями на попередніх етапах онтогенезу і відносно одновікового контролю, та при цьому вона переважала останній на 36,7%. Звертає на себе увагу і той факт, що у даному випадку спостерігається деяка стабілізація величини коефіцієнту взаємовідношення між вмістом цАМФ та цГМФ відносно показників 2-тижневих тварин, але стосовно до контролю він є нижчим на 56,1%.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у 3-місячних тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, спостерігалась тенденція до зниження вмісту цАМФ як по відношенню до попередніх термінів так і до одновікового контролю, і стосовно останнього він дорівнював 48,3%. Таке зменшення кількості цАМФ супроводжується достовірним збільшенням вмісту цГМФ в тканинах сім'яників цих щурів як

стосовно до попередніх термінів дослідження, так і до значень одновікового контролю, і при цьому вона переважає рівень останнього на 54,1%. Такі зміни в кількісних параметрах вмісту цАМФ та цГМФ призвели до різкого зниження коефіцієнту взаємовідношень між вмістом цих циклічних нуклеотидів, який на даному етапі онтогенезу складав 0,64, що було нижчим за показники 2-тижневих на 38,9%, а стосовно до одновікового на 70,8%.

Таким чином наведені факти показують, що вміст цАМФ починаючи з його значень у 15-денних ембріонів і включно по перший місяць життя знаходився майже на одному рівні, тоді як за фізіологічних умов спостерігалось його постійне підвищення. Напроти, кількість цГМФ проявляла тенденцію до неухильного росту. Очевидним стає факт, що в тканинах сім'яників щурів отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали хронічного γ -опромінення в низьких дозах, спостерігаються досить істотні відхилення в процесах метаболізму, які супроводжуються дестабілізацією взаємовідносин між анаболізмом та катаболізмом. Напевно, що такі зміни і призводять до тих структурно-функціональних зрушень в тканинах сім'яників, та негативно відображуються на процесах сперматогенезу.

В результаті проведених досліджень встановлено, що у 6-місячних щурів вміст цАМФ в тканинах сім'яників продовжував знижуватися по відношенні до його значень на всіх попередніх етапах онтогенезу та порівняно до одновікового контролю, і стосовно до останнього вона дорівнює 38,6%. Тоді як кількість цГМФ на даному етапі практично не відрізняється від показників 3-місячних тварин, але водночас на 62,9% переважала рівень контролю. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом цАМФ та цГМФ дорівнював 0,48, що по відношенню до попереднього етапу було менше на 25% і стосовно до контролю на 23,5%.

У 12-місячних щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, вміст цАМФ майже в двічі був нижчим за показники 6-місячних тварин і стосовно до контролю дорівнював 30,2%. В той же час

кількість цГМФ в абсолютних показниках майже не відрізнялась від попереднього етапу онтогенезу, але переважала величину фізіологічного контролю на 73,9%. Коефіцієнт взаємовідносин між цими двома циклічними нуклеотидами на даному етапі знижувався і був майже вдвічі нижчим від аналогічних значень у 6-місячних щурів та стосовно до контролю дорівнював 17,8%.

Дослідження вмісту цАМФ у 24-місячних щурів показали, що він був нижчим ніж у 12-місячних і стосовно до одновікового контролю дорівнював 25,3%, а кількість цГМФ у даному випадку знову проявляла тенденцію до збільшення як по відношенню до попередніх етапів онтогенезу так і стосовно одновікового контролю, і стосовно до останнього була більшою на 88,9%. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між вмістом цАМФ та цГМФ показали, що він дорівнював 0,15. Тобто він був нижчим від попереднього терміну на 37,5% і відносно до контролю на 86,3%.

Таким чином, в результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників щурів отриманих від самців та самок які зазнали перед спарюванням впливу хронічного γ - опромінення в сумарній дозі 1,0 Гр, починаючи з пізнього ембріогенезу і закінчуючи двадцятичотирьох місячним віком спостерігається низький рівень вмісту цАМФ. Аналіз цих даних надає нам можливість виділити три етапи. Перший етап від 15-денних ембріонів до одного місяця життя включно характеризується стабільним вмістом цього нуклеотиду в тканинах сім'яників таких тварин. Другий етап (3-місячні та 6-місячні щурі), характеризувався тенденцією до зниження кількості цАМФ в тканинах сім'яників. Для третього етапу (12-місячні та 24-місячні тварини) характерною ознакою був низький вміст даного циклічного нуклеотиду. Динаміка змін цГМФ у тканинах сім'яників щурів, отриманих за зазначених вище умов, мала зворотній характер.

Зазначені факти дозволяють нам висловити припущення про те, що в тканинах сім'яників першого покоління отриманого від самців та самок які зазнали перед спарюванням впливу хронічного γ - опромінення в сумарній

дозі 1,0 Гр, спостерігаються глибокі структурно-метаболичні зрушення, що вірогідно є одним із провідних механізмів порушення сперматогенезу, і відповідно формування активних сперматозоїдів здібних до запліднення. Можливо, що провідну роль в дестабілізації метаболичних процесів відіграють процеси перекисного окислення ліпідів, та активність ферментативної ланки антиоксидантної системи, зрушення рівноваги у взаємовідносинах яких призводить до накопичення надмірних кількостей кисень реактивних сполук, які можуть модифікувати функціональний стан системи цикличних нуклеотидів. З метою підтвердження цих припущень нами були проведені дослідження активності аденілатциклази, ферменту який каталізує реакцію синтезу цАМФ, та активності цАМФ-залежної фосфодіестерази, ферменту який приймає участь в реакціях гідролізу останнього.

В результаті проведених досліджень встановлено (табл. 4.9), що у 15-денних ембріонів, отриманих від опромінених перед спарюванням, за зазначених вище умов, самців та самок, в тканинах сім'яників активність аденілатциклази була на 17,6% нижчою від аналогічних показників в одновіковому контролі, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази посилюється на 16,2% відносно останнього. При цьому коефіцієнт взаємовідносин між активністю цих двох ферментів дорівнював 1,0, що було нижчим від контролю на 28%.

У 5-денних щурят активність аденілатциклази в абсолютних показниках проявляла тенденцію до збільшення відносно показників 15-денних ембріонів, але ці зміни не носили достовірного характеру, але стосовно до контролю вона була меншою на 26,1%. На відміну від цього активність цАМФ-залежної фосфодіестерази достовірно посилюється порівняно з її значеннями у 15-денних ембріонів, та переважала при цьому рівень одновікового контролю на 26,9%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази на даному

етапі дорівнював 0,96, що майже не відрізнялося від показників 15-денних ембріонів, але порівняно з контролем він був нижчим на 43%.

Таблиця 4.9

Активність аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у тканинах сім'яників щурів, отриманих від опромінених батьків

($M \pm m$; $n = 10$; пмоль/г тканини)

Вік тварин	Активність ферментів		
	АЦ	ФДЕ	АЦ/ФДЕ
15-денні ембріон	15,09±1,24	14,95±1,09	1,0
5-денні щурята	17,42±1,53	18,01±1,43	0,96
2-тижневі	16,15±1,23	20,95±0,99	0,77
1-місячні	16,53±1,3	21,58±1,43	0,76
3-місячні	15,68±1,29	20,3±1,23	0,77
6-місячні	9,56±1,66	18,88±1,55	0,5
12-місячні	4,89±0,67	30,29±1,29	0,16
24-місячні	4,18±0,52	34,4±1,06	0,12

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до попереднього терміну дослідження

У 2-тижневих тварин в результаті проведених досліджень було виявлено, що активність аденілатциклази практично знаходилась на рівні значень 5-денних тварин, і в той же час була нижчою від одновікового контролю на 35,1%. Також встановлено, що активність цАМФ-залежної фосфодіестерази в тканинах сім'яників достовірно посилювалась як по відношенню до попередніх етапів онтогенезу, так і одновікового контролю, і переважала рівень останнього на 40,3%. У даному випадку також спостерігалось зниження величини коефіцієнту взаємовідносин між активністю цих двох ферментів, як по відношенню до 5-денних тварин так і контролю, при цьому він був нижчим за показники останнього на 54,7%.

В результаті проведених досліджень активності аденілатциклази в тканинах сім'яників 1-місячних щурів, отриманих від опромінених перед впарюванням самців та самок, було встановлено, що вона знаходилась на рівні попередніх термінів досліджень, але при цьому була нижчою від рівня

одновікового контролю на 41,4%. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази достовірно не відрізнялася від значень 2-тижневих тварин, але переважала фізіологічні значення на 59,2%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку також не відрізнявся від значень 2-тижневих щурят, але був нижчим за контроль на 63,8%.

У 3-місячних щурів було встановлено, що активність аденілатциклази в тканинах сім'яників проявляла тенденцію до зниження відносно до її значень у 1-місячних тварин, і була нижчою за рівень одновікового контролю на 43,8%. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази в абсолютних значеннях практично не відрізнялась від показників попереднього етапу онтогенезу, але стосовно одновікового контролю була нижчою на 63,4%. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом цих ферментів в даному випадку становив 0,77.

Таким чином, наведені вище факти свідчать про те, що виявлені зміни синтезу та утилізації цАМФ корелюють зі змінами вмісту цього циклічного нуклеотиду в тканинах сім'яників щурів на всіх етапах онтогенезу.

При обстеженні 6-місячних щурів було встановлено, що активність аденілатциклази в тканинах сім'яників різко гальмується по відношенню до її значення на всіх попередніх етапах онтогенезу, і при цьому по відношенню до контролю вона становила 35,8%. Тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку практично не відрізнялась від попередніх етапів дослідження, але переважала рівень одновікового контролю на 67,3%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку знижувався як по відношенню до попередніх етапів розвитку, так і одновікового контролю, і відносно останнього складав 24,1%.

У 12-місячних щурів спостерігалось тенденція до зниження активності аденілатциклази і вона була майже вдвічі нижчою ніж у 6-місячних тварин, і стосовно до контролю вона складала 31,8%. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку навпроти в 1,6 рази була вищою

порівняно з 6-місячними тваринами, і при цьому по відношенню до одновікового контролю дорівнювала 80,6%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку дорівнював 0,16, що було в 5,8 рази нижче за одновіковий контроль та у 3,1 рази нижче від попереднього терміну дослідження.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 24-місячних тварин активність аденілатциклази майже не відрізнялась від значень попереднього етапу онтогенезу, а стосовно одновікового контролю була вищою на 30,9%. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку проявляла тенденцію до посилення відносно 12-місячних тварин і переважала показники контролю на 90,6%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю цих ферментів у даному випадку дорівнював 0,12, що було нижчим від рівня контролю в 6,3 рази.

Таким чином, наведені результати досліджень свідчать про те, що в тканинах сім'яників щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок на всіх етапах онтогенезу спостерігається низький рівень синтезу цАМФ та досить істотні перебудови процесів його гідролізу в цАМФ-фосфодіестеразній реакції. Наведені факти співпадають з існуючими даними [] про те, що надмірні кількості перекисних сполук інгібують активний центр аденілатциклази і навпаки посилює цАМФ-залежну фосфодіестерази. Все означене ще раз підтверджує висловлене припущення, що пусковим механізмом у розвитку структурно-функціональних зрушень в тканинах сім'яників є надмірні кількості продуктів перекисного окислення ліпідів, та низька функціональна спроможність ферментативної ланки антиоксидантної системи, що в значній мірі знижує неспецифічну резистентність організму до дії радіаційного фактору, а сам фактор призводить до порушення функціональної спроможності антиоксидантної системи. Наслідком таких метаболічних порушень очевидно є посилення катаболізму, та зміни у фізіологічному перебігу процесу сперматогенезу, що може призвести до передчасного статевого дозрівання, старіння організму самців та зниження функціональної здібності сперматозоїдів до запліднення.

РОЗДІЛ 5

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ, АКТИВНІСТЬ
АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ, ВМІСТ МАКРОЕРГІВ ТА СТАН
СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ В ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ НА
РІЗНИХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ ЩУРІВ ОТРИМАНИХ ВІД
АЛКОГОЛІЗОВАНИХ САМЦІВ ТА САМОК

На сьогоднішня однією із найбільш важливих не тільки в медичному, але й в соціальному аспекті в Україні, є проблема алкоголізму. Однією із сторін цієї актуальної, для практичної та теоретичної медицини, проблеми є вплив алкоголю на нащадків. Аналіз літературних даних за останні роки показав [165], що алкогольна інтоксикація батьків може впливати на нащадків трьома шляхами: 1) шляхом дії на статеві клітини; 2) шляхом дії на плід, що розвивається; 3) на постнатальний розвиток організму. Встановлено, що алкоголь уражує передміхурову залозу та сім'яники, викликаючи розлади. Відмічається зниження кількості активно рухливих сперматозоїдів на 80%, та збільшення патологічних форм до 83,3% [64]. У жінок за умов алкогольної інтоксикації яєчники або повністю підлягають жировому переродженню, або продукують не зрілі яйцеклітини. Крім того численні клінічні та лабораторні дослідження вказують на негативний вплив алкоголю на плід, що розвивається. Проте отримані з цього приводу дані є досить протиречивими.

Не дивлячись на багаточисленні дані щодо впливу алкоголю на нащадків, в доступній літературі майже відсутні дані щоб висвітлювали особливості розвитку та функціонування статевої системи нащадків осіб які перед заплідненням зловживали алкоголем. Актуальність цього питання обумовлено тим, що останнім часом різко збільшилась кількість сімей в яких обоє батьків страждають на алкоголізм. Майже не досліджені особливості та механізми порушення функціонального стану тканин сім'яників у осіб чоловічої статі батьки яких тривалий час зловживали алкогольними напоями. Вирішенню саме цих питань і присвячено цей розділ.

5.1 Особливості розвитку чоловічих статевих клітин в пізньому ембріогенезі та постнатальному розвитку щурів, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок

В результаті проведених досліджень на щурах-самцях отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, а самки продовжували його вживання і під час вагітності, було встановлено, що на етапі розвитку гоніцитів (15-денні ембріони) звивисті каналці за будовою не відрізнялися від одновікового контролю та тварин отриманих від γ -опромінених попередників (група порівняння). В то й же час слід відзначити, що їх кількість дещо зменшувалась (рис. 5.1). При цьому звертає на себе увагу той факт, що мітотичний індекс складав 0,28, це на 30% було менше від контролю та на 48,2% від групи порівняння. Процент патологічних мітозів знаходився на рівні контролю.

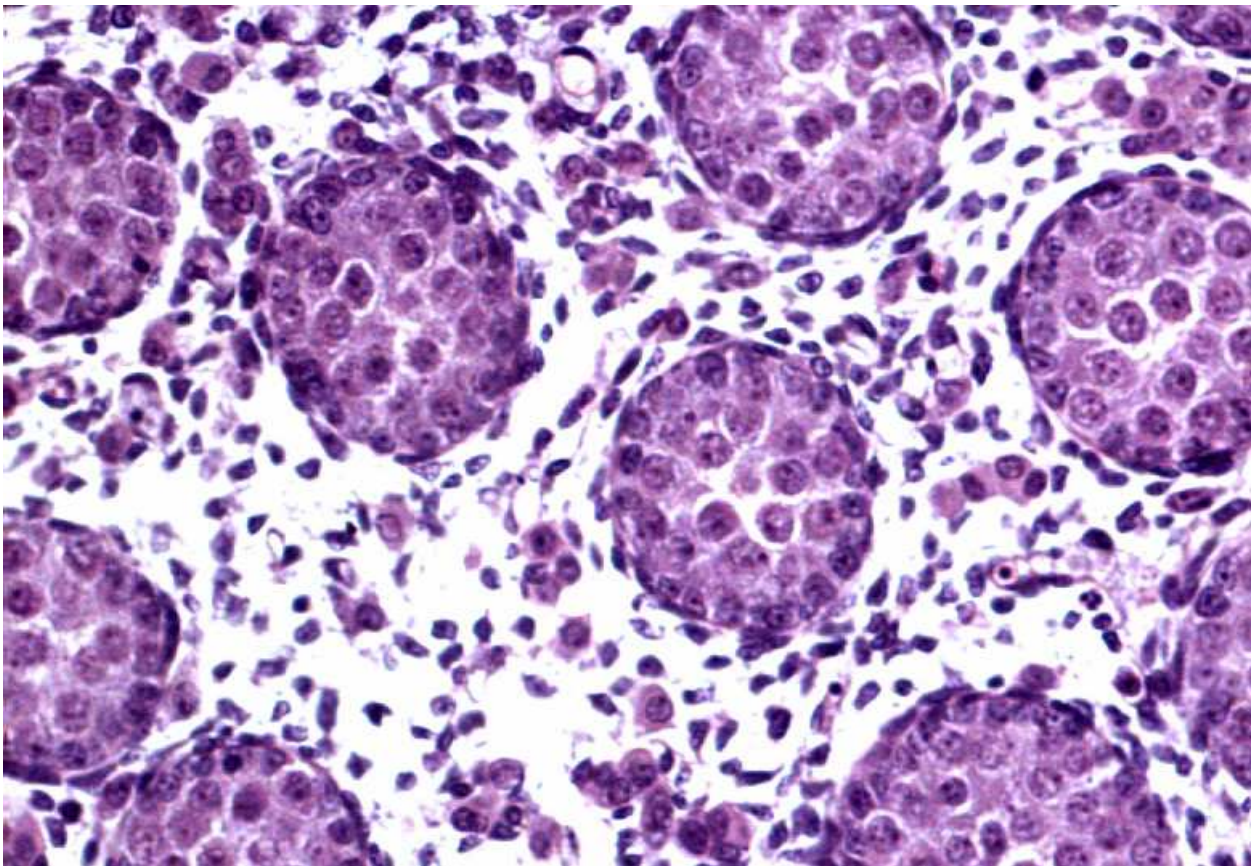


Рис 5.1. Сім'яник 15-денних ембріонів отриманих від алкоголізованих попередників . Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення x200

В ранньому постнатальному періоді, та в період статевого дозрівання (з 5-го дня життя по 1-місячний вік) зберігається тенденція до зниження всіх показників.

При підрахунку загальної кількості окремих форм клітин сперматогенного епітелію у звивистих каналцях статевозрілих тварин (3-та 6-місячні), отриманих від алкоголізованих попередників, було виявлено ряд особливостей (табл. 5.1). Так, звертає на себе увагу той факт, що якщо по

Таблиця 5.1

Кількість клітин сперматогенного епітелію у тварин отриманих
алкоголізованих попередників.

(млн., $M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Сперматогонії	Сперматоцити	Сперматиди	Сперматозоїди	Клітини Сертолі	Загальна кількість
1-місячні	111,5±10,3	93,4±9,8*	182,8±14,8	-	22,8±5,4*	410,5±17,2*
3-місячні	132,4±12,2	112,4±11,2*	286,1±17,4	196,9±17,4*	26,8±6,2*	754,6±23,3*
6-місячні	108,1±11,6	89,2±8,4*	225,8±15,3	163,3±14,6*	22,9±4,7*	609,3±18,5*
12-місячні	91,6±9,5	84,7±9,1*	204,9±14,2	158,3±13,2*	22,5±5,1*	562,0±14,8*
24-місячні	85,9±8,9	69,6±7,3*	185,7±12,7	143,9±11,5*	19,5±3,9*	504,6±13,6*

Примітки: 1. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

2. $P < 0,05$ по відношенню до одновікових тварин контролю в усіх випадках

відношенню до одновікового контролю всі показники у 3-х та 6-місячних тварин були достовірно нижчими, то по відношенню до показників одновікових щурів групи порівняння відмічено лише деяке зменшення кількості, сперматоцитів, сперматозоїдів та клітин Сертолі ($P > 0,05$), а число сперматид ($P < 0,05$) та загальна кількість клітин ($P > 0,05$) були вищими від показників останніх.

Подібна картина спостерігалась на всіх подальших етапах онтогенезу включно по двадцять четвертий місяць життя.

При аналізі даних спермограм статевозрілих тварин отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок було встановлено (табл. 5.2), що всі досліджувані показники були дещо нижчими від контролю. В той же час по відношенню до показників групи порівняння, незважаючи на зниження концентрації сперматозоїдів в еякуляті, спостерігається збільшення відсотку активно рухливих сперматозоїдів з прямолінійним рухом, та зменшення його сперматозоїдів без руху. Стосовно старих щурів (12-ти та 24-місячні) достовірних відмінностей від показників групи порівняння не виявлено, в той час як по відношенню до контролю вони були значно нижчими.

Таблиця 5.2

Показники спермограми щурів отриманих від алкоголізованих попередників
($M \pm m$, $n=6$)

Вік тварин	Концентрація сперматозоїдів (млн./мл)	Розподіл на класи за рухливістю (%)				Живі сперматозоїди (%)
		A	B	C	D	
3-місячні	24,9±4,8*	53,2±3,9	12,4±2,1*	12,7±3,2	21,7±2,1	89,9±4,6*
6-місячні	22,6±4,3*	46,8±4,1	13,6±2,8*	15,3±2,7	24,3±2,7*	88,3±4,2*
12-місячні	16,8±3,6*	38,9±3,6	15,4±3,2*	17,9±2,9	29,8±3,2*	85,4±5,1*
24-місячні	15,2±2,7	25,3±2,4	15,9±2,3	23,2±3,5	35,3±2,8*	81,7±4,8*

- Примітки: 1. А-активнорухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;
 2. В – малорухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;
 3. С - малорухливі сперматозоїди з коливальним або круговим рухом;
 4. D – сперматозоїди без руху;
 5. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікового контролю

Враховуючи вищенаведені результати досліджень та існуючі літературні дані [64], можна зробити припущення, що вплив алкоголю на розвиток статевих клітин є більш виразним порівняно з γ -опроміненням в малих дозах, і має всі ознаки токсичного впливу, який проявляється в пригніченні росту та розвитку статевих клітин на початкових етапах.

Для уточнення патофізіологічних механізмів виявлених зрушень нами були проведені дослідження стану „критичних” метаболічних процесів в тканинах сім'яників щурів-самців на різних етапах їх онтогенезу.

5.2 Перекисне окислення ліпідів та активність ферментів антиоксидантної системи в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст дієнових кон'югатів переважав рівень одновікового контролю на 32,7%, а вміст малонового диальдегіду на 36,8% (табл. 5.3). Звертає увагу на себе той факт, що виявлені зміни вмісту дієнових кон'югатів були достовірно вищими за показники аналогічної вікової групи тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок. Кількість же малонового диальдегіду в цих дослідних групах практично не відрізнялась. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малоновим диальдегідом у тканинах сім'яників цих тварин показують, що він майже не відрізнявся від значень контролю, але на дещо був вищий за аналогічні значення у тварин отриманих від опромінених самців та самок.

При обстеженні 5-денних щурят було встановлено, що в тканинах сім'яників вміст дієнових кон'югатів був вищим за контроль на 46,6% а малонового диальдегіду на 48,9%. Порівняльний аналіз з аналогічними показниками у тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок показує, що і в даному випадку вміст дієнових кон'югатів був вищим на 11,3%, а вміст малонового диальдегіду практично не відрізнявся. Величина коефіцієнту взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду дорівнювала 0,71, що майже не відрізнялося від контролю, але дещо було вищим ніж у тварин отриманих від опромінених попередників.

В результаті проведених досліджень було також встановлено, що у 2-тижневих щурят попередники, яких зазнали тривалого впливу алкоголю перед спарюванням, вміст дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників переважав рівень контролю на 55,6%, а малонового диальдегіду на 55%. При цьому необхідно відзначити, що виявлені зміни практично не відрізнялися в обох випадках від аналогічних значень подібної вікової групи тварин отриманих від опромінених самців та самок. Характерним було і те, що величина коефіцієнту взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду наблизилась до аналогічних значень у щурів отриманих від опромінених попередників.

ТАБЛИЦЯ 5.3

ВМІСТ ДІЄНОВИХ КОН'ЮГАТИВ ТА МАЛОНОВОГО ДИАЛЬДЕГІДУ У
ТКАНИНІ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД
ПОПЕРЕДНИКІВ, ЩО ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ АЛКОГОЛЮ

($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г)

Вік тварин	Вміст продуктів ПОЛ		
	ДК	МДА	ДК/МДА
15-денні ембріон	8,07±0,28	11,31±0,35*	0,72
5-денні щурята	10,07±0,52	14,15±0,27*	0,71
2-тижневі	12,99±0,31*	19,53±0,86*	0,67
1-місячні	14,46±0,4	21,85±0,75	0,66
3-місячні	15,18±0,4	22,48±0,76	0,68
6-місячні	15,36±0,38	23,42±0,78	0,66
12-місячні	24,08±0,65	35,56±0,74	0,68
24-місячні	31,03±0,75	46,19±0,66	0,67

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

У 1-місячних щурів отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок було виявлено, що вміст дієнових кон'югатів був вищим за рівень контролю на 56,8%, а малонового диальдегіду на 60,7%. У даному

випадку кількість дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників була дещо нижчою від аналогічних значень у тварин отриманих від опромінених попередників, тоді як вміст малонового диальдегіду достовірно нижчим. Не було виявлено відмінностей у величині коефіцієнту взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду.

Таким чином, наведені дані свідчать про те, що на етапах пізнього ембріогенезу та раннього постнатального онтогенезу тварин, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, інтенсивність перекисного окислення ліпідів була вищою від аналогічних значень щурів отриманих від опромінених попередників. Суттєвим є і той факт, що у 2-тижневих щурят попередники яких зазнали впливу алкоголю інтенсивність процесів ПОЛ практично не відрізнялась від аналогічних значень у тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.

Після одного місяця життя спостерігалось зниження вмісту дієнових кон'югатів у тварин отриманих від алкоголізованих попередників порівняно з показниками щурів попередники, яких перед спарюванням зазнали впливу хронічного γ -опромінення.

При обстеженні статевозрілих тварин (3-місячні) отриманих від самців та самок які зазнали негативного впливу алкоголю, було виявлено, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників був вищим за рівень контролю на 60,7%, а малонового диальдегіду на 64,3%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду дорівнював 0,68, що було нижчим ніж в контролі. Виявлені зміни активності процесів перекисного окислення ліпідів у цій віковій групі були достовірно нижчими від аналогічних значень відносно одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 6-місячних тварин попередники, яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь вміст дієнових кон'югатів переважав рівень контролю на 62,2%, а малонового диальдегіду на 69,5%. Коефіцієнт

взаємовідносин між вмістом останніх у даному випадку дорівнював 0,66. Порівняльний аналіз з одновіковими тваринами отриманими від опромінених попередників, показав що вміст дієнових був нижчим на 22,1%, а малонового диальдегіду на 23,9%.

У 12-місячних тварин, попередники яких зазнали негативного впливу алкоголю, було виявлено, що в тканинах сім'яників вміст дієнових кон'югатів порівняно до контролю був вищим на 88,7%, а малонового диальдегіду на 90,5%. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом цих продуктів перекисного окислення ліпідів дорівнював 0,68. І в даному випадку показники вмісту дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду були достовірно нижчими від аналогічних показників одновікових тварин отриманих від самців та самок, які перед спарюванням зазнали впливу хронічного γ -опромінення.

У 24-місячних тварин отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, вміст дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників був вищим за рівень контролю на 111,7%, а малонового диальдегіду на 130%. І при цьому ці величини були нижчими відносно аналогічних у тварин отриманих від опромінених попередників відповідно на 31,8% та 13,8%. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у даному випадку дорівнював 0,67, що було також нижчим ніж у тварин отриманих від опромінених попередників.

Таким чином, наведені вище факти свідчать про те, що в тканинах сім'яників щурів першого покоління, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, спостерігається досить істотне посилення процесів перекисного окислення ліпідів на всіх етапах онтогенезу порівняно з фізіологічними показниками. В той же час порівняльний аналіз цих даних з аналогічними значеннями тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, показує, що у пізньому ембріогенезі та ранньому постнатальному онтогенезі інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів у них вища за рахунок більшої кількості дієнових

кон'югатів, тоді як вміст малонового діальдегіду суттєвої відмінності не мав. Після трьохмісячного віку інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів в тканинах сім'яників тварин отриманих від алкоголізованих попередників була достовірно нижчою від аналогічних значень у щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.

Поясненням таких розбіжностей може бути різний механізм активації вільнорадикальних процесів.

Важливим моментом у з'ясуванні механізмів розвитку процесів ліпопероксидації були результати досліджень активності ферментів антиоксидантної системи на різних етапах онтогенезу тварин отриманих від попередників, які тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь.

Внаслідок таких досліджень (табл. 5.4) було встановлено, що у 15-денних ембріонів, отриманих за зазначених вище умов, активність

Таблиця 5.4

АКТИВНІСТЬ СОД, КАТАЛАЗИ, ГЛУТАТІОНПЕРОКСИДАЗИ ТА ГЛУТАТІОНТРАНСФЕРАЗИ У ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ, ОТРИМАНИХ ВІД ПОПЕРЕДНИКІВ, ЩО ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ АЛКОГОЛЮ

($M \pm m$; n = 10)

Вік тварин	Активність ферментів			
	СОД (у.о./1г.тк.)	Каталаза (м.о./1г.тк.)	ГП (нмоль/1г.тк)	ГТ (нмоль/1г.тк)
15-денні ембріон	45,63±1,31	15,69±0,73	7,42±0,58	35,98±1,54
5-денні щурята	51,21±1,36	17,95±0,73*	8,68±0,84	39,91±1,14
2-тижневі	52,31±1,23	15,95±0,56	7,93±0,68	39,38±1,01*
1-місячні	44,64±1,14	13,56±0,62	7,64±0,95	32,99±1,12
3-місячні	38,61±2,02	14,76±0,59	7,50±0,91*	28,75±1,26*
6-місячні	41,11±1,56*	13,49±0,5*	5,79±0,79*	22,04±1,13
12-місячні	11,16±0,8	3,23±0,38	1,82±0,51	9,24±1,02*
24-місячні	9,56±1,01	2,63±0,35	1,61±0,24	5,49±0,92

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників

супероксиддисмутази в тканинах сім'яників була нижчою за показники контролю на 17,1%. Активність каталази, в даній дослідній групі, також була достовірно нижчою відносно показників контролю, і стосовно до останнього становила 68,6%. Що стосується активності ферментів глутатіонової протиперекисної ланки, то вона для глутатіонпероксидази, стосовно до контролю, дорівнювала 58,2%, а для глутатіонтрансферази 60,6%. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів в тканинах сім'яників цих тварин показали, що він дорівнював 5,7 (табл. 5.5), що було нижчим за контроль на 80,7%. Порівняльний аналіз отриманих результатів досліджень у тварин, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, з аналогічними даними одновікових тварин, отриманих від опромінених попередників, показав, що активність досліджуваних ферментів у всіх без виключення випадках була нижчою. Можливо, що таке явище обумовлене токсичним впливом ацетальдегіду (продукту розщеплення етанолу) на активні центри зазначених ферментів.

Таблиця 5.5

КОЕФІЦІЄНТ СПІВВІДНОШЕННЯ МІЖ АКТИВНІСТЮ
СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ТА ВМІСТОМ ДІЄНОВИХ
КОН'ЮГАТИВ У ТКАНИНАХ СІМ'ЯНИКІВ ОТРИМАНИХ ВІД
ПОПЕРЕДНИКІВ, ЩО ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ АЛКОГОЛЮ

СОД/ДК	Вік тварин							
	15-денні ембріони	5-денні щурята	2- тижневі	1- місячні	3- місячні	6- місячні	12- місячні	24- місячні
Коефі- цієнт	5,7	5,1	4,03	3,09	2,6	2,7	0,5	0,3

При обстеженні 5-денних щурят, отриманих від алкоголізованих попередників, було встановлено, що активність супероксиддисмутази в тканинах їх сім'яників була нижчою за показники контролю на 29,8%,

каталази на 31,5%, глутатіонпероксидази на 46,7% та глутатіонтрансферази на 49,5%. При цьому необхідно зазначити, що в усіх без виключення ферментів спостерігається тенденція до посилення їх активності порівняно з показниками 15-денних ембріонів. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів дорівнював 5,1, це було нижчим ніж в контролі на 50,4%. Провівши порівняння отриманих результатів дослідження з аналогічними показниками одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, було встановлено, що відмічається тенденція до пригнічення активності всіх ферментів, а саме активність супероксиддисмутази була нижчою на 31%, зниження активності каталази не носило достовірного характеру, а активність глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази була нижчою відповідно на 20,9% та 16,3%.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 2-тижневих щурів, отриманих від алкоголізованих попередників, активність супероксиддисмутази була нижчою за показники контролю на 45%, каталази на 49,5%, глутатіонпероксидази на 55,9% та глутатіонтрансферази на 53,9%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів, в даній віковій групі, становив 4,03, що було достовірно нижчим ніж в контролі. Слід також зауважити, що активність супероксиддисмутази та глутатіонтрансферази, в тканинах сім'яників цих тварин, практично не відрізнялась від аналогічних значень 5-денних щурят, тоді як активність каталази і глутатіонпероксидази проявляла тенденцію до зниження. І в даному випадку спостерігалось більш глибоке пригнічення активності досліджуваних ферментів порівняльно а аналогічними показниками одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням попередників.

При обстеженні 1-місячних щурів, отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, було встановлено, що активність супероксиддисмутази була нижчою за показники одновікового

контролю на 54,2%, активність каталази на 59,9%, активність глутатіонпероксидази на 58,6% і глутатіонтрансферази на 64%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у даному випадку становив 3,09, що було достовірно нижчим за показники контролю та аналогічні значення у тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок. Порівняльний аналіз отриманих результатів у 1-місячних з показниками 2-тижневих тварин показав, що абсолютні значення всіх досліджуваних ферментів проявляли тенденцію до зниження. Окрім того також відмічається тенденція до зниження активності даних ферментів і по відношенню показників одновікових тварин отриманих від опромінених попередників.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 3-місячних тварин, отриманих від алкоголізованих попередників, активність супероксиддисмутази була нижчою за рівень контролю на 59,7%, каталази на 57,7%, глутатіонпероксидази на 61,5% і глутатіонтрансферази на 68,5%. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між супероксиддисмутазою та дієновими кон'югатами показали, що він дорівнював 2,6. Це було нижчим за показники щурів, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, і стосовно до контролю дорівнював 25,7%. У даному випадку активність супероксиддисмутази і глутатіонтрансферази проявляла тенденцію до зниження порівняно з показниками одномісячних тварин, тоді як активність глутатіонпероксидази не відрізнялась від них, а каталази посилювалась. Порівняно з показниками у тварин цієї вікової групи отриманих від опромінених самців та самок активність супероксиддисмутази і каталази була достовірно нижчою, а глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази практично не відрізнялася від них.

Дослідження активності ферментів антиоксидантної системи захисту у 6-місячних щурів показали, що активність супероксиддисмутази у них була нижчою за рівень контрольних показників на 58,1%, каталази на 61,1%, глутатіонпероксидази на 69,6% та глутатіонтрансферази на 75,5%.

Коефіцієнт взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів у даному випадку становив 2,7, що практично не відрізнялося від показників попереднього етапу дослідження, і більш як у чотири рази було нижче за контроль. На даному етапі досліджень активність супероксиддисмутази та каталази практично не відрізнялась як від показників попереднього терміну дослідження так і значень тварин отриманих від опромінених попередників. Активність глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази у цей час була достовірно нижчою від рівня трьохмісячних тварин і стосовно до одновікової групи порівняння у першому випадку практично не відрізнялася, а в другому була нижчою на 28,3%.

Проведені дослідження проведені у 12-місячних тварин, отриманих від самців та самок, які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, активність супероксиддисмутази була нижчою за рівень контролю на 79,6%, каталази на 82,3%, глутатіонпероксидази на 81,3% і глутатіонтрансферази на 77,7%. Коефіцієнт взаємовідносин між супероксиддисмутазою та дієновими кон'югатами у даному випадку дорівнював 0,5, що практично не відрізнялось від його значень у одновікових тварин, отриманих від опромінених попередників і більш як у вісім раз було меншим ніж в контролі. Порівняно з показниками 6-місячних тварин активність супероксиддисмутази та каталази в даному випадку майже в 4 рази була нижчою, глутатіонпероксидази в 3,2 рази і глутатіонтрансферази в 2,4 рази. Співставлення цих результатів з показниками одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок показали, що активність супероксиддисмутази була нижчою на 47,9%, каталази на 68,1%, глутатіонпероксидази на 12,1% а глутатіонтрансферази практично не відрізнялася від них.

У 24-місячних щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок в тканинах сім'яників активність супероксиддисмутази стосовно до контролю дорівнювала 20%, каталази 16,3%, глутатіонпероксидази 17,9% і глутатіонтрансферази 13,9%. Розрахунки коефіцієнту взаємовідносин між активністю супероксиддисмутази та вмістом дієнових кон'югатів вказують

на те, що він був нижчим від показників контролю в 10,1 рази. Активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази на даному етапі досліджень проявляли тенденцію до зниження відносно аналогічних значень у 12-місячних тварин, і в усіх без виключення випадках були достовірно нижчими від аналогічних значень у одновікових щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок.

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать про те, що активність ферментативної ланки антиоксидантної системи на всіх етапах онтогенезу щурів, отриманих від самців та самок, які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, була достовірно нижчою як за показники контролю, так і тварин отриманих від радіаційно уражених самців та самок. Наведені факти дають підстави вважати, що тривале вживання алкоголю батьками призводить до більш глибоких зрушень активності антиоксидантного захисту у їх нащадків. Це, очевидно, обумовлено цілим рядом обставин. А саме, по-перш, негативним впливом ацетальдегіду на нейроендокринну систему, і зокрема симпатoadреналову; по-друге, негативним впливом його на процеси біосинтезу стероїдних статевих гормонів, які в певній мірі виконують функцію антиоксидантного захисту. слід також зауважити, що виявлені зрушення функціонального стану процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантних ферментів супроводжувалися в даному випадку і досить істотними структурно-функціональними змінами в тканинах сім'яників і зокрема в сперматогенному епітелії.

5.3 Вміст АМФ, АДФ та АТФ в тканинах сім'яників потомства, отриманого від алкоголізованих самців та самок

В результаті проведених досліджень (табл. 5.6) було встановлено, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів, отриманих від самців та самок, які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст АМФ був на

15,4% був вищим за контроль, АДФ на 10,3% а кількість АТФ практично не відрізнялась від останнього.

Таблиця 5.6

Вміст аденілових нуклеотидів у тканині сім'яників щурів, отриманих від батьків які зазнали впливу алкоголю
($M \pm m$; $n = 10$; нмоль / 1 г тк.)

Вік тварин	Вміст аденілових нуклеотидів		
	АТФ	АДФ	АМФ
15-денні ембріони	17,42±1,63*	3,28±0,8	3,29±0,75
5-денні щурята	18,92±1,8	3,34±0,64**	3,66±0,62**
2-тижневі	18,14±1,2	3,40±0,47	3,44±0,51**
1-місячні	16,75±1,47*	3,18±0,5	3,15±0,53
3-х місячні	15,15±1,19*	2,84±0,46	2,86±0,46
6-місячні	11,43±1,17	1,91±0,34	2,01±0,34
12-місячні	9,35±0,84	1,71±0,35	1,66±0,29
24-місячні	7,99±0,77	1,45±0,36	1,53±0,39

Примітки: 1. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

2. ** $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин контролю

Проведені розрахунки коефіцієнту співвідношень між окремими формами нуклеотидів (табл. 5.7) показали, що він між АТФ та АМФ дорівнював 5,29, між АТФ та АДФ 5,31 та між АДФ та АМФ 0,99. Слід зазначити, що в усіх випадках дані коефіцієнти вмісту окремих форм аденілових нуклеотидів були нижчими від аналогічних показників як в контролі, так і в ембріонів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок. При цьому необхідно відмітити, що вміст АТФ в тканинах сім'яників ембріонів, отриманих від алкоголізованих попередників, практично не відрізнявся від аналогічних значень у тварин отриманих від

опромінених самців та самок, тоді як вміст АМФ та АДФ переважав відповідно на 34,4% та 31,7%.

Таблиця 5.7

Коефіцієнт співвідношення між вмістом аденілових нуклеотидів у тканинах сім'яників щурів отриманих від алкоголізованих попередників

Аденілові нуклеотиди	Вік тварин							
	15-денні ембріони	5-денні щурята	2-тижневі	1-місячні	3-місячні	6-місячні	12-місячні	24-місячні
АТФ/АДФ	5,31	5,67	5,34	5,27	5,34	5,99	5,47	5,51
АТФ/АМФ	5,29	5,17	5,28	5,32	5,29	5,69	5,63	5,22
АДФ/АМФ	0,99	0,91	0,99	1,0	0,99	0,95	1,03	0,95

При обстеженні 5-денних щурят, попередники яких були алкоголізовані, було встановлено, що в тканинах їх сім'яників вміст АТФ був нижчим за рівень контролю 19,6%, тоді як вміст АМФ та АДФ практично не відрізнявся від останнього. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між окремим формами аденілових нуклеотидів показали, що між АТФ та АМФ він у даному випадку становив 5,17, між АТФ та АДФ - 5,67, між АДФ та АМФ - 0,99. Звертає на себе увагу той факт, що коефіцієнти співвідношення АТФ/АМФ, АТФ/АДФ та АДФ/АМФ були нижчими за аналогічні значення в контролі, і водночас в першому випадку був нижчим за аналогічні показники одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, а в другому та третьому він був вищим. Крім того абсолютні показники вмісту аденілових нуклеотидів, на даному етапі досліджень, практично не відрізнялися від значень у 15-денних ембріонів.

При дослідженні вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят було встановлено, що вміст АМФ практично не відрізнявся від рівня контролю, тоді як вміст АДФ та АТФ був нижчим відповідно на 11,65 та 17,7%. Слід також зазначити, що на даному етапі досліджень істотних відмінностей вмісту АМФ, АДФ та АТФ відносно

показників 5-денних щурят не були виявлені. Але при порівнянні цих результатів з аналогічними значеннями одновікових тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням попередників, було встановлено, що вміст АМФ, АДФ та АТФ у них був нижчим, відповідно на 30,2%, 29,7% та 14,8%. Розрахунки коефіцієнтів співвідношень між цими нуклеотидами в тканинах сім'яників 2- тижневих щурят отриманих від алкоголізованих попередників показали, що у співставленні вмісту АТФ та АМФ він дорівнював 5,28, між АТФ та АДФ – 5,34 і між АДФ та АМФ – 0,99. Порівняльний аналіз цих величин даних з аналогічними даними у одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, вказує на те що значення для коефіцієнтів АТФ/АМФ і АТФ/АДФ були нижчими від останніх, тоді як коефіцієнт АДФ/АМФ практично не відрізнявся.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 1-місячних тварин отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст АМФ, АДФ та АТФ був нижчим на показники контролю відповідно на 16,4% 18,6% та 32,7%. Звертає на себе увагу одна цікава особливість, що починаючи с двотижневого віку найбільш інтенсивно відбувалося зниження вмісту АТФ порівняно з іншими нуклеотидами. Можливо, що таке різке падіння вмісту АТФ в тканинах сім'яників щурят, отриманих від алкоголізованих попередників, пов'язано з порушенням його синтезу, а тому для цієї реакції в значно меншій мірі використовуються його попередники, і зокрема АДФ. Якщо провести порівняльний аналіз цих даних з результатами 2-тижневих щурят, то чітко відслідковується тенденція до зниження вмісту аденілових нуклеотидів, і особливо це торкається АТФ. При порівнянні цих даних з аналогічними показниками одновікових щурів отриманих від опромінених попередників, то виявляється, що вміст АМФ в останніх був вищим на 28%, АДФ на 23,9% а АТФ практично не відрізнявся. При розрахунках коефіцієнту співвідношення між окремими формами нуклеотидів у даної групи тварин, було встановлено, що у випадку АТФ/АМФ він дорівнював 5,32, АТФ/АДФ –

5,27 та АДФ/АМФ – 1,0. Якщо порівняти отримані величини коефіцієнтів з аналогічними значеннями одновікових щурів отриманих від радіаційно уражених попередників то з'ясовується, що в перших двох випадках він був дещо нижчим від них, а в третьому практично не відрізнявся.

Проведені обстеження 3-місячних щурів першого покоління отриманого від самців та самок які перед спарюванням були алкоголізовані було встановлено, що вміст АМФ, АДФ та АТФ в тканинах їх сім'яників був нижчим за показники одновікового контролю відповідно на 22,7%, 24,4% та 37,6%. Звертає на себе увагу і той факт, що і в даному випадку чітко відслідковується тенденція до зниження абсолютних показників вмісту аденілових нуклеотидів по відношенню до значень одномісячних тварин, і особливо це стосується кількості АТФ. Порівняльний аналіз отриманих результатів з аналогічними даними одновікових щурів отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок показав, що вміст АМФ та АДФ був вищим відповідно на 22,7% та 16,2%, а кількість АТФ практично не відрізнялася. Очевидно, що і в даному випадку превалює зазначений вище механізм порушення біосинтезу АТФ. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між окремими видами аденілових нуклеотидів показали, що він у випадку АТФ/АМФ дорівнював 5,29, АТФ/АДФ – 5,34, АДФ/АМФ – 0,99. При цьому слід зазначити, що в усіх випадках величини коефіцієнтів співвідношення у даному випадку проявляли тенденцію до зниження як по відношенню до аналогічних значень у одновікових тварин отриманих від опромінених попередників, так і одновікового контролю.

Під час обстеження 6-місячних щурів, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, було встановлено, що вміст АМФ, АДФ та АТФ в тканинах їх сім'яників був нижчим за рівень одновікового контролю відповідно на 24,4%, 29,8% та 36,3%. Звертає на себе увагу і той факт, що у цих тварин спостерігається найбільш істотне зниження вмісту АТФ та АДФ порівняно з показниками попереднього етапу дослідження, тоді як вміст АМФ утримується на стабільному рівні. При

порівнянні отриманих результатів в цій віковій групі з аналогічними результатами одновікових щурів, отриманих від радіаційно уражених тварин, було встановлено, що вміст АМФ був вищим на 33,4%, АДФ на 30,4% а АТФ на 22%. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між окремими формами аденілових нуклеотидів показали, що він у випадку АТФ/АМФ дорівнював 5,69, АТФ/АДФ – 5,99, АДФ/АМФ – 0,95. Наведені факти свідчать про те, що в перших двох випадках величини коефіцієнтів були достовірно нижчими від аналогічних значень у одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, тоді як в третьому випадку його значення були ідентичні. При порівнянні з величинами коефіцієнтів одновікового контролю було встановлено, що в усіх без виключення випадках їх значення були достовірно нижчими.

Проведені дослідження вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 12-місячних тварин, отриманих від алкоголізованих попередників, показали, що вміст АМФ стосовно до контролю складав 78,8%, АДФ - 77,1% і АТФ – 59,4%. Слід зазначити, що і в даному випадку спостерігається тенденція до зниження вмісту аденілових нуклеотидів порівняно з показниками 6-місячних тварин, і особливо сказане стосується АМФ та АТФ. Порівнявши отримані дані з результатами дослідження вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників 12-місячних тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, було встановлено, що вміст АМФ в останніх був нижчим на 64,6%, АДФ на 43,9% і АТФ на 34,9%. При розрахунках коефіцієнту співвідношення між окремими видами аденілових нуклеотидів було встановлено, що у співвідношенні АТФ до АМФ він дорівнював 5,62, АТФ до АДФ – 5,47 та АДФ до АМФ – 1,03. Ці показники у перших двох випадках були достовірно нижчими як за контроль, так і за аналогічні значення у одновікових тварин отриманих від опромінених попередників.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 24-місячних щурів отриманих від алкоголізованих перед

спарюванням самців та самок, вміст АТФ стосовно до одновікового контролю складав 68,8%, АДФ – 63,4%, АМФ – 57,7%. І в даному випадку ці показники були вищими за аналогічні значення одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок. Коефіцієнти співвідношення між окремими формами нуклеотидів становили: АТФ/АМФ – 5,22, АТФ АДФ – 5,51, АДФ/АМФ – 0,95. Відмічається, що величини цих коефіцієнтів у всіх трьох випадках були достовірно нижчими за показники контролю, тоді як по відношенню до значень у одновікових тварин отриманих від опромінених попередників у перших двох випадках були достовірно нижчими, а в третьому були ідентичні.

Таким чином, аналіз отриманих результатів досліджень показав, що в тканинах сім'яників щурів, отриманих від самців та самок які тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь, спостерігалось достовірне зниження аденілових нуклеотидів на всіх етапах їх онтогенезу. В той же час необхідно зазначити, що починаючи з 15-денних ембріонів і включно по двотижневий вік, вміст аденілових нуклеотидів утримувався на визначеному стаціонарному рівні незважаючи на істотні відхилення по відношенню до контролю. Починаючи з першого місяця життя і по двадцятичотирьох місячний вік спостерігалось поступове зниження вмісту цих нуклеотидів в тканинах сім'яників. Особливо різко цей процес відзначався починаючи з шести місячного віку, і в 24-місячних тварин кількість аденілових нуклеотидів була майже вдвічі нижчою за одновіковий контроль. Але порівняно з показниками вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників тварин, отриманих від опромінених перед спарюванням самців та самок, він мав менш виразний характер. Такі відхилення отриманих результатів очевидно обумовлені різним механізмом дії алкоголю і радіаційного фактору на геномні структури клітин. Для того, щоб з'ясувати регуляторні механізми таких зрушень нами були проведені дослідження вмісту циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників тварин отриманих від алкоголізованих попередників

5.4 Характеристика стану системи циклічних нуклеотидів на різних етапах онтогенезу в тканинах сім'яників щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок

В результаті проведених досліджень встановлено (табл. 5.8), що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів, отриманих від самців та самок які тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь, вміст цАМФ переважав

Таблиця 5.8

Вміст циклічних нуклеотидів у тканині сім'яників щурів, отриманих від батьків, що зазнали негативного впливу алкоголю (M±m; n = 10; пмоль/г тканини)

Вік тварин	Вміст циклічних нуклеотидів		
	цАМФ	цГМФ	цАМФ/цГМФ
15-денні ембріон	73,78±2,49	24,97±1,71	2,96
5-денні щурята	101,25±2,92	25,64±2,16	3,95
2-тижневі	41,01±3,85	59,74±1,99*	0,69
1-місячні	68,79±1,81	58,17±2,01*	1,18
3-місячні	83,68±2,38	55,36±2,39	1,51
6-місячні	80,13±4,63	45,45±1,58	1,78
12-місячні	47,98±1,84**	42,28±2,39**	1,14
24-місячні	39,97±2,43	57,31±1,86	0,69

Примітки: 1. *P>0,05 по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

2. **P>0,05 по відношенню до одновікових тварин контролю;

рівень контролю на 10,5%, а цГМФ був нижчим на 17,8%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом цих нуклеотидів становив 2,96, що було на 46,6% вище ніж в контролі. Порівняння отриманих даних з результатами дослідження вмісту цАМФ та цГМФ в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів щурів, які перед спарюванням зазнали негативного впливу хронічного γ - опромінення в низьких дозах, показали, що їх вміст в першому

випадку був на 29,1% меншим, а в другому на 43,6% вищим. Порівняльний аналіз коефіцієнтів взаємовідносин показав, що він в даному випадку був вищим на 50,7%.

При обстеженні 5-денних щурят, отриманих від алкоголізованих попередників, було встановлено, що вміст цАМФ в тканинах сім'яників був достовірно вищим за показники одновікового контролю на 35,2%, а вміст цГМФ був нижчим 29,9%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом цАМФ та цГМФ дорівнював 3,95, що було вищим за показники контролю в 1,93 рази. Слід зазначити, що в даному випадку, вміст цАМФ був достовірно вищим, а цГМФ нижчим за показники 15-денних ембріонів. Порівняння отриманих даних з результатами досліджень одновікових щурят отриманих від опромінених попередників, показали, що вміст цАМФ в даному випадку був вищим на 48,1%, а цГМФ нижчим на 84,3. Порівняння коефіцієнтів співвідношень вмісту циклічних нуклеотидів показало, що він у тварин отриманих від опромінених попередників був на 81,9% меншим ніж в даному випадку.

У 2-тижневих щурят, отриманих від алкоголізованих попередників, було встановлено, що вміст цАМФ в тканинах їх сім'яників був нижчим за рівень контролю на 50,1% а цГМФ на 50,6% вищим. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між цими циклічними нуклеотидами показали, що він дорівнював 0,69. Це було нижче як за показники одновікового контролю на 76,7%, так и за показники попереднього терміну дослідження на 36,3%. Але знижувався не тільки коефіцієнт співвідношень, а й достовірно був меншим вміст цАМФ (59,1%), в той час як вміст цГМФ збільшувався майже на 133%. Порівняльний аналіз отриманих результатів досліджень з даними одновікових тварин отриманих від опромінених попередників, показав, що вміст цАМФ в тканинах сім'яників тварин отриманих від алкоголізованих попередників нижчим був нижчим від аналогічних значень групи порівняння на 24,2%, тоді як вміст цГМФ майже не відрізнявся. Співставлення величин

коефіцієнтів співвідношення показали, що він у щурів отриманих від опромінених попередників був вищим в 1,4 рази.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 1-місячних тварин отриманих від самців та самок які тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь, вміст цАМФ складав 77,6% , а цГМФ – 135% стосовно до контролю. Коефіцієнт співвідношення між цими двома нуклеотидами у даному випадку складав 1,18, що на 42,5% було меншим за контроль. Звертає на себе увагу той факт, що вміст цАМФ на даному етапі досліджень був достовірно вищим за показники 2-тижневих щурят, а абсолютні показники вмісту цГМФ практично не відрізнялися від них. При співставленні отриманих результатів у цій віковій групі тварин з аналогічними даними тварин отриманих від опромінених попередників, було встановлено, що вміст цАМФ був вищим на 22,5%, а цГМФ практично не відрізнявся. При порівнянні коефіцієнтів взаємовідносин між даними циклічними нуклеотидами встановлено, що він у тварин, отриманих від алкоголізованих попередників, був у 1,3 рази більшим, ніж у тварин групи порівняння.

При обстежені 3-місячних тварин першого покоління, отриманого від самців та самок які були алкоголізовані, встановлено, що вміст цАМФ в тканинах їх сім'яників стосовно до контролю складав 89,6%, тоді як вміст цГМФ – 121,5%. Визначений коефіцієнт співвідношення вмісту досліджуваних циклічних нуклеотидів дорівнював 1,51. Аналіз отриманих результатів показав, що в даній віковій групі піддослідних тварин спостерігалось різке збільшення вмісту цАМФ порівняно з показниками 2-тижневих та 1-місячних тварин, тоді як вміст цАМФ залишався практично на одному рівні. Поряд з цим спостерігалось достовірне збільшення величини коефіцієнту співвідношень між вмістом цАМФ та цГМФ порівняно з попередніми показниками. При порівнянні отриманих результатів з аналогічними даними одновікових тварин отриманих від самців та самок, які перед спарюванням зазнали впливу хронічного γ -опромінення в низьких

дозах, було встановлено що вміст цАМФ в тканинах сім'яників в даному випадку був вищим на 42,2% від вмісту даного циклічного нуклеотиду в тканинах сім'яників тварин групи порівняння, а вміст цГМФ був нижчим на 26,9%. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом цАМФ та цГМФ був вищим у 2,4 рази.

Проведені дослідження дозволили також встановити, що в тканинах сім'яників 6-місячних тварин, отриманих від алкоголізованих попередників, вміст цАМФ стосовно до контролю складав 93,7%, а цГМФ 107,8%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом досліджуваних циклічних нуклеотидів в даному випадку становив 1,78. При порівнянні цих результатів з показниками попередніх етапів досліджень було з'ясовано, що вміст цАМФ практично не відрізнявся від показників 3-місячних тварин, тоді як вміст цГМФ достовірно знижувався, при цьому коефіцієнт співвідношень між цими нуклеотидами збільшувався на 17,9%. Співставлення отриманих результатів вмісту цАМФ в тканинах сім'яників тварин попередники, яких підпали під негативний вплив алкоголю з тваринами отриманими від опромінених перед спарюванням самців та самок показали, що він у в першій групі був вищий на 58,7%, за показники останніх, в той же час вміст цГМФ був нижчим на 51%. Коефіцієнт співвідношень між цими двома циклічними нуклеотидами був вищим в 3,7 рази за значення в групі порівняння.

Під час обстеження 12-місячних тварин, попередники яких перед спарюванням були алкоголізовані, було встановлено, що вміст цАМФ та цГМФ в тканинах їх сім'яників практично не відрізнялись від контрольних показників. Але коефіцієнт співвідношень між вмістом цих циклічних нуклеотидів дорівнював 1,14, що на було вище ніж в контролю на 15,6%. При цьому абсолютні показники вмісту цАМФ майже вдвічі були нижчими ніж на попередньому етапі онтогенезу, а показники вмісту цГМФ практично не відрізнялись. Співставлення отриманих величин вміст циклічних нуклеотидів в сім'яниках тварин отриманих від алкоголізованих попередників на даному етапі розвитку з величинами одновікових тварин

отриманих від опромінених попередників показало, що вміст цАМФ був вищий на 67,1%, ніж в групі порівняння, а цГМФ нижчим на 60,1%. Коефіцієнт взаємовідносин був в 4,8 рази вищим за показники даного коефіцієнту у тварин отриманих від опромінених попередників.

У 24-місячних тварин, попередники яких перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, вміст цАМФ був на 19,7% нижчим за показники контролю, а цГМФ на 35,6% вищим. При цьому коефіцієнт співвідношення між вмістом досліджуваних циклічних нуклеотидів дорівнював 0,69, що було нижчим за контроль на 46,7%. При цьому слід зазначити, що виявлені зміни вмісту цАМФ були достовірно нижчими, а цГМФ достовірно вищими за аналогічні показники попереднього терміну дослідження (12-місячні тварини). Достовірно нижчою була и величина коефіцієнту співвідношення між цими двома циклічними нуклеотидами. Звертає на себе увагу і той факт що вміст цАМФ в тканинах сім'яників щурів цієї вікової групи попередники яких були алкоголізовані, був на 70,8% порівняно з аналогічними значеннями у тварин отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали впливу γ -опромінення, а вміст цГМФ на 39,3% був нижчим.

Таким чином, отримані результати досліджень показали, що в тканинах сім'яників першого покоління, отриманого від самців та самок, які тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь, спостерігались досить істотні відхилення вмісту циклічних нуклеотидів практично на всіх етапах онтогенезу порівняно з контролем. Виключення складали тільки результати шести та дванадцяти місячних тварин. Отримані дані також мають істотні відмінності від аналогічних значень які були визначені у тварин попередники яких перед спарюванням зазнали впливу γ -опромінення. Безперечно, що такі зрушення негативно віддзеркалюються на стані метаболічних процесів, та процесах сперматогенезу. Для більш детального з'ясування механізмів зрушення вмісту циклічних нуклеотидів та їх кількісних взаємовідносин між собою, нами були проведені дослідження активності ферментів синтезу та гідролізу цих нуклеотидів.

В результаті проведених досліджень було встановлено (табл. 5.9), що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів отриманих від алкоголізованих батьків активність аденілатциклази переважала рівень контролю на 23,6% а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою на 19,9%. При цьому коефіцієнт співвідношень між ними дорівнював 2,19, що було вищим за показники контролю на 156,4%. Порівняно з аналогічними значеннями у 15-денних ембріонів отриманих від γ -опромінених перед спарюванням самців та самок, активність аденілатциклази у останніх була нижчою на 33,35 а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази вищою на 45%. Коефіцієнт співвідношень при цьому у них був нижчим у 2,2 рази.

Таблиця 5.9

Активність аденілатциклази та цАМФ-фосфодіестерази у тканинах сім'яників щурів, отриманих від алкоголізованих батьків
($M \pm m$; $n = 10$; пмоль/г тканини)

Вік тварин	Активність ферментів		
	АЦ	ФДЕ	АЦ/ФДЕ
15-денні ембріони	22,63 \pm 1,82	10,31 \pm 1,45	2,19
5-денні щурята	32,21 \pm 2,31	10,26 \pm 1,23	3,14
2-тижневі	15,25 \pm 1,34*	23,41 \pm 2,04	0,65
1-місячні	20,38 \pm 1,58	18,54 \pm 1,78	1,09
3-місячні	25,65 \pm 1,97**	15,65 \pm 1,19	1,64
6-місячні	29,54 \pm 2,32**	10,15 \pm 1,05**	2,91
12-місячні	14,86 \pm 1,33**	17,33 \pm 1,28**	0,86
24-місячні	11,44 \pm 1,15	24,84 \pm 1,72	0,46

Примітки: 1. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

2. ** $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин контролю;

При обстеженні 5-денних щурят отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, було встановлено що активність

аденілатциклази в тканинах їх сім'яників була вищою за показники контролю на 36,7%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази нижчою на 27,7%. Коефіцієнт співвідношення, в даному випадку, склав 3,14, що було більше майже як у 2 рази порівняно з контролем. Співставлення отриманих результатів у цій віковій групі з аналогічними значеннями у тварин отриманих від γ -опромінених попередників показало, що активність аденілатциклази була вищою від показників останніх на 45,9%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази нижчою на 75,5%. Слід зазначити, що коефіцієнт співвідношення між цими двома ферментами у щурят отриманих від алкоголізованих попередників переважав аналогічні значення щурят отриманих від γ -опромінених перед спарюванням самців та самок більш як у три рази. Звертає на себе увагу той факт, що активність аденілатциклази у даному випадку була достовірно вищою від аналогічних значень у 15-денних ембріонів, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази не відрізнялася від значень останніх. При цьому коефіцієнт співвідношення у 5-денних щурят був вищим на показники 15-денних ембріонів на 43,4%.

При обстеженні 2-тижневих щурят отриманих від алкоголізованих самців та самок, встановлено, що активність аденілатциклази в тканинах сім'яників знижувалась порівняно з показниками контролю на 38,4%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази посилювалась на 56,8%. При цьому спостерігалось різке зниження коефіцієнту співвідношення між цими двома ферментами, який, у даному випадку дорівнював 0,65, що було в 2,6 рази нижче за значення контролю. Порівняльний аналіз отриманих результатів показав, що активність аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази, у даному випадку, практично не відрізнялась від аналогічних значень тварин отриманих від опромінених попередників. При цьому коефіцієнт співвідношення між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у щурят отриманих від алкоголізованих самців та самок на 15,6% нижчим за аналогічні значення тварин отриманих від γ -опромінених попередників. Цікавим є і той факт, що на даному етапі

досліджень активність аденілатциклази в тканинах сім'яників майже вдвічі була нижчою від аналогічних значень у 5-денних щурят, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази більш як у 2 рази посилювалась відносно показників попереднього терміну досліджень. Такі зміни активності призвели до значних змін величини коефіцієнту співвідношення між цими ферментами і порівняно з показниками 5-денних щурят він був нижчим у 4,8 рази.

Проведені дослідження активності аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази в тканинах сім'яників 1-місячних тварин отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, показали, що в першому випадку вона була нижчою за контроль на 27,7%, а в другому переважала його на 37,6%. При цьому коефіцієнт співвідношення дорівнював 1,09, що було в 1,9 рази нижче за значення контролю. Слід підкреслити, що у даному випадку спостерігалось достовірне посилення активності аденілатциклази і зниження активності цАМФ-залежної фосфодіестерази відносно показників 2-тижневих тварин, і коефіцієнт співвідношення між цими двома ферментами при цьому відносно останніх збільшувався на 67,6%. Співставлення отриманих результатів з аналогічними даними 1-місячних тварин попередники яких перед спарюванням були опромінені, показало, що активність аденілатциклази у даному випадку переважала показники останніх на 18,9%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою на 16,4%. При цьому коефіцієнт співвідношень між активність аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у тварин отриманих від алкоголізованих попередників мав більші значення на 43,4% відносно аналогічних даних у одновікових тварин отриманих від γ -опроміненних самців та самок.

Таким чином, підводячи підсумок досліджень на цих етапах онтогенезу необхідно зазначити, що у щурів отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок спостерігалися хвилеподібні зміни активності досліджуваних ферментів, які мають характерні властивості для кожного етапу. В той час у тварин отриманих від γ -опроміненних попередників

активність вказаних ферментів особливих відмінностей на різних етапах онтогенезу не проявляла, незважаючи на досить істотні відмінності від значень контролю.

Дослідження активності аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази в тканинах сім'яників 3-місячних щурів показали, що активність в першому випадку практично не відрізнялась від показників контролю, тоді як в другому вона переважала їх на 19,6%. Коефіцієнт співвідношення між активністю вказаними ферментів в даному випадку дорівнював 1,64, що було нижчим за значення контролю на 21,9%. Характерним для цього етапу дослідження було і те, що активність аденілатциклази достовірно посилювалась відносно аналогічних значень попереднього етапу онтогенезу, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази знижувалась, і як наслідок величина коефіцієнту співвідношення їх активності також збільшувалась. Порівняно з аналогічними значеннями у 3-місячних щурів отриманих від γ - опромінених попередників активність аденілатциклази в тканинах сім'яників у даному випадку була вищою за значення останніх на 38,9%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази нижчою на 29,7% і при цьому коефіцієнт співвідношення між активністю досліджуваних ферментів переважав аналогічні значення 3-місячних щурів отриманих від опромінених попередників більш як у два рази.

При обстежені 6-місячних отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь, було встановлено, що в тканинах сім'яників активність аденілатциклази переважала рівень контролю на 10,6%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою від нього на 10,1%. При цьому коефіцієнт співвідношення між активністю цих двох ферментів дорівнював 2,91, що було на 38,6% вищим за контроль. При порівнянні отриманих результатів з аналогічними даними одновікових щурів отриманих від опромінених попередників було виявлено, що активність аденілатциклази була вищою у 3,1 рази від останніх, а активність цАМФ-

залежної фосфодіестерази в 1,9 рази нижчою. Співставлення величин коефіцієнтів співвідношення між активністю вказаних ферментів показує що він у тварин отриманих від алкоголізованих попередників у 5,8 рази був вищим за значення нащадків отриманих від опромінених самців та самок. Важливим для цього етапу досліджень було і те що, активність аденілатциклази проявляла тенденцію до посилення порівняно з попереднім етапом досліджень, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази знижувалась, внаслідок чого коефіцієнт співвідношення у цій віковій групі збільшувався порівняно з 3-місячними щурами в 1,8 рази.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що у 12-місячних тварин активність аденілатциклази в тканинах сім'яників практично не відрізнялися від аналогічних значень контролю, на такому ж рівні залишалися і значення активності цАМФ-залежної фосфодіестерази. Відповідно і величини коефіцієнтів співвідношення також майже не відрізнялися. При співставленні отриманих результатів активності досліджуваних ферментів в тканинах сім'яників 12-місячних тварин отриманих від алкоголізованих самців та самок з аналогічними даними одновікових тварин отриманих від опромінених перед спарюванням попередників було встановлено, що активність аденілатциклази у останніх була нижчою на 67,1%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази переважала показники перших на 74,8%. При цьому коефіцієнт співвідношення АЦ/ФДЕ у тварин отриманих від алкоголізованих попередників був вищим в 5,4 рази.

Результати досліджень активності аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази в тканинах 24-місячних тварин отриманих від самців та самок які перед спарюванням тривалий час вживали алкоголь показали, що в першому випадку (аденілатциклаза) вона знижувалась як по відношенню до попереднього етапу онтогенезу, так і контролю, а в другому (цАМФ-залежна фосфодіестераза) посилювалась. При цьому коефіцієнт співвідношення між активністю вказаних ферментів був достовірно нижчим як по відношенню до

контролю так і до попередніх показників. В той же час при порівнянні отриманих результатів з аналогічними значеннями одновікових щурів отриманих від опромінених самців та самок було встановлено, що активність аденілатциклази була вищою на 63,5%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази нижчою на 38,5%. А величина коефіцієнту співвідношення активності АЦ/ФДЕ був вищий майже в чотири рази.

Таким чином, проведений аналіз результатів досліджень свідчить про те, що в тканинах сім'яників щурів, попередники яких перед спарюванням зазнали тривалого впливу алкоголю, спостерігаються виражені зміни активності ферментів біосинтезу та розщеплення цАМФ. Виразність та направленість виявлених змін залежала від етапу онтогенезу та різновиду ферменту. Характерною властивістю цих даних було і те, що у трьох та дванадцяти місячних тварин відхилень від фізіологічного рівня не було виявлено. Опираючись на існуючі дані в літературі [74] можна припустити, що таке явище обумовлене гормональними перебудовами в організмі цих тварин, в першому випадку внаслідок статевого дозрівання, а в другому, згасанні статевої активності, яка в порівнянні з інтактними тваринами, була передчасною. Тобто, останні факти ще раз підтверджують думку [42] про передчасне старіння організму покоління отриманих від батьків які зазнали негативного впливу агресивних факторів довкілля, до яких, в повній мірі, можна віднести зловживання алкоголем.

РОЗДІЛ 6

ОКИСЛЮВАЛЬНО-ВІДНОВНІ ПРОЦЕСИ, СТАН СИСТЕМИ ЦИКЛІЧНИХ
НУКЛЕОТИДІВ ТА ВМІСТ АДЕНІЛОВИХ НУКЛЕОТИДІВ В ТКАНИНАХ
СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ОТРИМАНИХ ВІД САМЦІВ ТА САМОК, ЯКІ
ЗАНАЛИ СУМІСНОЇ ДІЇ γ -ОПРОМІНЕННЯ ТА АЛКОГОЛЮ

Розгляд проблеми впливу негативних факторів довкілля на системи та організм людини в цілому, безумовно слід проводити з позиції комбінованої їх дії. Тому нами були проведені дослідження результати яких лягли в основу написання цього розділу.

6.1 Особливості розвитку чоловічих статевих клітин в пізньому ембріогенезі та в процесі постнатального розвитку щурів отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали сумісного впливу γ -опромінення та алкоголю

Дослідження проведені на щурах-самцях першого покоління отриманого від алкоголізованих та опромінених перед спарюванням попередників показали, що на етапах пізнього ембріогенезу визначається ряд як по відношенню до контролю, так і по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених самців та самок (I група порівняння) та від алкоголізованих перед спарюванням попередників (II група порівняння). Встановлено, що мітотичний індекс складав 0,47, це було за контроль вищим за контроль та показники II групи порівняння відповідно на 17,5% та 67,9%, але нижчим значення I групи порівняння на 12,9%. При цьому слід зазначити, що кількість патологічних мітозів складала 20%, що було вищим як за контроль так і обох груп порівняння.

Для раннього постнатального періоду (5-денні щурята) та 2-тижневах щурят тенденція до погіршення гістологічної картини зберігалася.

Вказані зміни, безумовно, негативно віддзеркалювалися на показниках подальших етапах онтогенезу. Так, в результаті проведених досліджень по

підрахунку числа окремих клітин сперматогенного епітелію у статевозрілих (3-місячні) щурів отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, було встановлено (табл. 6.1), що кількість сперматогоній, сперматоцитів, сперматид, сперматозоїдів, клітин Сертолі та загальне число клітин в сім'яниках зменшується по відношенню до контролю, відповідно на 42,9%, 41,8%, 58,2%, 39,5%, 61% та 47,6%. По відношенню до I та II груп порівняння спостерігались подібні зміни, при цьому слід зазначити, що загальна кількість клітин у 3-місячних тварин отриманих від алкоголізованих попередників була на рівні 6-місячних тварин I групи порівняння та 12-місячних тварин II групи порівняння.

Таблиця 6.1

Кількість клітин сперматогенного епітелію у тварин отриманих
алкоголізованих та опромінених попередників.

(млн., $M \pm m$, $n=6$)

Групи тварин	Сперматогонії	Сперматоцити	Сперматиди	Сперматозоїди	Клітини Сертолі	Загальна кількість
1-місячні	97,8±9,6	70,9±8,5	114,5±10,6	-	16,2±5,2	299,4±13,7
3-місячні	113,3±10,2	86,3±7,2	137,3±12,4	173,1±16,3	19,3±6,4	529,9±23,8
6-місячні	93,1±8,7	66,3±5,8	108,3±9,8	137,5±12,7	16,3±4,6	421,5±15,2
12-місячні	76,8±7,9	64,1±6,1	96,7±7,4	133,8±11,8	14,9±5,1	389,8±16,1
24-місячні	71,1±6,5	51,9±4,9	86,6±6,9	122,4±10,4	13,8±3,9	345,8±15,7

При аналізі спермограми 3-місячних щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок виявлено (табл. 6.2) зниження концентрації сперматозоїдів в еякуляті як по відношенню до контролю, так і обох груп порівняння. До цього слід додати, що зменшувався процент активно рухливих сперматозоїдів з прямолінійним рухом та збільшувався процент сперматозоїдів без руху. Процент живих сперматозоїдів в еякуляті при цьому був найнижчий від показників одновікових тварин як контролю, так і обох груп порівняння.

Показники спермограми щурів отриманих від опромінених та
алкоголізованих попередників
($M \pm m$, $n=6$)

Вік тварин	Концентрація сперматозоїдів (млн./мл)	Розподіл на класи за рухливістю (%)				Живі сперматозоїди (%)
		A	B	C	D	
3-місячні	21,7 \pm 3,6	42,1 \pm 4,2	8,5 \pm 1,8	20,0 \pm 3,2	29,4 \pm 3,6	87,9 \pm 5,3
6-місячні	18,3 \pm 2,7	31,5 \pm 3,4	11,3 \pm 2,7	29,7 \pm 3,8	27,5 \pm 4,5	85,3 \pm 4,7
12-місячні	15,4 \pm 4,1	20,6 \pm 3,9	6,7 \pm 1,3	36,4 \pm 2,5	36,3 \pm 4,1	73,2 \pm 4,1
24-місячні	13,6 \pm 2,4	16,4 \pm 2,8	5,9 \pm 1,9	38,8 \pm 2,1	38,9 \pm 2,4	71,6 \pm 3,8

- Примітки: 1. А – активно рухливі сперматозоїди з прямолінійним рухом;
2. В – малорухливі з прямолінійним рухом;
3. С - малорухливі з коливальним або круговим рухом;
4. D – сперматозоїди без руху

Таким чином, аналізуючи отримані дані можна зробити припущення, що сумісний вплив γ -опромінення та алкоголю на батьків викликає більш суттєві зрушення в тканинах сім'яників їх нащадків першого покоління, ніж при впливі окремо взятих цих факторів

Підтвердженням наших припущень були результати досліджень стану системи ПОЛ-АОС, циклічних нуклеотидів та вмісту макроергів в тканинах сім'яників щурів самців отриманих від попередників які перед спарюванням зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю.

6.2. Стан системи ПОЛ-АОС в тканинах сім'яників щурів, отриманих від попередників які зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення, на різних етапах їх онтогенез

В результаті проведених досліджень було встановлено (табл. 6.3), що сумісна дія двох шкідливих факторів (алкоголь та іонізуюча радіація) на самців та самок перед спарюванням, викликала більш істотні зміни вмісту

дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду в тканинах сім'яників їх нащадків на всіх етапах їх онтогенезу, порівняно з аналогічними значеннями при умові дії кожного окремо взятого фактора (див. табл. 4.3 та 5.3). Очевидно, що таке явище обумовлене потенціюванням дії одного фактора відносно другого. Для полегшення аналізу отриманих даних нами умовно було означено дві групи порівняння: I група – щурі отримані від самців та самок які перед спарюванням зазнали впливу γ -опромінення; II група – щурі отримані від самців та самок які тривалий час перед спарюванням вживали алкоголь.

Таблиця 6.3

Вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду у тканині сім'яників щурів, отриманих від попередників, що зазнали впливу сумісної дії опромінення та алкоголю
($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/г)

Вік тварин	Вміст продуктів ПОЛ		
	ДК	МДА	ДК/МДА
15-денні ембріони	10,11 \pm 0,52	15,13 \pm 0,41	0,67
5-денні щурята	12,46 \pm 0,16	18,44 \pm 0,98	0,68
2-тижневі	15,68 \pm 0,57	25,14 \pm 0,35	0,63
1-місячні	17,94 \pm 0,36	30,01 \pm 0,91	0,6
3-місячні	19,58 \pm 0,29	32,44 \pm 1,06	0,61
6-місячні	21,37 \pm 0,67	36,17 \pm 0,83	0,6
12-місячні	30,6 \pm 0,62*	51,49 \pm 1,03	0,6
24-місячні	39,39 \pm 1,41	59,29 \pm 0,99	0,67

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

При обстеженні 15-дених ембріонів, отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали впливу сумісної дії алкоголю та γ -опромінення, було виявлено, що вміст дієнових кон'югатів в тканинах їх сім'яників був

вищим за рівень контролю на 66,3%, а малонового диальдегіду на 83,9%. Порівняльний аналіз показав, що в першому випадку (вміст ДК) був вищий за значення у 15-денних ембріонів I групи на 40,8% та значення II групи порівняння на 25,3%. В другому випадку (вміст МДА) був вищим за аналогічні значення I групи на 40,4%, і по відношенню до II групи на 33,8%. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між вмістом ДК та МДА в даному випадку показали, що він дорівнював 0,67, що було нижче за значення контролю та II групи порівняння, але ідентичним по відношенню до показника I групи порівняння.

Дослідження проведені над 5-денними щурятами, показали, що вміст ДК в тканинах сім'яників проявляв тенденцію до збільшення порівняно з показниками попереднього терміну дослідження, і в той же час переважав рівень контрольних значень на 81,4%. Аналогічну тенденцію до збільшення проявляв і вміст МДА, який був більший за контроль на 94,1%. Достовірно вищим був вміст вказаних продуктів ПОЛ і по відношенню до груп порівняння. Так вміст ДК був вищим за аналогічні значення I групи на 37,7% та до показників II групи на 24,5%. Вміст МДА, відповідно був вищий на 34,9% та 30,3%. Коефіцієнт співвідношення ДК/МДА в даному випадку дорівнював 0,68, що було нижче за значення контролю та II групи, але вище за значення I групи порівняння.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що вміст ДК та МДА в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят отриманих від попередників які підпали під сумісну дію алкоголю та γ -опромінення, продовжував збільшуватися порівняно з попередніми етапами розвитку, і по відношенню до контролю відповідно складав 187,8% та 199,6%. Тенденція до підвищення відносно показників попередніх етапів онтогенезу зберігалася і в даному випадку. Порівняльний аналіз з I та II групами показав, що вміст ДК був вищий відповідно на 16,5% та 20,7%. Вміст МДА був вищий за аналогічні значення I групи на 21,2% та II групи на 29,9%. Розрахунки коефіцієнту співвідношення між вмістом ДК та МДА показали, що він дорівнював 0,63.

Цікавим є той факт, що в даній віковій групі тварин величина коефіцієнту була майже однаковою як по відношенню до контролю, так і до всіх груп порівняння.

В 1-місячних тварин, отриманих за зазначених вище умов, вміст ДК та МДА продовжував зростати як по відношенню до попередніх значень, так і контролю. При цьому переважав значення останнього на 94,6 та 120,7% відповідно. Слід зазначити, що незважаючи на зростання вмісту ДК та МДА в тканинах сім'яників тварин отриманих від попередників які зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю, по відношенню до аналогічних даних I та II груп порівняння, величина коефіцієнту співвідношення ДК/МДА майже не відрізнялася.

Аналіз отриманих результатів досліджень вмісту ДК та МДА в тканинах сім'яників 3-місячних щурів, попередники яких перед спарюванням зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю, показав, що він також збільшувався, як по відношенню до показників всіх попередніх етапів онтогенезу, так і контролю, та при цьому переважав рівень останнього відповідно на 107,2% та 137,1%. Коефіцієнт співвідношення ДК/МДА дорівнював 0,61, що практично не відрізнялося від попереднього терміну дослідження та значень у тварин I та II груп порівняння. Але при цьому слід зазначити, що у даному випадку вміст ДК переважав показники одновікових тварин I групи порівняння на 10,6%, а відносно II групи на 28,9%. В той час як вміст МДА збільшувався порівняно до даних I групи на 19,8%, та II групи на 44,3%.

Проведені дослідження інтенсивності процесів ПОЛ в тканинах сім'яників 6-місячних тварин, отриманих за зазначених вище умов, показали, що вміст ДК переважав рівень контролю на 125,7%, а МДА на 161,7%. Коефіцієнт співвідношення між вміст ДК та МДА дорівнював 0,6, це було дещо нижче від значень контролю та обох груп порівняння. В той же час при співставленні результатів вмісту ДК та МДА в тканинах сім'яників тварин даного віку, отриманих від попередників які перед спарюванням зазнали

сумісного впливу алкоголю та γ -опромінення, з даними одновікових тварин I та II груп порівняння, то відмічається, що вміст ДК переважав показники I групи на 13,9%, а II групи на 39,1%. Вміст МДА переважав показники I групи на 24,7%, та II групи на 54,5%.

Ще більш виражені зміни вмісту ДК та МДА спостерігалися в тканинах сім'яників старих тварин. Так у 12-місячних вміст даних продуктів ПОЛ по відношенню до контролю складав відповідно 239,8% та 275,8%. Але не дивлячись на таке різке збільшення вмісту ДК та МДА по відношенню до всіх попередніх етапів розвитку, коефіцієнт співвідношення ДК/МДА дорівнював в даному випадку 0,6. Порівняння цієї величини коефіцієнту з показниками контролю, I та II груп порівняння, показало, що спостерігалась майже ідентична ситуація до випадку 1-місячних щурів. Незважаючи на це, вміст ДК переважав показники II групи на 39,5,1%, тоді як від I групи він був вищий на 13,9%. Вміст МДА був вищий за показники I групи на 23,55 та II групи на 44,8%.

У 12-місячних тварин, отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали сумісного впливу γ -опромінення та алкоголю, тенденція до збільшення вмісту ДК та МДА в тканинах сім'яників була ще більш вираженою. Так по відношенню до контролю він був вищий відповідно на 168,7% та 192,3%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом ДК та МДА дорівнював 0,67. Звертає на себе увагу той факт, що по відношенню до I групи порівняння вміст ДК був майже однаковий, тоді як по відношенню до II групи переважав значення на 27,1%. Вміст МДА був, як і у всіх попередніх випадках, вищий порівняно з показниками I та II груп порівняння відповідно на 13,1% та 28,4%.

Таким чином, внаслідок потенціювання двох факторів (алкоголь та γ -опромінення) на організми самок та самців перед спарюванням, в тканинах сім'яників першого покоління щурів отриманих від них спостерігається інтенсифікація процесів ПОЛ, яка в більшості випадків достовірно була вищою від аналогічних значень I та II груп порівняння. Безумовно, що такі

зміни призводять до більш глибоких порушень процесу сперматогенезу та статевої активності в зрілому віці.

Для уточнення механізмів впливу зазначених факторів на окисно-відновний гомеостаз в тканинах сім'яників нами були проведені дослідження функціональної активності ключових ферментів антиоксидантної системи.

В результаті проведених досліджень (табл. 6.4) було встановлено, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів попередники яких перед

Таблиця 6.4

Активність СОД, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази у тканинах сім'яників щурів, отриманих від попередників, що зазнали сумісної дії опромінення та алкоголю

($M \pm m$; $n = 10$)

Вік тварин	Активність ферментів			
	СОД (у.о./1г.тк.)	Каталаза (м.о./1г.тк.)	ГП (нмоль/1г.тк)	ГТ (нмоль/1г.тк)
15-денні ембріон	32,24±0,8	10,59±0,96	5,81±0,7	30,84±1,62
5-денні щурята	29,49±1,16	10,43±0,94	5,78±0,68	24,65±0,83
2-тижневі	39,97±1,19	11,26±1,04	5,36±0,92	26,06±1,23
1-місячні	60,49±1,29	17,05±1,46*	7,82±0,83**	39,96±0,97*
3-місячні	48,37±1,47*	13,76±0,64**	6,97±0,68*	63,96±0,89
6-місячні	44,36±1,54**	11,89±1,21	5,57±0,71*	45,14±1,01
12-місячні	16,59±0,78*	5,53±0,65*	2,57±0,46	9,45±1,01**
24-місячні	10,19±1,08**	3,83±0,31	2,04±0,3	8,46±0,98

Примітки: 1. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

2. ** $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від алкоголізованих попередників

спарюванням зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення активність СОД по відношенню до аналогічних значень контролю дорівнював 51,4%,

каталази – 46,3%, глутатіонпероксидази – 45,6% та глутатіонтрансферази – 51,9%. Виявлені зміни активності ферментів в порівнянні з показниками I групи були нижчими для СОД на 46,3%, для каталази на 42,7%, для глутатіонпероксидази на 36,9% і глутатіонтрансферази на 35,8%. Порівняно з аналогічними показниками II групи активність СОД була нижчою на 29,9%, каталази на 32,5%, глутатіонпероксидази на 21,7% та глутатіонтрансферази на 14,3%. Отже, наведені данні свідчать про те, що на етапах пізнього ембріогенезу у тварин які були отримані від самців та самок які зазнали впливу сумісної дії γ -опромінення та алкоголю активність ферментів була істотно нижчою від аналогічних значень I та II групи порівняння. Можливо такі зміни активності ферментів антиоксидантної системи в пізньому ембріогенезі можуть бути ознакою різкого зниження механізмів антирадикального захисту на всіх наступних етапах розвитку цього покоління.

Підтвердженням цього припущення були результати досліджень активності вказаних ферментів в тканинах сім'яників 5-денних щурят. Результати цих досліджень показали, що у 5-денних щурят отриманих від попередників які перед спарюванням зазнали впливу сумісної дії двох вище зазначених факторів, активність СОД в тканинах сім'яників стосовно до контролю дорівнювала 40,4%, каталази – 39,8%, глутатіонпероксидази – 35,5% і глутатіонтрансферази – 31,7%. При цьому необхідно зазначити, що в даному випадку активність СОД, каталази і глутатіонпероксидази практично не відрізнялась від аналогічних значень у 15-денних ембріонів, тоді як активність глутатіонтрансферази проявляла чітку тенденцію до зниження. Враховуючи той факт, що глутатіоттрансфераза забезпечує транспорт кон'югованих сполук епоксидів та інших токсичних продуктів, то такі зміни її активності можуть негативно відобразитися на процесі сперматогенезу. Проведений порівняльний аналіз отриманих результатів з аналогічними ланими 5-денних щурят I і II груп показав, що в усіх випадках без виключення спостерігалися більш глибокі їх зрушення. Звертає на себе увагу і той факт, що ці зрушення носили більш значний характер порівняно з показниками I групи.

Дослідження активності ферментів ПОЛ в тканинах сім'яників 2-тижневих щурят, попередники яких перед спарюванням зазнали сумісного впливу γ -опромінення та алкоголю, показали, що активність СОД була

нижчою за показники контролю на 58%, каталази на 64,3%, глутатіонпероксидази на 70,2% і глутатіонтрансферази на 69,5%. Активність СОД була достовірно вищою від аналогічних значень 15-ембріонів та 5-денних щурят, тоді як у всіх інших ферментів вона знаходилась на рівні останніх. Важливим моментом на даному етапі досліджень було і те, що активність глутатіонпероксидази проявляла деяку тенденцію до її зниження, що було ознакою гальмування процесів руйнування перекисів органічного походження. Окрім цього необхідно підкреслити, що і в даному випадку активність всіх ферментів була нижчою від аналогічних значень тварин I та II групи порівняння.

Проведені дослідження активності ферментів антиоксидантної системи в тканинах сім'яників 1-місячних щурів показали, що в даному випадку активність СОД стосовно до контролю дорівнювала 62%, каталази 50,4%, глутатіонпероксидази 41,4% і глутатіонтрансферази 43,6%. Необхідно відмітити, що активність зазначених ферментів достовірно посилювалась по відношенню до показників 2-тижневих тварин. При цьому найбільш істотно посилюється активність СОД та глутатіонпероксидази. Незважаючи на таке посилення активності ферментів в тканинах сім'яників цього віку вона і в даному випадку була достовірно нижчою від аналогічних значень щурів I та II груп порівняння.

При обстеженні 3-місячних тварин, попередники яких перед спарюванням зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення, було встановлено, що активність СОД стосовно до контролю дорівнювала 50,5%, каталази 39,9%, глутатіонпероксидази 35,8% і глутатіонтрансферази 67%. Цікавим було те, що в даному випадку спостерігалось різке зниження активності СОД порівняно з показниками 1-місячних тварин та посилюється активність глутатіонтрансферази. Тоді як активність і глутатіонпероксидази практично не відрізняється від останніх. Ще одною характерною рисою цього етапу розвитку щурів було те, що активність СОД, та глутатіонпероксидази практично не відрізняється від аналогічних значень

I групи порівняння, а активність каталази знаходилась на рівні II групи порівняння. У всіх інших випадках активність ферментів була значно нижчою.

У 6-місячних щурів, отриманих від самців та самок які перед спарюванням підпали під сумісну дію γ -опромінення та алкоголю, було встановлено, що активність СОД відносно до контролю дорівнювала 45,2%, каталази 34,7%, глутатіонпероксидази 29,2% та глутатіонтрансферази 50,2%. У даному випадку активність СОД, каталази та глутатіонпероксидази практично не відрізнялась від аналогічних значень 3-місячних тварин, тоді як активності глутатіонтрансферази достовірно знижується порівняно з ними. Аналіз отриманих результатів також свідчить, що у цих тварин активність СОД, каталази і глутатіонтрансферази була достовірно вищою за показники I групи порівняння а глутатіонпероксидази практично не відрізнялась від них. Порівняно з II групою порівняння активність каталази та глутатіонтрансферази була вищою, а СОД і глутатіонпероксидази практично не відрізнялося від аналогічних значень цієї групи порівняння. Отже, наведені факти свідчать про те, що у 6-місячних тварин отриманих від попередників, які перед спарюванням зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю, показники в більшості випадків практично не відрізнялися від аналогічних значень I та II груп порівняння.

При обстежені 12-місячних тварин було встановлено, що активність СОД в тканинах сім'яників була нижчою від значень контролю на 69,7%, каталази на 69,6%, глутатіонпероксидази на 73,6% та глутатіонтрансферази на 77,2%. Отримані результати досліджень також показують, що активність сод, каталази та глутатіонпероксидази були більш як у два рази нижчою за аналогічні значення переднього терміну дослідження, а глутатіонтрансферази в 4,8 рази.

Ці факти є ознакою того, що у 12-місячних тварин отриманих від самців та самок які підпали під сумісну дію алкоголю та γ -опромінення, активність ферментів антиоксидантної системи різко гальмувалась, що є

Коефі- цієнт	3,18	2,37	2,55	3,37	2,47	2,08	0,54	0,26
-----------------	------	------	------	------	------	------	------	------

Таким чином, проведені експериментальні дослідження показали, що найбільш глибокі зміни активності ферментів антиоксидантної системи у тварин отриманих від самців та самок які підпали під сумісну дію алкоголю та γ -опромінення спостерігалися порівняно з I та II групами у пізньому ембріогенезі та ранньому постнатальному періодах, а також у тварин починаючи з дванадцятимісячного віку. Це надає підстави вважати, що порушення функціонального стану досліджуваних процесів, очевидно, закріплюється в генетичному аспекті і являється однією із основних причин порушень процесу сперматогенезу.

6.3 Особливості вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів отриманих від самців та самок які зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення

В результаті проведених досліджень було встановлено (табл. 6.6), що у 15-денних ембріонів, самці та самки яких перед спарюванням зазнали дії іонізуючої радіації та алкоголю, вміст АМФ був нижчим від контролю на 17,8%, АДФ на 16,6% і АТФ на 27,4%. Порівняння отриманих даних з аналогічними значеннями I та II груп показало, що в першому випадку вміст АМФ практично не відрізнялося від аналогічних значень цієї групи порівняння, тоді як в другому випадку він був нижчим на 40,5%. Стосовно АДФ, то виявлені значення практично не відрізняється від показників I групи і були меншими від II групи на 33,4%. Вміст АТФ у цих ембріонів був достовірно нижчим від аналогічних значень I та II групи. Таким чином, наведені факти свідчать про те, що тривале вживання алкоголю самцями та самками під час опромінення та після нього перед спарюванням потенціювало дію цих факторів, викликаючи більш значні порушення вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників починаючи з ембріонального періоду розвитку їх нащадків.

Вміст аденілових нуклеотидів у тканині сім'яників щурів, отриманих від опромінених та акоголізованих попередників

($M \pm m$; $n = 10$; нмоль/1г тканини)

Вік тварин	Вміст аденілових нуклеотидів		
	АТФ	АДФ	АМФ
15-денні ембріони	13,51±1,25	2,46±0,42*	2,34±0,35*
5-денні щурята	15,90±1,26*	2,64±0,41*	2,40±0,39*
2-тижневі	12,85±0,85	2,05±0,37	2,04±0,34
1-місячні	10,78±1,12	1,89±0,29	1,76±0,27
3-місячні	9,76±0,97	1,63±0,29	1,44±0,28
6-місячні	5,78±0,82	0,82±0,19	0,89±0,2
12-місячні	4,50±0,85	0,65±0,12	0,58±0,13
24-місячні	3,08±0,39	0,46±0,11	0,37±0,1

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від опромінених попередників;

В ранньому постнатальному періоді (5-денні щурята), вміст АМФ в тканинах сім'яників стосовно до контролю дорівнював 70,1%, що практично не відрізнялось від аналогічних значень I групи порівняння, і було нижчим на 52,5% від значень II групи порівняння. Вміст АДФ на даному етапі онтогенезу був нижчим за рівень контролю на 26,7%, і в даному випадку також абсолютні значення практично не відрізнялися від показників I групи порівняння, і на 26,5% були нижчими від значень II групи. Досить істотно у цій віковій групі тварин змінювався вміст АТФ який відносно контролю дорівнював 68,4%, що майже не відрізнялося від показників I групи порівняння, і на 15,9% було нижче за значення II групи. Цікавим є і той факт, що на даному етапі досліджень абсолютні показники Вмісту АТФ, АДФ та АМФ проявляли тенденцію до збільшення відносно аналогічних значень у 15-денних ембріонів. Цей факт є свідченням того, що навіть у даному

випадку, незважаючи на низьке енергозабезпечення, у певній мірі зберігається тенденція характерна для фізіологічного онтогенезу, що очевидно є необхідною умовою для розвитку організму.

На наступному етапі онтогенезу (2-тижневі щурята) було виявлено, що вміст АМФ стосовно до контролю дорівнював 55,6%, що одночасно було нижчим на 17,6% від аналогічних значень I групи та на 68,6% від показників II групи. Вміст АДФ в тканинах сім'яників цих тварин стосовно до контролю складав 53,4%, що також було нижче за показники першої групи на 16,6% та II групи порівняння на 65,9%. На даному етапі досліджень було також встановлено, що вміст АТФ в тканинах сім'яників відносно фізіологічних значень складав 51,2% і був нижчим за показники I групи на 20,2% та II групи на 41,1%. Звертає на себе увагу і той факт, що спостерігається досить істотне зниження вмісту, в абсолютних значеннях, макроергічних сполук в тканинах сім'яників порівняно з показниками як 15-денних ембріонів так і 5-денних щурят. Ці факти надають нам можливість припустити, що однією із причин порушення процесу сперматогенезу, яке проявляється в зниженні кількості пресперматогеной, є зниження енергозабезпечення тканин сім'яників. З іншого боку, такі зміни вмісту аденілових нуклеотидів в пізньому ембріогенезі та на протязі двох тижнів життя можуть бути генетично детермінованими, що в певній мірі співпадає з існуючою думкою про генетичні зрушення в першому поколінні попередники яких підпали під дію різних за фізичним і хімічним походженням факторів довкілля.

В період статевого дозрівання (1-місячні щурі) було виявлено, що в тканинах сім'яників вміст АМФ дорівнював 46,7% стосовно до контролю, АДФ 48,6% і АТФ 43,3%. Слід зауважити, що вміст АМФ на даному етапі онтогенезу був нижчим від аналогічних значень I групи порівняння на 28,9% та II групи на 78,9%. Абсолютні показники вмісту аденілових нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів на даному етапі досліджень також були достовірно нижчими від показників попередніх етапів онтогенезу. Безумовно, що такий рівень макроергів в тканинах сім'яників неспроможним

в повній мірі забезпечити ті енергетичні затрати які необхідні для фізіологічного перебігу процесу сперматогенезу.

При обстежені 3-місячних тварин отриманих від попередників які перед спарюванням зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю, було встановлено, що в тканинах їх сім'яників вміст АМФ дорівнював 44,6% стосовно до контролю, АДФ 43,3% і АТФ 40,2%. Виявилось, що в щурів цього віку вміст АМФ був нижчим на 53,5% від аналогічних значень I групи та на 98,6% від показників II групи. Що стосується вмісту АДФ то його кількість у даному випадку була нижчою на 46% від аналогічних значень I групи порівняння та на 74,3% відносно II групи. Кількість АТФ на даному етапі досліджень були нижчою на 59,5% від значень I групи та на 55,2 від показників II групи. Окрім цього слід підкреслити, що вміст всіх макроергів в тканинах сім'яників щурів на даному етапі розвитку продовжував зберігати тенденцію до зниження відносно до аналогічних значень на всіх попередніх етапах онтогенезу. Таке зниження вмісту макроергічних сполук в тканинах сім'яників 3-місячних щурів, отриманих від самців та самок які перед спарюванням підпали під дію γ -опромінення та алкоголю, по відношенню до контролю, I та II груп порівняння та попередніх етапів онтогенезу негативно відбивалося на статевій активності цих самців та процесах сперматогенезу. Існуючі літературні дані з цього приводу надають нам можливість вважати, що виявлені зміни, очевидно, є генетично детермінованими з одного боку [87], і з іншого, обумовлені змінами статевої диференціації гіпоталамусу, і зокрема інтенсивністю перетворення прогестерону в тестостерон [91].

При обстежені 6-місячних тварин було встановлено, що вміст аденілових нуклеотидів в тканинах їх сім'яників був нижчим за контроль в три рази, і майже вдвічі за показники 3-місячних тварин. Крім того було виявлено, що вміст АМФ в тканинах сім'яників цих щурів був нижчим за показники I групи порівняння на 50,6% і II групи на 125,9%, АДФ відповідно на 62,2% та 132,9% і АТФ на 53,9% та 97,8%. Для цих тварин характерним було різке зниження процесу сперматогенезу та статевої активності як по

відношенню до контролю так і тварин попередники яких зазнали дії кожного окремо взятого фактору.

На наступних етапах онтогенезу (12-місячні та 24-місячні щурі) вміст макроергів в тканинах сім'яників продовжував неухильно знижуватися як по відношенню до контролю та I і II груп порівняння, так і стосовно попередніх етапів онтогенезу, досягаючи при цьому мінімальних значень на двадцять четвертому місяці життя. Характерним для цього періоду онтогенезу було практично повне згасання процесів сперматогенезу та статевої активності щурів.

Таким чином, наведені вище факти свідчать про те, що сумісна дія іонізуючої радіації та алкоголю очевидно призводить до потенціювання кінцевого ефекту, а оскільки обидва фактори можуть негативно впливати на генетичний апарат, то безумовно, виявлені зрушення в першому поколінні уже є генетично детермінованими. З іншого боку отримані результати та існуючі літературні дані [91] надають ним змогу висловити припущення, що одним із механізмів цих зрушень є також генетично обумовлені зміни статевої диференціації гіпоталамуса.

Для того щоб з'ясувати інтимні механізми таких зрушень безумовно цікавими були результати досліджень стану регуляторних механізмів, і зокрема системи циклічних нуклеотидів, яка також відіграє певну роль в функціональному стані початкових етапів експресії геному, так як більшість процесів посттрансляційної модифікації білків є цАМФ-залежними.

6.4. Особливості функціонального стану системи циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від попередників які зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення.

В результаті проведених досліджень було встановлено (табл. 6.7), що вміст циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників щурів отриманих від попередників які зазнали сумісного впливу γ -опромінення та алкоголю, мав

досить істотні відмінності від аналогічних значень контрольних груп на всіх етапах онтогенезу.

Таблиця 6.7

Вміст циклічних нуклеотидів у тканині сім'яників щурів, отриманих від попередників, що зазнали сумісного негативного впливу опромінення та алкоголю
($M \pm m$; n = 10; пмоль/г тканини)

Вік тварин	Вміст циклічних нуклеотидів		
	цАМФ	цГМФ	цАМФ / цГМФ
15-денні ембріон	83,17±2,35	22,3±1,99*	3,73
5-денні щурята	115,78±4,27	24,58±1,98*	4,71
2-тижневі	32,99±1,85	67,51±2,04	0,49
1-місячні	31,56±2,04	84,8±2,78	0,37
3-місячні	20,91±2,23	109,39±2,66	0,19
6-місячні	17,77±1,37	106,08±3,59	0,17
12-місячні	12,57±1,5	93,67±3,5	0,14
24-місячні	8,57±0,72	33,98±1,97	0,25

Примітка. * $P > 0,05$ по відношенню до одновікових тварин отриманих від алкоголізованих попередників

Так, наприклад, у 15-денних ембріонів вміст цАМФ був вищим за контроль на 35,6%, а цГМФ нижчим на 26,6%. При цьому коефіцієнт співвідношення між цими двома циклічними нуклеотидами дорівнював 3,73, що на 84,6% було вище за контроль. Було також виявлено, що вміст цАМФ у цих тварин був на 58,9% вищим за показники I групи порівняння і на 12,7% за аналогічні значення II групи. Що стосується цГМФ то його кількість в даному випадку була нижча на 37,8% відносно показників I групи і на 10,7 порівняно з II групою.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 5-денних щурят отриманих від попередників які перед

спарюванням зазнали впливу γ -опромінення та алкоголю, вміст цАМФ переважав рівень контролю на 54,6%, а цГМФ був нижчим на 32,8. Коефіцієнт співвідношення між вмістом цАМФ та цГМФ складав 4,71, що було вищим за рівень контролю на 128,6%. Слід зазначити, що вміст цАМФ у цих тварин був на 120,3% вищим за показники I групи та на 14,3% відносно II групи. Кількість цГМФ у даному випадку була нижчою на 47,9% порівняно з значеннями I групи та практично не відрізнялась від аналогічних значень II групи.

У 2-тижневих щурят вміст цАМФ в тканинах сім'яників був нижчим за рівень контролю на 59,7%, а цГМФ переважав його на 70,1%. У цих щурят вміст цАМФ в тканинах сім'яників на 35,2% був нижчим за показники I групи і на 19,6,3% за значення II групи порівняння. Що стосується цГМФ то його кількість у даному випадку переважала рівень значень I групи на 24,7% та II групи на 13,0%. Звертає на себе увагу і той факт, що вміст цАМФ більш як в 3 рази був нижчим, а цГМФ майже вдвічі вищим за аналогічні значення попереднього етапу онтогенезу.

Проведені дослідження вмісту цАМФ в тканинах сім'яників 1-місячних тварин показав, що його кількість була на 64,6% нижчою від показників контролю, а цГМФ вищою на 95,8%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом цих двох нуклеотидів у даному випадку дорівнював 0,57, що було нижчим від показників контролю на 82%. Порівняльний аналіз отриманих результатів показав, що на даному етапі досліджень вміст цАМФ на 40,8% був нижчим від аналогічних значень I групи і на 54,2% за значення II групи порівняння. У цей же час кількість цГМФ була вищою за показники I групи на 42,3% і на 45,8% за значення II групи. Звертає на себе увагу и той факт, що в абсолютних показниках кількість цАМФ практично не відрізнялась від аналогічних значень 2-тижневих щурят, тоді як вміст цГМФ різко зростав.

Таким чином, наведені факти свідчать про те, що для вмісту цАМФ сформувалося перше плато рівноваги на протязі двотижневого та одномісячного віку, при неухильному зростанні кількості цГМФ.

Обстеження 3-місячних тварин показало, що в тканинах їх сім'яників вміст цАМФ відносно до контролю складав 22,4%, тоді як цГМФ переважав його на 140,1%. У даному випадку коефіцієнт співвідношення між вмістом цих циклічних нуклеотидів дорівнював 0,19, що стосовно до контролю складало 9,3%. Цей показник майже вдвічі був нижчим за аналогічні показники 1-місячних тварин. Порівняльний аналіз отриманих результатів показав, що в даному випадку вміст цАМФ був на 53,6% нижчим від показників I групи і на 75,0% відносно II групи порівняння. В той же час вміст цГМФ переважав показники в першому випадку на 55,8% і в другому на 97,6%. Відносно показників 1-місячних тварин всі значення циклічних нуклеотидів мали достовірні відмінності і при цьому кількість цАМФ була нижчою на 33,8%, а цГМФ вищою на 28,9%.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що в тканинах сім'яників 6-місячних тварин попередники яких перед спарюванням зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення, вміст цАМФ стосовно до контролю дорівнювала 20,7%, а цГМФ переважав його на 151,6%. Коефіцієнт співвідношення між вмістом цАМФ та цГМФ складав 0,17, що стосовно до контролю дорівнювало 8,3%. Співставлення отриманих результатів вмісту цАМФ з показниками I групи та II групи порівняння показало, що у даному випадку його кількість була нижчою від значень I групи на 46,4% і II групи на 77,8%. Що стосується вмісту цГМФ то його кількість в першому випадку була вищою на 54,5%, а в другому на 113,4%. Слід зауважити, що на даному етапі онтогенезу між третім та шостим місяцем життя спостерігалось друге плато стабільного вмісту цАМФ.

Починаючи з дванадцятимісячного і включно по двадцятичотирьох місячний вік спостерігалось зниження вмісту відносно попередніх показників як цАМФ так і цГМФ. При цьому звертає на себе увагу і той факт, що активність цАМФ в тканинах сім'яників 12-місячних та 24-місячних тварин знижувався і відносно показників контролю, тоді як вміст цГМФ у 12-місячних не зважаючи на зниження відносно попередніх показників

переважав рівень контролю на 140,6%, а у 24-місячних була нижчою від останнього на 19,6%.

Таким чином, наведені факти свідчать про те, що у тварин отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали сумісної дії алкоголю та іонізуючої радіації, спостерігалось зниження функціональної спроможності системи циклічних нуклеотидів в цілому, що було ознакою глибоких метаболічних змін в тканинах їх сім'яників. Слід також зазначити, що в цих тварин виявлені зміни були значно більшими відносно показників щурів отриманих від попередників які зазнали впливу кожного окремо взятого фактору.

Для того, щоб уточнити можливі механізми таких глибоких змін вмісту циклічних нуклеотидів нами були проведені дослідження активності ферментів синтезу та гідролізу цАМФ.

В результаті проведених досліджень (табл. 6.8) було встановлено, що в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів отриманих від опромінених та алкоголізованих попередників, активність аденілатциклази переважала рівень контролю на 10,6%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою від нього на 29,9%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю цих двох ферментів становив 2,26, що на 60,7% було вищим за показники контролю. При цьому активність аденілатциклази у даному випадку, була вищою за показники I групи порівняння на 34,2% і нижчою від значень II групи на 10,5%. У цей же час активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою за значення у I групи на 39,7%, і на 12,2 за значення у II групі.

Таблиця 6.8

Активність аденілатциклази та цАМФ-фосфодіестерази у тканинах сім'яників щурів, отриманих від опромінених та алкоголізованих попередників
($M \pm m$; $n = 10$; $\mu\text{моль/г}$ тканини)

	Активність ферментів
--	----------------------

Вік тварин	АЦ	ФДЕ	АЦ/ФДЕ
15-денні ембріон	20,25±1,09	9,02±0,88	2,25
5-денні щурята	38,52±1,71	8,74±0,98	4,41
2-тижневі	11,34±1,18	28,41±1,98	0,39
1-місячні	9,11±1,28	28,56±2,19	0,32
3-місячні	5,7±0,54	32,79±2,32	0,17
6-місячні	5,29±0,59	30,54±1,93	0,17
12-місячні	2,94±0,41	47,16±1,85	0,06
24-місячні	2,06±0,24	15,56±1,26	0,13

Примітка. $P > 0,05$ в усіх випадках

При обстеженні 5-денних щурят було встановлено, що активність аденілатциклази переважала значення контролю на 63,5%, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою від нього на 38,4%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю даних ферментів дорівнював в даному випадку 4,4, що було майже вдвічі вищим за рівень контролю та переважало рівень 15-денних ембріонів в 1,9 рази. При порівнянні отриманих результатів було встановлено, що активність аденілатциклази у цій віковій групі була вищою за аналогічні показники I групи порівняння на 121,1% і на 19,6% по відношенню до II групи. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази на даному етапі була нижчою на 51,5% від її значень у I групі і на 14,8% у II групі. Слід зазначити що активність аденілатциклази у 5-денних щурят було достовірно вищою від показників 15-денних ембріонів, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази практично не відрізнялася від них.

У 2-тижневих щурят активність аденілатциклази стосовно до контролю дорівнювала 45,6% а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази 190,3%. При цьому коефіцієнт взаємовідносин між даними ферментами знижувався більш як в десять раз відносно показників 5-денних щурят і стосовно до контролю дорівнював 23,5%. Порівняно з показниками I групи активність

аденілатциклази на даному етапі досліджень була нижчою на 29,8% і стосовно II групи на 25,7,5%. Тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази переважав показники I групи на 35,6,3 і II групи на 21,4%.

Проведені дослідження активності ферментів в тканинах сім'яників 1-місячних тварин, отриманих від попередників які зазнали впливу тривалого γ -опромінення та алкоголю, показали, що активність аденілатциклази стосовно до контролю дорівнювала 32,3%, а цАМФ-залежної фосфодіестерази 210,6%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази у даному випадку дорівнював 0,32, це по відношенню до контролю становило 15,2%. Відносно показників I групи порівняння активність аденілатциклази була нижчою на 44,9% та відносно значень II на 55,3%. Активність цАМФ-залежної фосфодіестерази переважала показники I групи на 32,4% і II групи на 54,1%. Характерним для цього етапу дослідження було і те, що активність аденілатциклази порівняно з попереднім терміном проявляла тенденцію до зниження, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази практично не відрізнялась.

В тканинах сім'яників 3-місячних тварин активність аденілатциклази складала стосовно до контролю складала 20,5%, а цАМФ-залежної фосфодіестерази 250,7%. Коефіцієнт взаємовідносин між активністю цих двох ферментів дорівнював 0,15, що стосовно до контролю складало 8,2%. Порівняно з показниками I групи активність аденілатциклази була нижчою на 63,7%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази вищою на 61,5%. Відносно II групи активність аденілатциклази була нижчою на 77,8%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази вищою на 109,5%. На даному етапі досліджень активність аденілатциклази була в 1,6 рази нижчою за показники даного ферменту на попередньому етапі онтогенезу, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази переважала його на 14,7%.

У 6-місячних тварин отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали сумісної дії алкоголю та γ -опромінення, було

встановлено, що активність аденілатциклази стосовно до контролю становила 19,8%, а цАМФ-залежної фосфодіестерази 270,5%. Коефіцієнт співвідношення дорівнював 0,18, що на 8,2% було нижчим за значення контролю. Стосовно I групи порівняння активність аденілатциклази була нижчою на 44,7%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була вищою на 61,7%. По відношенню до II групи активність вказаних ферментів була в першому випадку була нижчою на 82,1%, а в другому переважала їх значення на 200,8%. Характерним для даного етапу досліджень було і те, що активність ферментів практично не відрізнялась від значень попереднього терміну досліджень, що підтверджувалось величиною коефіцієнту взаємовідносин між активністю вказаних ферментів.

При обстеженні 12-місячних тварин було встановлено, що в тканинах їх сім'яників активність аденілатциклази була нижчою від контролю на 81,9%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази переважала його на 181,2%. Коефіцієнт взаємовідносин між цими двома ферментами дорівнював 0,06. Відносно показників I групи порівняння активність аденілатциклази була нижчою на 39,9%, а цАМФ-залежної фосфодіестерази переважала їх на 55,6%. Порівняно з II групою активність аденілатциклази була нижчою на 82,2%, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази переважала їх значення на 172,1%. Слід зазначити, що на даному етапі досліджень коефіцієнт взаємовідносин між активністю вказаних ферментів була в три рази нижчим порівняно з показниками попереднього терміну, при цьому активність аденілатциклази більш як у два рази знижувалась порівняно з ними, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази посилювалась на 54,6%.

Для 24-місячних тварин отриманих від попередників які зазнали сумісної дії іонізуючої радіації та алкоголю, характерним було те, що активність аденілатциклази в тканинах сім'яників стосовно до контролю дорівнювала 15,2%, а активність цАМФ-залежної фосфодіестерази складала 86,2%. Коефіцієнт взаємовідносин між вмістом цих ферментів в даному

випадку дорівнював 0,13, що стосовно до контролю становило 16,3%. По відношенню до I групи порівняння активність аденілатциклази була нижчою на 50,7%, а цАМФ-залежної фосфодіестерази на 54,8%. Порівняно з II групою активність аденілатциклази була нижчою на 81,9%, а цАМФ-залежної фосфодіестерази на 37,4%. Характерним для даного етапу досліджень було і те, що активність аденілатциклази практично не відрізнялась від попереднього етапу онтогенезу, тоді як активність цАМФ-залежної фосфодіестерази була нижчою від нього в 6,3 рази. Таке різке падіння активності цАМФ-залежної фосфодіестерази сприяло тому, що коефіцієнт взаємовідносин між вмістом вказаних ферментів на даному етапі досліджень зростав порівняно з попереднім терміном більш як у два рази.

Таким чином, викладені результати досліджень свідчать про те, що основною причиною виявлених зрушень вмісту циклічних нуклеотидів в тканинах сім'яників на різних етапах онтогенезу щурів отриманих від самців та самок які перед спарюванням зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю, є глибокі зрушення активності ферменту синтезу цАМФ та його гідролітичного розщеплення. З іншого боку такі глибокі зрушення вмісту та активності ферментів призводять до дестабілізації функціонального стану системи циклічних нуклеотидів, що призводить до порушення метаболічних процесів, та зсуву їх в бік катаболізму. Посилення катаболічних процесів в тканинах сім'яників безумовно негативним чином віддзеркалюється на процесі сперматогенезу та статевій активності цих тварин. Зазначені факти також є однією із ознак передчасного старіння щурів.

РОЗДІЛ 7

ОБГОВОРЕННЯ ВЛАСНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Однією із актуальних проблем на сьогодні як в соціальному так і в медичному аспекті є збереження генофонду України. Це обумовлено тим, що значне погіршення екологічної ситуації призвело до зростання негативного балансу приросту населення. А оскільки репродуктивна система в цьому питанні відіграє провідну роль, то ми вважаємо за доцільне провести подібні дослідження. Окрім цього слід зазначити, що на сьогодні фундаментальних робіт, які б були присвячені цій проблемі в доступній літературі майже не має. Відсутні також відомості, що до особливості функціонування цієї системи на різних етапах фізіологічного онтогенезу, та за умов дії будь яких несприятливих факторів (алкоголь, стрес, радіація, токсини та ін.). На підставі цього нами були проведені експериментальні дослідження по визначенню патофізіологічних механізмів зрушень в чоловічій репродуктивній системі нащадків на різних етапах онтогенезу що були отримані від попередників які зазнали тривалого впливу радіаційного фактору та алкоголю.

В результаті проведених досліджень були виявленні особливості морфо-функціонального стану сім'яників на етапах пізнього ембріогенезу та постнатального онтогенезу як за фізіологічних умов, так і у щурів першого покоління, отриманого від самців та самок, які зазнали впливу радіаційного фактору, алкоголю та сумісної їх дії.

За фізіологічних умов у 15-денних ембріонів коефіцієнт взаємовідносин між вмістом дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в тканинах сім'яників складав 0,74. Активність супероксиддисмутази при цьому дорівнювала $(72,6 \pm 0,61)$ у.о, каталази $(22,9 \pm 0,7)$ м.о, глутатіонпероксидази – $(12,8 \pm 0,8)$ нмоль/г і глутатіонтрансферази – $(59,4 \pm 1,16)$ нмоль/г. Це відповідало забезпеченню аденіловими нуклеотидами

АТФ – $(18,6 \pm 1,58)$ нмоль/г, АДФ – $(2,97 \pm 0,48)$ нмоль/г, АМФ – $(2,85 \pm 0,46)$ нмоль/г.

Після народження у 5-денних щурят спостерігалось збільшення вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів, активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази, при цьому необхідно підкреслити, що особливо посилювалась активність останніх двох ферментів. Це, очевидно, обумовлено спробою організму до адаптації відносно зовнішніх факторів. Характерним було і те, що вміст аденілових нуклеотидів достовірно збільшувався порівняно з 15-денними ембріонами, а також зростала кількість циклічних нуклеотидів та активність аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази. Враховуючи існуючі дані, що до ролі зазначених процесів в забезпеченні фізіологічного перебігу метаболічних процесів [123] ми можемо вважати, що такі зміни направлені на забезпечення пристосування новонародженого організму до нових умов існування. Явище інтенсифікації як процесів перекисного окислення ліпідів, так і активності ключових ферментів антиоксидантної системи відзначалось і у 2-тижневих щурят. Можливо такі зміни в досліджених реакціях, які поєднувалися зі збільшенням вмісту аденілових нуклеотидів та циклічних нуклеотидів посилюючи метаболічні процеси, сприяли фізіологічному розвитку сім'яників. Зазначені дані підтверджуються морфологічними дослідженнями в яких виявлено, що починаючи з 5 денного і по 2 тижневий вік відбувалися значні зміни в популяції клітин сперматогенного епітелію. А саме відбувалася диференціація фетальних сперматогоній в сперматогонії основних типів (типу А, проміжні, типу В), та поява сперматид на початкових етапах розвитку. Отримані дані співпадають з уявленнями відносно процесів сперматогенезу [115].

Починаючи з одномісячного віку (період статевого дозрівання) стаціонарний рівень системи ПОЛ-АОС був достовірно вищим за показники всіх попередніх етапів розвитку. Крім того, слід зауважити, що вміст аденілових нуклеотидів та функціональний стан системи циклічних

нуклеотидів також був вищим ніж у попередніх випадках. Можливо, що такий високий рівень метаболічних процесів є необхідною умовою для забезпечення дозрівання та диференціювання статевих клітин. Підтвердженням цього є те, що активність досліджуваних процесів стабільно утримується на такому рівні у трьохмісячних та шестимісячних тварин, тобто на всьому періоді активного функціонування статевої системи. Це в свою чергу підтверджувалося результатами досліджень кількісного складу клітин сперматогенного епітелію.

Починаючи з дванадцятимісячного віку спостерігалось різке зростання в тканинах сім'яників вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів (ДК та МДА) максимальних значень, який досягав у 24-місячних тварин. Паралельно з цим відбувалося також зниження активності ферментів антиоксидантної системи і особливо це стосувалося глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази, тобто тіол-залежних ферментів які відіграють провідну роль в адаптаційних процесах [30]. Спостерігалось також у цих тварин зниження вмісту аденілових нуклеотидів та цАМФ і навпроти вміст цГМФ та активність цАМФ-залежної фосфодіестерази різко зростали. Такі зміни, як відомо [82], є однією із ознак посилення катаболічних процесів. З боку морфології сперматогенного епітелію спостерігається зменшення як загальної кількості клітин, так і зменшення в еякуляті активно рухливих форм сперматозоїдів. Отримані нами дані підтверджуються відомою гіпотезою про зворотність в лінії статевих клітин в процесі фізіологічного старіння організму.

Встановлено, що в тканинах сім'яників щурів які були отримані від γ -опромінених перед спарюванням самців та самок, практично на всіх етапах онтогенезу спостерігалися досить істотні відхилення досліджуваних процесів від аналогічних даних контрольної групи. Так, наприклад, вміст дієнових кон'югатів та малонового диальдегіду в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів були вищими відповідно на 18% та 30,4% ($P > 0,05$) порівняно з аналогічними значеннями контролю. Паралельно з цим в тканинах сім'яників

ембріонів спостерігалось зниження активності СОД, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Всі виявлені відхилення були достовірно нижчими. Встановлено, також, що вміст аденілових нуклеотидів, і зокрема АТФ і АМФ, був достовірно нижчим від рівня контролю. Що стосується циклічних нуклеотидів та вмісту цАМФ на даному етапі досліджень, то їхні значення були достовірно нижчими, а вміст цГМФ вищим за рівень контролю, це в свою чергу супроводжувалось зниженням активності аденілатциклази та посиленням активності цАМФ-залежної фосфодіестерази. Отже, наведені дані свідчать про те, що в пізньому ембріогенезі в тканинах сім'яників спостерігаються досить істотні зміни метаболічних процесів в напрямку катаболізму. Характерним є і те, що в даному випадку спостерігалось різке зниження антиоксидантного статусу, що в свою чергу може бути ранньою ознакою низької неспецифічної резистентності організму [16].

У новонароджених щурят (5-денні) було виявлено, що в тканинах сім'яників вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду різко зростав як по відношенню до показників у ембріонів, так і стосовно контролю. Але при цьому на відміну від фізіологічного стану, спостерігалось різке пригнічення активності ферментів антиоксидантної системи, і зокрема ферментів глутатіонової ланки, що є ознакою порушення тіол-дисульфідного обміну [17]. Досить помітно знижувався і вміст аденілових нуклеотидів як по відношенню до значень у ембріонів, так і контролю, що є певною ознакою зниження енергозабезпечення цих тканин. Низьким також був рівень вмісту цАМФ і навпроти високим рівень вмісту цГМФ на тлі низької активності аденілатциклази та високої активності та цАМФ-залежної фосфодіестерази. Наведені дані свідчать про те, що основною рисою виявлених змін у 5-денних щурят була активація катаболічних процесів, низька активність антиоксидантних ферментів, що сприяло зсуву рівноваги в системі ПОЛ-АОС вліво. Такі зміни супроводжувалися також і відхиленнями у кількісному та якісному складі в популяції клітин звивистих сім'яних каналців,

посиленням активності мітотичних процесів по відношенню до фізіологічного контролю, які супроводжувалися зростанням проценту патологічних мітозів.

У 2-тижневих щурят, народжених від опромінених тварин, в тканинах сім'яників інтенсивність утворення ДК та МДА продовжувала зростати як по відношенню до попередніх етапів онтогенезу, так і по відношенню до одновікового контролю на фоні неухильного зниження активності ферментів антиоксидантної системи. В тканинах сім'яників цих тварин відзначається низький рівень аденілових нуклеотидів та цАМФ, тоді як кількість цГМФ була вищою за рівень одновікового контролю на 36,3% . Очевидним є той факт, що надмірні кількості продуктів ПОЛ та низька активність антиоксидантних у цих щурят негативно віддзеркалюється на процесах диференціювання та кількісному складі клітин сперматогенного епітелію.

Період статевого дозрівання (1-місячний вік) характеризувався тим, що в тканинах сім'яників вміст ДК та МДА був достовірно вищим за аналогічні за данні всіх попередніх термінів дослідження та значення одновікового контролю відповідно на 73,5% та 46,9% ($P > 0,05$). В той же час активність антиоксидантних ферментів була майже вдвічі нижчою за показники контролю, і особливо низькою вона була у ферментів глутатіонової ланки. Вміст аденілових нуклеотидів, усіх їх форм, майже на 40% був нижчим за показники контролю, а циклічних нуклеотидів носив різнонаправлений характер. При цьому кількість цАМФ стосовно до контролю становила 60,2%, а цГМФ 137,6%. Зниження вмісту цАМФ очевидно було обумовлене зниженням активності ацетилхолінестерази і посиленням активності цАМФ-залежної фосфодіестерази. Такі зміни означали, що пригнічення синтезу цього нуклеотиду супроводжувалось посиленням його гідролітичного розщеплення. Вочевидь стає зрозумілим, що такі зрушення показників можливо є однією із причин негативних змін в функціонуванні сперматогенного епітелію. Аналіз кількісного складу клітин сперматогенного епітелію показав, що знижується число як окремо взятих клітин, так і

загальної їх кількості на 19,2% порівняно з одновіковим контролем, хоча як відмічалось, на попередніх етапах онтогенезу спостерігалось посилення активності мітотичних процесів, яке логічно мало б призвести до збільшення кількості клітин. Вказані факти дали нам можливість зробити припущення, що, можливо, у тварин отриманих від опромінених попередників відбувається більш швидке статеве дозрівання порівняно з фізіологічним контролем. Підтвердженням цього припущення були результати підрахунку кількості окремих форм клітин сперматогенного епітелію в тканинах сім'яників у статевозрілих щурів .

Так було виявлено що кількість як окремих форм клітин сперматогенного епітелію так і загального їх числа у 3-місячних щурів отриманих від опромінених попередників відповідала рівню 6-місячних тварин які були отримані за фізіологічних умов.

Тому для уточнення механізмів виявлених відхилень нами були проведені дослідження метаболічних процесів які виходячи з позицій „критичних систем” [20] можуть надати характеристику можливим патофізіологічним механізмам виявлених зрушень.

В результаті проведених досліджень нами було встановлено, що в тканинах сім'яників 3-місячних отриманих від опромінених попередників вміст ДК та МДА переважала рівень одновікового контролю відповідно на 87,4% та 97,9%. При цьому активність ключових ферментів АОС майже вдвічі була нижчою від контролю. Особливої уваги заслуговує той факт, що активність глутатіонових ферментів була нижча від контролю втричі. Таке пониження глутатіонових ферментів ланки АОС, як відомо [46], є однією із ознак інтоксикаційних процесів. Вочевидь також стає зрозумілим, що надмірні кількості продуктів ПОЛ призводили до модифікації активності аденілатциклази та цАМФ-залежної фосфодіестерази внаслідок чого спостерігалось зниження кількості цАМФ і збільшення цГМФ, а коефіцієнт взаємовідносин знижувався як у три рази. Можливо, що такі зміни в системі циклічних нуклеотидів обумовлені негативним впливом продуктів ПОЛ не

тільки безпосередньо на них, але і на вміст аденілових нуклеотидів, кількість яких у даному випадку була нижчою за показники контролю майже на 40% ($P > 0,05$). Отже отримані результати біохімічних досліджень нашою думкою, що ці процеси передують морфологічним змінам і мабуть є однією із основних причин змін функціонального стану сперматогенного епітелію. Слід звернути увагу на ще одну обставину, що при порівнянні цих даних в фізіологічному онтогенезом виявлені зміни є близькими до показників 12-місячних тварин, це може бути ознакою передчасного старіння. Так, як відомо, що надмірні кількості продуктів ПОЛ при низькій функціональній спроможності АОС є предикторами старіння [42]. Підтвердженням висловлених припущень є результати досліджень як морфологічних показників, так і біохімічних процесів на наступних етапах онтогенезу. Які свідчать ці результати, починаючи з шестимісячного віку в тканинах сім'яників спостерігаються незворотні зміни морфології клітин сперматогенезу, а максимальні відхилення від фізіологічного рівня були виявлені у 24-місячних тварин. Головною рисою таких змін був неухильний ріст вмісту ДК та МДА на фоні дуже низької активності ферментів АОС, яка була нижчою майже в 3 рази, а глутатіонзалежних ферментів в чотири рази. Для таких тварин було характерним падіння активності статевої активності. Таким чином, тривале γ -опромінення статевозрілих самців та самок перед їх спарюванням негативним чином впливало на морфо-функціональний стан сім'яників на всіх етапах онтогенезу. Таке явище може бути обумовлено тим, що на етапах онтогенезу тварин, отриманих від опромінених попередників спостерігалися відхилення на рівні геномних структур. Подібні результати були отримані при дослідженні активності цих процесів і в інших органах [47]. Не менш цікаві з цієї точки зору були результати покоління щурів батьки яких перед спарюванням вживали алкоголь, а самки навіть і період вагітності.

Внаслідок таких досліджень було встановлено, що у 15-денних ембріонів вміст ДК та МДА був значно вищим ніж в контролі та порівняно з

ембріонами опромінених тварин. Досить істотно також у цих ембріонів спостерігалось і пригнічення активність СОД і каталази. Особливо низькою була активність ГП та ГТ. Можливо, що таке явище обумовлено тим, що як відомо [130], алкоголь здатний накопичуватися в тканинах сім'яників і не підлягає у них подальшій метаболізації. Підтвердженням цих припущень було і те, що спостерігалися зміни вмісту аденілових нуклеотидів, але на відміну з ембріонів отриманих від опромінених тварин вміст АТФ не відрізнявся від контролю, тоді як вміст АДФ та АМФ був вищим від нього на 10,3% та 15,4%. Суттєвих змін в тканинах сім'яників ембріонів зазнала і система циклічних нуклеотидів, і при цьому спостерігалось підвищення вмісту цАМФ і достовірне зниження цГМФ як по відношенню до контролю так і ембріонів опромінених тварин. Поряд з цим спостерігалось збільшення вмісту АМФ та АДФ та зниження вмісту АТФ.

У 5-денних тварин отриманих від алкоголізованих самців та самок вміст ДК та МДА продовжував збільшуватися і при цьому їх значення достовірно переважали як показники контролю так і аналогічні значення одновікових тварин отриманих від опромінених попередників. І навпроти, визначалося різке пригнічення активності ферментів АОС. Подібна динаміка спостерігалась і в системах циклічних нуклеотидів та аденілових нуклеотидів.

У 2-тижневих щурят відзначалося неухильне збільшення вмісту як ДК так і МДА по відношенню до одновікового контролю. Але істотних відмінностей з аналогічними показниками одновікових тварин отриманих від опромінених тварин не спостерігалось. Що стосується активності ферментів АОС то й у даному випадку їх активність була нижчою від контролю, але відхилень від аналогічних значень у одновікових тварин отриманих від опромінених тварин майже не відмічалось. Стосовно аденілових нуклеотидів слід зазначити, що виразність зменшення їх вмісту була меншою по відношенню до одновікового контролю ніж у тварин отриманих від опромінених попередників. Щодо циклічних нуклеотидів то вміст цАМФ був

нижчий від контролю, а цГМФ вищим, і виразність цих змін була більшою ніж у тварин отриманих від опромінених попередників.

Таким чином приведені факти є ознакою того, що у тварин отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок спостерігалися більш істотні зміни досліджених процесів в перші два тижні життя ніж у тварин отриманих від опромінених попередників. Очевидним є той факт, що виявлені зміни по своєму характеру є більш подібні до змін які розвиваються при інтоксикаційних ураженнях [50, 109].

Досить істотні були відхилення усіх досліджених процесів на початку статевого дозрівання (1-місячні), але при цьому вміст продуктів ПОЛ, незважаючи на високий рівень відносно контролю, був достовірно нижчий від показників одновікових тварин отриманих від радіаційно уражених тварин. І навпаки активність антиоксидантних ферментів пригнічувалось у більшій мірі за даних умов. Що стосується аденілових нуклеотидів то їх кількість у цій віковій групі була вищою відносно групи порівняння, але зменшувалась відносно контролю. Подібна картина змін спостерігалась у стані системи циклічних нуклеотидів. Таким чином, наведені факти надають нам можливість припустити, що очевидно, алкоголь більш впливає на структурну організацію тканин сім'яників, а у тварин отриманих від γ -опромінених попередників на геномний апарат [3].

В період статевої зрілості (3- місячні) було встановлено, що вміст ДК та МДА у цій віковій групі тварин практично не відрізнявся від 1-місячних та 6-місячних. Але в той же час їх показники були значно нижчими від аналогічних значень тварин отриманих від опромінених перед спарюванням самці та самок. Тоді як активність ферментів АОС у цей час в більшій мірі пригнічувалась відносно групи порівняння. Водночас відзначався більший вмісту аденілових та циклічних нуклеотидів відносно групи порівняння, незважаючи на досить істотне зменшення відносно контролю. При цьому слід зауважити, що окрім виявлених метаболічних відхилень спостерігались і відмінності між цими двома групами тварин і в морфологічній картині, яка

виражалася в істотному пригніченні мітотичних процесів гоноцитів в пізньому ембріональному періоді та на ранніх етапах постнатального розвитку. Дуже важливим є і той факт момент, що статева активність у самців отриманих від алкоголізованих попередників була вищою від групи порівняння, але нижчою ніж в інтактних. Можливо, що такі відмінності у виявлених змінах обумовлюються різними механізмами дії вказаних двох факторів на структуру і функцію клітин тканин сім'яників. Це підтверджується рядом досліджень інших авторів, що до кількісного та якісного складу сперматозоїдів в еякуляті [10, 18, 54].

В період старіння (з 12-го до 24-х місячного віку) було виявлено, що у щурів-самців попередники яких тривалий час вживали алкоголь перед спарюванням та під час виношування плоду, кількість продуктів ПОЛ неухильно зростало по відношенню до показників всіх попередніх етапів онтогенезу, а активність ферментів АОС знижувалась більш як у три рази, досягаючи мінімальних значень у 24-місячних тварин. І в даному випадку були виявлені ряд особливостей. Суть яких полягає в тому, що у тварин отриманих від γ -опромінених попередників вміст ДК та МДА і в 12-місячних і в 24-місячних був значно вищим ніж у щурів отриманих від алкоголізованих самців та самок, при цьому і активність ферментів АОС, не дивлячись на низький рівень відносно контролю, була значно вищою. Стосовно аденілових нуклеотидів то їх вміст у 12-ти та 24-місячних щурів, отриманих від алкоголізованих попередників, незважаючи на низькі показники відносно контролю, в 1,5 рази був вищим за аналогічні значення групи порівняння. Подібні відхилення виявлені і в системі циклічних нуклеотидів.

Таким чином, підводячи підсумок отриманим результатам ми можемо зробити узагальнення про те, що і радіація в низьких дозах і алкоголь призводять до досить істотних відхилень в тканинах сім'яників майже на всіх етапах онтогенезу першого покоління, отриманого від самців та самок які зазнали дії цих факторів перед спарюванням. Але в той же час при наявності

подібних рис виявлених змін, існує і цілий ряд особливостей. Так у тварин, отриманих від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок в пізньому ембріогенезі та на протязі двох тижнів постнатального розвитку виявлені зрушення мають дещо протилежний характер від групи порівняння (нащадки опромінених тварин), а з початком статевого дозрівання і включно по 24 місяць життя виявлені зміни подібні. Але при цьому звертає на себе увагу, що глибина виявлених відхилень від контролю, і особливо це стосується антиоксидантної системи та систем циклічних і аденілових нуклеотидів, є більш виразними у самців групи порівняння. Базуючись на існуючих літературних даних ми вважаємо, що такі відмінності можуть бути обумовленими тим, що іонізуюча радіація в більшій мірі ніж алкоголь впливає на геномний апарат статевих клітин батьків[57, 68], і виявлені відхилення, очевидно, носять генетично детермінований характер. Безумовно, що дія того чи іншого фактору несприятливо буде впливати на загальний стан здоров'я батьків, і отже негативно віддзеркалиться на генофонді поколінь отриманих від них.

Цікавими з таких позицій, і з врахуванням ситуації, яка склалася в нашій державі, є результати досліджень дії на функціональний стан сім'яників покоління отриманого від попередників які підпали під вплив тривалої іонізуючою радіації в низьких дозах та вживали в цей період великі дози алкоголю. Безперечно що досліди на таких моделях мають значення не тільки для медичної науки, але і носять виразний соціальний характер. Останнє обумовлене тим, що відомі [92] дані за якими в Україні значно зросла кількість сімей які проживають в зоні жорсткого радіаційного контролю та зловживають алкогольними напоями.

В результаті таких досліджень було встановлено, що вміст продуктів ПОЛ в тканинах сім'яників тварин, які були отримані від самців та самок що зазнали сумісної дії γ -опромінення та алкоголю, мав істотні відмінності як по відношенню до контролю так і до показників у нащадків отриманих від опромінених попередників (I група порівняння), та нащадків алкоголізованих

батьків (II група порівняння). Так, наприклад, вміст продуктів ПОЛ в тканинах сім'яників 15-денних ембріонів та 5-денних щурят був вищим за контроль та показники I і II груп порівняння. Характерним у цьому випадку був і той факт, що кількість МДА значно перевищувала вміст ДК. У 2-тижневих та 1-місячних тварин цього покоління показники МДА та ДК також перевищували аналогічні значення як контролю, так і I та II груп порівняння, але в даному випадку інтенсивність їх накопичення була нижчою ніж на попередніх етапах розвитку. У 3-місячних та 6-місячних тварин цієї групи показники вмісту продуктів ПОЛ достовірно переважали рівень контролю, але були виявлені і характерні особливості. Так у 3-місячних щурів кількість ДК була достовірно вищою за аналогічні значення I групи порівняння і практично не відрізнялася від значень II групи порівняння. Починаючи з 12-ти місячного і по 24-й місяць життя інтенсивність утворення ДК та МДА в тканинах сім'яників зростала, досягаючи максимальних значень у 24-місячних тварин. Очевидно, що наведені факти є свідченням про потенціювання дії двох несприятливих факторів (іонізуюча радіація та алкоголь), що негативно віддзеркалюється на морфо-функціональних властивостях тканин сім'яників. З іншого боку, враховуючи той факт, що алкоголь та іонізуюча радіація, як відомо [42,], виступають в ролі предикторів старіння, то звідцільа стає зрозумілим, що провідну роль в цих механізмах відіграють надлишкові кількості продуктів ПОЛ. Крім того необхідно підкреслити, що важливу роль в накопиченні продуктів ПОЛ відіграє і зниження активності антиоксидантних ферментів в тканинах сім'яників щурів цього покоління, які були достовірно нижчими за показники як контролю так і обох груп порівняння. Виключенням в цьому складає активність антиоксидантних ферментів у 3-місячних тварин в яких активність СОД практично не відрізнялася від аналогічних показників I групи порівняння, активність каталази від II групи порівняння, активність ГП від I і II груп порівняння, а ГТ від I групи порівняння. Подібна картина спостерігалась також і у 6-місячних тварин, а починаючи з 12 місячного віку

і до кінця експерименту зазначені показники були достовірно нижчими. Звертає на себе увагу і ще одна обставина. Починаючи з пізнього ембріогенезу і по 2-тижневий вік більш істотному пригніченню підлягає активність ГП та ГТ. Такі зміни активності зазначених ферментів, враховуючи літературні дані [101], у більшій мірі, очевидно, обумовлені впливом алкоголю. Проведенні дослідження функціонального стану систем аденілових та циклічних нуклеотидів виявили достовірні відхилення в них як по відношенню до контролю так і обох груп порівняння. На наш погляд такі зміни обмовлені змінами в системі ПОЛ-АОС.

Таким чином, наведені вище факти свідчать про те, що сумісна дія алкоголю та іонізуючої радіації в низьких дозах призводили до більш істотних відхилень функціонального стану досліджених процесів та їх дезінтеграцію, що в свою чергу негативно віддзеркалювалось на морфо-функціональному стані тканин сім'яників. Враховуючи існуючі літературні дані [107] ми вважаємо, що поєднання радіаційного фактору з токсичним призводить до більш глибоких зрушень в геномному апараті клітин і переш за все це стосується цАМФ-залежних процесів пострасляційної модифікації білків хроматину, біосинтезу та виходу РНК із ядер клітин, що підтверджується глибокою дезінтеграцією цАМФ, так як відомо [67], що процеси пострасляційної модифікації білків є цАМФ залежні. В першу чергу, на нашу думку, у даному випадку, страждають реакції фосфорилування, так як відбувається зниження ендogenous пулу аденілових нуклеотидів та цАМФ в клітинах сперматогенного епітелію

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми, сутність якої полягає у визначенні патофізіологічних механізмів порушення функціонального стану тканин сім'яників на різних етапах онтогенезу першого покоління, отриманого від самців та самок, які перед спарюванням зазнали тривалого впливу γ -опромінення в дозі 1,0 Гр, алкоголю та сумісної їх дії.

1. За фізіологічних умов в пізньому ембріогенезі, ранньому постнатальному періоді та періодах статевого дозрівання, зрілості і старіння були виявлені різні кількості продуктів ПОЛ, макроергів, циклічних нуклеотидів та активності ферментів АОС. Характерним було те, що до шестимісячного віку спостерігалось неухильне зростання продуктів ПОЛ та посилення активності ферментів АОС. Починаючи з дванадцятимісячного віку, зростання інтенсивності ПОЛ відбувалося на тлі зниження активності антиоксидантних ферментів.
2. У тварин першого покоління, отриманого від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок, активність СОД, каталази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази була достовірно нижчою за показники одновікового контролю на всіх етапах онтогенезу, що в свою чергу супроводжувалося інтенсифікацією утворення продуктів ПОЛ. При цьому в тканинах сім'яників цих тварин спостерігалось зниження вмісту АТФ, АДФ та АМФ. В системі циклічних нуклеотидів спостерігалось зниження вмісту цАМФ та підвищення цГМФ на протязі дванадцяти місяців життя, а у 24-місячних тварин спостерігалось зниження обох нуклеотидів.
3. Процес розвитку статевих клітин у щурів-самців першого покоління отриманого від алкоголізованих перед спарюванням самців та самок мав характерні особливості, які проявлялися в більшому пригніченні росту і розмноженні статевих клітин в пізньому ембріогенезі та на ранніх етапах постнатального розвитку як по відношенню до показників одновікових

контрольних груп, так і тварин, отриманих від опромінених попередників. В період статевої зрілості, незважаючи на погіршення показників спермограми відносно фізіологічного контролю, процент активно рухливих форм сперматозоїдів з прямолінійним рухом був вищим, а процент сперматозоїдів без руху меншим, ніж у тварин, отриманих від опромінених попередників.

4. Утворення продуктів ПОЛ в тканинах сім'яників щурів першого покоління, отриманого від γ -опромінених перед спарюванням попередників, було вищим за показники контролю, але нижчим порівняно з аналогічними показниками тварин, отриманих від алкоголізованих попередників (група порівняння), на всіх етапах онтогенезу. При цьому активність антиоксидантних ферментів була достовірно нижчою від контролю, та від значень групи порівняння. Вміст цАМФ на всіх етапах онтогенезу був нижчим за контроль, а цГМФ переважав його, але виявлені зміни були меншими відносно показників групи порівняння. Вказані зміни призводили до того, що у статевозрілих тварин (3-місячні) загальна кількість клітин сперматогенного епітелію була нижчою від контролю та від значень групи порівняння.
5. Сумісна дія γ -опромінення та алкоголю призводили до більшого посилення інтенсивності утворення продуктів ПОЛ, зниження активності антиоксидантних ферментів, вмісту аденілових нуклеотидів та дезорганізації функції системи циклічних нуклеотидів порівняно з аналогічними показниками як контролю, так і тварин, отриманих від самців та самок, які підпали під дію кожного окремо взятого фактору. Виявленні зрушення призводили до найбільшого погіршення морфологічної картини у статевозрілих тварин та зменшення кількості активно рухливих форм сперматозоїдів в еякуляті.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И. Человек и противовоспалительные вещества.-Л.: Наука, 1985.-230 с.
2. Алмазов В.А., Гуревич В.С., Шатилина Л.В. Роль гиперпероксидации липидов в нарушении структурной основы организации тромбоцитарных мембран // Бюл. exper. биол.-1992.-№9.-С. 265-267
3. Анохина И.П. Генетика алкоголизма и наркоманий. Руководство по наркологии. 2002; 1: 140–60.
4. Байракова А.К., Федоренко Б.К. Оценка биологической эффективности высокоэнергетических ускоренных заряженных частиц на основе цитогенетических нарушений в половых клетках мышей // Косм. биология и авиакосм. медицина. – 1991. – Т.25, №3. – С. 42-44.
5. Барабой В.А., Олійник С.А., Хмелєвський Ю.В. Стан антиоксидантної системи за дії іонізуючої радіації у низьких дозах та низької інтенсивності // Укр. біохім. журн. – 1994. – Т.66, М. – С. 3-18.
6. Бедна Л.П., Андрейченко С.В., Нурищенко Н. Развитие морфологических изменений в структуре гамма-облучённых сперматозоидов в пострadiационный период // Радиобиол. съезд: Тез. докл. - Пущено, 1993. – С. 17-18.
7. Бедна Л.П., Волошенюк Т.Г. Реакция сперматозоидов мыши на острое воздействие ионизирующей радиации // Фундаментальные и клинические аспекты современной реабилитации: Матер. респ. науч.-практ. конф. – Полтава, 1995. – С. 199.
8. Безверха Т.П., Лучицкий Є.В., Корнющенко М.П. Іонізуюче випромінювання і статевий розвиток чоловічого організму : Огляд // Ендокринологія. – 1998. – Т.3, №2. – С. 190-202.
9. Бідна Л.П. Вплив альфатокоферолу ацетату на функціональні, цітохімічні та ультраструктурні показники чоловічих статевих клітин при гама-опроміненні // Укр. мед. молодіж. журнал. – 1995. - №4. – С. 4-8.

10. Бідна Л.П. Морфофункціональне дослідження чоловічих гамет мишей в умовах гама-опромінення в широкому діапазоні доз та дії альфатокоферолу: Автореф. дис. канд. мед. наук. – К., 1996. – 18 с.
11. Бідна Л.П., Щербак Л.Ф. Радіаційне порушення структури та окисно-відновлювальних мітохондрій чоловічих гамет // Актуальні питання морфогенезу : Матер. наук. конф.- Чернівці, 1996. – С. 35-36.
12. Біологічна роль оксиду азоту / Запорожан В.М., Гоженко А.І., Савицький І.В. // NO-залежні механізми стимуляції репродуктивної системи самців. – Одес. держ. мед. ун-т, 2001. – С. 60-69.
13. Бондаренко В.А. Гормоны системы гипофиз-гонады и их модуляторы в терапии нарушений сперматогенеза у мужчин // Междунар. мед. журн. – 2000.- Т.6, №3. – С. 39-42.
14. Бочков Н.П., Алексеев А.В., Балаева Л.С. Генетические последствия челябинских и чернобыльских радиоактивных загрязнений // Вестн РАМН.-1996.-№6.- С.64-72.
15. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. М.: Медицина.-1989.- 272с.
16. Браун А.Д., Моженюк Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы.-Л.: Наука, 1987.-231 с.
17. Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Жижина Г.П. й др. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах. // Радиационная биология. Радиоэкология.-1999.- Т. 39, № 1.-С. 26 - 34.
18. Бурназян Р.А., Оганесян М.Н., Бурштейн Г.Е. Биохимические показатели спермы при хронических воспалительных заболеваниях придаточных половых желёз // Урология и нефрология. – 1992. - №4-6. – С. 36-38.
19. Быков В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века: Обзор // Пробл. репродукции. – 2000. – №1. – С. 6-13.
20. В.А. Барабой механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии.-1991.-Т.111.-вып.6.-С.923-930

21. Верещако Г.Г., Ходовская А.М., Конопля Е.Ф. Влияние внутриутробного облучения на морфофункциональное семенников у потомства крыс // Радиационная биология. Радиозэкология. – 1998. – Вып.4. – С. 483-487.
22. Витаминный статус и сперматогенез крыс в поздние сроки после облучения разными дозами / Евдокимов В.В., Коденцова В.М., Курило Л.Ф. и др. // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1999 - №7. – С. 42-44.
23. Владимирова Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран // Биофизика.-1987.-Т.32, вып 5.-С.830-844
24. Владимирова Ю.А., Арчаков А.И., Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.-М.: Наука, 1972.-252 с.
25. Влияние внешнего облучения различной интенсивности в дозе 1,0 Гр на содержание ДНК, РНК и общего белка в семенниках и печени крыс / Г.Г. Верещако, А.М. Ходосовская, И.В. Буловацкая, Е.Ф. Конопля // Радиационная биология. Радиозэкология. – 1999. – Т.39, №5. – С. 557-562.
26. Влияние гиперпролактинемии различного генеза на паракринные взаимоотношения в семенниках крыс / Волкова О.В., Сухоруков В.С., Скорова Н.Е. и др. // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1993. – Т.115, №1. – С. 75-77.
27. Влияние облучения на состояние сперматогенеза родителей и потомства / Л.Ф. Курило, В.В. Евдокимов, В.И. Ерасова, Л.В. Шилейко // Пробл. репродукции. – 2000. - №1. – С. 35-38.
28. Влияние однократного общего облучения крыс на репродуктивную систему и содержание витаминов в органах у потомства / Евдокимов В.В., Ерасова В.И., Кирпатовский В.И. и др. // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1998. - №12. – С. 652-654.
29. Влияние радиационного облучения на витаминный статус и сперматогенез крыс / Евдокимов В.В., Коденцова В.М., Вржесинская О.А. и др. // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1997. - №5. – С. 524-525.

30. Волкова Н.П., Ланкин В.З. Изменение активности антиокислительных ферментов в процессе сперматогенеза // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1984. - №11. – С. 546-548.
31. Воронов П.П., Хоха А.М. Этанолметаболизирующие ферменты семенников человека // Биохимия. – 1990. – Т.55, №8. – С. 1451-1460.
32. Воскресенский О.Н. Левицкий А.П. Перекиси липидов в живом организме // Вопр. мед. химии.- 1970.-Т.16.-№6.-С.563-583
33. Вундер П.А., Муратов А. Н. Ранние изменения проницаемости клеточных и лизосомальных мембран в семенниках крыс после локального обогрева мошонки // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1984. - №11. – С. 608-609.
34. Габаева Н.С. О строении и функциях фолликулярного эпителия семенников позвоночных // Современные проблемы сперматогенеза. – М., 1982. – С. 108-124.
35. Гладкова А.И. Влияние пролактина на половое поведение крыс-самцов // Физиологический журн. – 1986. – Т.32, №3. – С. 309-314.
36. Гладкова А.И., Карпенко Н.А., Золотухина В.Н. Динамика полового поведения крыс после облучения // Актуальные проблемы ликвидации медицинских последствий на Чернобыльской АЭС: Укр. науч.-пркт. конф.: Тез. докл. – К., 1992. – С. 55.
37. Горбов В. Г. Состояние репродуктивной функции у мужчин, участвовавших в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Пробл. радиац. медицины: Респ. межв.сб.- К., 1991.- Вып.3.- С.14-17
38. Горизонтов П.Г. Гомеостаз .-М.: Медицина, 1976.- 464с.
39. Горпинченко И.И. Состояние половых функций у мужчин, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в результате аварии на Чернобыльской АЭС // Врачеб. Дело. – 1992. №5. – С. 23-28.
40. Грабиненко Е.В. Микроциркуляторное русло мужских половых желёз в норме и патологии: Дис. ... канд. мед. наук // Алтайский государственный медицинский университет (АГМУ). – 1999. – 157с.

41. Груздева К. Н., Высокогорский В. Е., Купор В. Г. Ферменты окисления этанола и его метаболитов при острой алкогольной интоксикации и иммобилизационном стрессе // Вопр. наркологии. - 1991. - № 4. - С. 2 - 4.
42. Гусев В.А. Панченко Л.Ф. Супероксидный радикал и супероксиддисмутаза в свободнорадикальной теории старения (обзор) // Вопр. мед. химии.- 1982.-№4.-С.8-25
43. Давыдова А.И. Гематотестиккулярный барьер в норме и при экспериментальных воздействиях: Автореф. канд. дис. М. 1972.- 20 с.
44. Данилова Л.В. Сперматогонии, спермациты, сперматиды // Современные проблемы сперматогенеза. – М. : Наука, 1982. – С. 25-72.
45. Джарбусынков Б.У. Мужское бесплодие. – Алма-Ата: Казахстан, 1991. – 200 с.
46. Дмитриев Л.Ф. Биохимические аспекты атерогенеза: роль антиоксидантов // Тер. арх. – 1995.-Т.67, №12.-С.73-77
47. Дорошкевич Н.А., Анцулевич С.Н., Виноградов В.В. Активация перекисного окисления липидов в коре надпочечников ионами металлов // Укр. биохим. журн.-1998.-№5.-С.87-90.
48. Евдокимов В.В., Аточина Е.Н., Сахаров Н.Ю. Изменения уровня активности ангиотензинпревращающего фермента в сперматозоидах пациентов с хроническим простатитом у участников ликвидации аварии на ЧАЭС // Биол. эксперим. биол. и медицины. – 1993. - ;6. – С. 620-622.
49. Запорожан В.М., Гоженко А.І., Савицький І.В. NO-залежні механізми стимуляції репродуктивної системи самців // Безплідність у чоловіків.– О.: Одес. держ. мед. ун-т, 2001. – С. 52-60.
50. Иванов Ю.В., Т.Л. Доброславская Цитологические исследования гонадотоксического действия комплекса веществ, мигрирующих из эмалированных изделий, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами // Гигиена и сан.-1979, №2.- С.19-24

51. Имшенецкая Л.П., Соколова М.Н., Туник Т.Н. Состояние сперматогенной и эндокринной функций гонад у мужчин с лучевой патологией // Респ. науч. конф. сексологов Украины: Тез. докл. – К., 1990. – С. 168-170.
52. Исследование сперматогенеза при местных поражениях семенных желез // Бегиашвили Т.В. Вопросы патофизиологии мужского бесплодия. – Тбилиси: Изд-во Тбил. Ун-та, 1990. – С. 55-65.
53. Исследование эякулята / Базарнова М.А., Евсеев Л.П., Пекус Е.П. и др. // Лаб. дело. – 1986. - №5. – С. 267-270.
54. Исследования в области сперматогенеза. Созревания и функций спермы // Бюл. ВОЗ. – 1989. - №3. – С. 103-104.
55. Имшенецька Л.П. Сперматогенез та його регуляція // Клінічна сексологія і андрологія. – К., 1996. – С. 12-20.
56. Клинико-морфологические аспекты аспермии / Имшинецкая Л.П., Юнда И.Д., Горпинченко И.И. и др. // Урология и нефрология. – 1991. - №4. – С. 58-60.
57. Ковалев Е.В. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на сперматогенез у мужчин // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 1990. - №5. – С. 33-36.
58. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и патологии (обзор) // Вопр. мед. Химии .-1985.-№5.-С.2-7
59. Козлов Г.И., Калинин С.Ю., Слонимский Б.Ю. Нарушение сперматогенеза у больных транссексуализмом // Пробл. эндокринологии. – 1994. – Т.40, №3. – С. 28-29.
60. Конопля Е.Ф., Верещако Г.Г., Ходосовская А.М., Рыбаков В.Н. Морфофункциональное состояние репродуктивной системы крыс-самцов после хронического низкоинтенсивного облучения в дозе 1,0 Гр // Радиационная биология. Радиоэкология.-2002.- Т.42, №2.-С.136-140.
61. Коноплянникова О.А., Лебедева Т.В. Радиосенсибилизирующий эффект гипертермии для стволовых клеток сперматогенного эпителия //

- Гипертермия в онкологии: Всесоюзный симпозиум с международным участием Тез. докл. – Обниск, 1990. – С. 44-45.
62. Костомарова А.А., Князева Е.Ф. Транскрипция и трансляция в сперматогенезе // Современные проблемы сперматогенеза. – М., 1982. – С. 160-183.
63. Кошкина Е.А. Проблема алкоголизма и наркомании в России на современном этапе. // Вопросы наркологии, 1993, N 4, М., 66-70.
64. Кругликов Р.И., Майзелис М.Я. Алкоголизм и потомство. М., "Наука", 1987. -267 с.
65. Кудрицкий Ю.К. Влияние малых доз ионизирующего излучения на функцию воспроизводства (научный обзор). М.: Всесоюзн. НИИ медицинской и медико-технической информации. 1982, 72 с.
66. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Структура, свойства, биологическая регуляция глутатионпероксидазы // Успехи совр. биологии.-1993.-Т .113. Вып . 1.-С . 107–121.
67. Кунц Э., Гндерманн К.Й., Шнайдер Э. «Эсенциальные» фосфолипиды в гепатологии (экспериментальный и клинический опыт) // Тер. арх.-1994.- №2.-С.66-72
68. Курило Л.Ф., Евдокимов В.В., Ерасова В.И., Шилейко Л.В. Влияние облучения на состояние сперматогенеза родителей и потомства // Пробл. репродукции.-2000.-№1.- С.35-38.
69. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте // И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк .-К.: Вища школа, 1983.-383 с.
70. Ланкин В.З., Вандышев Д.Б., Тихазе А.К. и др.-Докл.АН СССР, 1981, т.259, №1, С. 229
71. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Ковалевская А.Л. и др.-Докл.АН СССР, 1981, т.261, №6, С. 1467.
72. Лепехин. Н.П., Польша Г.Ф. Последствия для внутриутробного развития потомства облучения половых клеток самцов на разных стадиях

- сперматогенеза // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1994. – Т.34, №4-5. – С. 645-649.
73. Литвинова Л.Б., Федорченко Т.В. Фертильність щурів, яких опромінювали на різних стадіях сперматогенезу, та ембріогенез їх нащадків // Укр. радіол. журн. – 1994. - №2. – С. 112-114.
74. Любченко П.Н., Абылаев Ж.И., Орджоникидзе Э.К. Воздействие опасных и вредных экологических факторов на эндокринную систему. В. кн.: Воздействие на организм человека опасных и вредных экологических факторов. М., Изд-во ПАИМС, 1997, Т1.- С.193-215.
75. Люлько А.А. Данные морфометрии тканей семенников крыс после воздействия ионизирующего облучения // Актуальные аспекты диагностики и лечения больных с сексуальными расстройствами и андрологическими заболеваниями: Тез. V межобл. науч.-практ. конф. – Новомосковск, 1991. – С. 92-93.
76. Лягинская А.М., Осипов В.А., Дементьев С.И. Кинетика обмена и закономерности формирования поглощённых доз в семенниках мыши от инкорпорированного ^{137}Cs // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1998. – Вып.1. – С. 27-29.
77. М.М. Борисович, Т.П. Муфазалова, С.Е. Меткалова Экспериментальная оценка пристрастия к алкоголю // Хим-фармац. Журн. – 1978.-Т.12.-№12. – С. 84-86.
78. Маерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. -М.: Медицина, 1984.-270 с.
79. Мамина В.П. Значение гонадотропных и состояние тироид – адреналовой системы в реакции семенников на облучение // Пробл. репродукции. – 2001. №5. – С. 27-29.
80. Маргітич В.М. Роль порушень фосфоліпідного складу сперми у патогенезі чоловічої неплідності // Журн. АМН України. – 2000. – Т.6, №3. – С. 582-586.
81. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика. -М.: Наука, 1981.- 278 с.

82. Меерсон Ф.З. Антиоксидантные факторы организма как система естественной профилактики стрессорных повреждений // Физиология адаптационных процессов.-М.: Наука, 1986.-С.607-619
83. Микроскопическая техника / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова.-М.: Медицина, 1996.-544 с.
84. Молодые люди и алкоголь, наркотики и табак. // Региональные публикации ВОЗ29. Европейская серия. 2000. № 66. С.2–27.
85. Москалев Ю.И. Отдалённые последствия ионизирующего облучения. – М.: Медицина, 1991. – 464 с.
86. Неймарк А.И., Алиез Р.Т. Значение исследования энзимов спермальной плазмы в патогенезе относительного мужского бесплодия // Урология. – 200. - №3. – С. 34-37.
87. Нефёдов И.Ю. Закономерности реализации лучевых эффектов в онтогенезе потомства первого поколения крыс линии Вистар после облучения половых клеток обоих родителей на различных стадиях гаметогенеза // Радиационная биология. Радиационная экология. – 1995. – Т.35, вып.3. – С. 381-387.
88. Нефёдов И.Ю., Палыга Г.Ф., Нефёдова И.Ю. Некоторые методологические аспекты экспериментального моделирования и оценки наследственности последствий облучения одного и обоих родителей // Радиационная биология. Радиационная экология. – 1996. Т.36, вып.6. – С. 912-920.
89. Нефёдов И.Ю., Палыга Г.Ф., Нефёдова И.Ю. Особенности онтогенеза потомства обоих облучённых родителей // Радиационная биология. Радиационная экология. – 1995. Т.35, вып.3. – С. 370-374.
90. Николаев А.А. Биохимическое иммунохимическое изучение белков семенной плазмы человека: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук. – Астрахань, 1994.
91. О.Г. Резніков Механізми розвитку функціональної патології репродукції та адаптації в ранньому онтогенезі // Журнал АМН України.-1998. Т.4. №2.- С.216-233

92. О.І Мінко, І.В. Лінський, З.М. Болотова. Деякі епідеміологічні параметри вживання алкоголю та наркотиків в Україні // Матеріали пленуму науково-практичного товариства неврологів, психіатрів та наркологів України. - Тернопіль.-2001.- С. 555-559
93. Общая сперматология. – Будапешт: Изд-во Акад. наук. Венгрии, 1969. – 294 с.
94. Петрович Ю.А. Гуткин Д.В. Свободно-радикальное окисление и роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Пат. Физиол.-1986.-36.-С.30-33
95. Пішак В.П., Гоженко А.І., Роговий Ю.Є. Тубуло-інтерстиційний синдром. Чернівці: Медакадемія, 2002.-221 с.
96. Пожидаев Е.А. Эпителий извитых семенных канальцев // Ар жив анатомии, гистологии и эмбриологии.-1982.-Т.42.-№3.-С. 101-113
97. Показники спермограми чоловіків, які проживали в районах різної віддаленості від ЧАЕС / Горпинченко І.І., Бойко М.І. Свенсон Р.Д. та ін. // Урологія. – 1999. - №4. – С. 68-74.
98. Померанцева М.Д. Рамайя Л.К. Радиочувствительность семенников новорожденных мышей // Действие ионизирующих излучений на растительные и животные организмы.-М.: Наука, 1965.-С.192-199.
99. Померанцева М.Д. Сравнительное изучение частоты реципрокных транслокаций в сперматозоидах при облучении новорождённых и взрослых мышей // Генетика. – 1978. - №3. – С. 548-550.
100. Практикум по эмбриологии / Под ред. Ивановой. – Казас О.М.-Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1986.-232 с.
101. Проблема биологии развития / С.С. Райцина, Л.В. Данилова, Е.С. Габер, Ж.П. Петросян // Сперматогенез и его реляция. – М., 1983. – С. 3-157.
102. Производные природных аминокислот в роли радиопротекторов (обзор) / Казарян С.А., Григорян К.П., Айрапетян С.Н. и др. // Хим. – фарм. журн. – 1995. – Т.29, №7. – С. 11-15.

103. Процаков К.В. Вплив іонізуючої радіації на статеві функції людини // Клінічна сексологія і андрологія. – К., 1996. – С. 122-138.
104. Радиация. Дозы, эффекты, риск. – М.: Мир, 1988. – 79 с.
105. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. – М.: Наука, 1985. – 206 с.
106. Райцина С.С. Цикл сперматогенного эпителия и кинетика сперматогенеза у млекопитающих // Современные проблемы сперматогенеза. – М., 1982. – С. 73-101.
107. Репродуктивное нездоровье (досье Cursor Medicus) // Мед. курьер. – 1997. - №2. – С. 13.
108. Рождественский Л.М, Концепция биологического действия ионизирующей радиации низкого уровня (анализ проблемы в аспектах пороговости эффектов и радиочувствительности / радиореактивности биоструктур различного уровня организации). //Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39, № 1, с. 127-144.
109. Роль персистирующей микрофлоры в формировании патоспермии / М.Д. Кузьмин, Ю.Б.Иванов, Е.А. Михайлова, О.В. Бухарин // Урология и нефрология 1998. - №2. – С. 46-48.
110. Рузен-Ранге Э. Сперматогенез у животных / Под ред. В.А. Струнникова. – М.: Мир; 1980. – 255 с.
111. Рыжаков Д.Н. Функциональные морфологические исследования половой системы самцов белых крыс с использованием метода электроэякуляции // Известие АН СССР.-Сер.биол.-1980, №1. С.133-136.
112. Смаглий Н.Ю. Биохимические свойства спермиев человека в норме и при патологии // Актуальные вопросы физиологии и патологии репродуктивной функции женщин.- Харьков .- 1989. – С. 67-69.
113. Состояние репродуктивной функции у мужчин участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС / Гончаров Н.П., Кацяя Г.В., Колесникова Г.С. и др. // Пробл. эндокринологии. – 1998. - №4. – С. 25-28.

114. Состояние сперматогенеза у крыс при применении питьевой сульфатной минеральной воды в раннем пострadiaционном периоде / Королев Ю.Н., Курило Л.Ф., Никулина Л.А. и др. // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. – 1999. - №5. – С. 29-31.
115. Сперматогенез и его регуляция / Габер Е.С., Данилова Л.В., Князева Е.Ф. и др. М., 1983. – 232 с.
116. Степанов А.А. Аминокислотный спектр спермальной плазмы и значение этого фактора в бесплодном браке: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1971. – 24 с.
117. Стусь В.П. Влияние фракционного облучения на репродуктивную функцию семенников // Актуальные аспекты диагностики и лечения больных с сексуальными расстройствами и андрологическими заболеваниями: Тез. V межобл. науч.-практ. конф. – Новомосковск, 1991. – С. 91-92.
118. Сухоруков В.С., Шамшад Д.А. Определение степени зрелости сперматогенного пласта крысы при его регенерации и в процессе созревания интактного семенника // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1989. - №9. – С. 88-91.
119. Тарасов К.И. Спектральные приборы.-Л.: Машиностроение, 1977.-367с.
120. Ткачёва Г.А., Балаболкин М.И., Ларичева И.П. Радиоимунологические методы исследования. – М.: Медицина, 1983. – 191 с.
121. Устинкина Т.И. Состояние половых и соматических клеток яичек при первичном гипогонадизме у мужчин // Пробл. эндокринологии. – 1999. – Т.45, №4. – С. 28-30.
122. Ушкодження ліпідів сперматозоїдів як важливий фактор патогенезу неплідності у чоловіків з олігозооспермією / Маргітич В.М., Гула Н.М., Горпинченко І.І. та ін. // Урологія. – 2001. №1. – С. 44-50.
123. Фармакологічні властивості аргініну та його роль у корекції дисфункцій чоловічої репродуктивної системи / Запорожан В.М., Гоженко

- А.І., Савицький І.В. // NO-залежні механізми стимуляції репродуктивної системи самців. – О.: Одес. держ. мед. ун-т, 2001. – С. 69-75.
124. Фертильность мужчин, перенесших воспалительные заболевания органов мошонки / Л.Н. Волкова, А.В. Прохоренко, О.С. Лысые, С.В. Беленький. Актуальные аспекты диагностики и лечения больных с сексуальными расстройствами и андрологическими заболеваниями: Тез. V Межобл. науч. конф. – Новомосковск, 1991. – С. 58-59.
125. Хван П.А. Структурно-функциональное состояние гонад крыс при воздействии свинецсодержащей пыли // 2 Всес. конф. «Эндокринные системы и органы и вредные факторы внешней среды». -Л.: -1983.- С. 163.
126. Чебураков Ю.Ю., Чебуракова О.П. Нарушение сперматогенеза у лиц, участвовавших в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1993. – Т.33, вып.3(6). – С. 771-773.
127. Adnan M. Effect of arginine on oligospermia // Fertil and Steril. - 1970. - V. 21, №3. – P. 217-219.
128. Adams M.L., Little P.J., Alcohol affects rat testicular interstitial fluid volume and testicular secretion of testosterone and β -endorphin // J Pharmacol Exp Ther.- 1991.- Vol. 258.- P. 1008-1014
129. Aitken R.J. The cell biology of defective sperm function // Cell. Biol.: Int. Repts. 3rd. Eur. Congr. Cell Biol., 2-7 Sept., 1990, Firenze, Italy. – London etc., 1990. – P.33.
130. Anderson RA., Willis B.R., Oswald C. Ethanol-induced male infertility: Impairment of spermatozoa. // J Pharmacol Exp Ther.- 1983.- Vol. 225.-P. 479-486
131. Auger F., Kunstmann J.M., Czyglik F. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years // N. Engl. J. Med. – 1995. – Vol.332, №5. – P. 281-285.
132. Auger, J., Eustache, F., Ducot, B. Intra- and inter-individual variability in human sperm concentration motility and vitality assessment during a workshop involving 10 laboratories // Hum. Reprod.-2000.Vol.15.- P. 2360–2368

133. Bansal M.R., Kaul A., Nehru B. Testicular proteins, nuclear acids and their synthesis following gamma irradiation // *Life Sci.* – 1989. V.45., №24. – P. 2351-2358.
134. Descamps-Latscha B., Khoa Th.N. Oxidative stress and cardiovascular disease in end-state renal failure .- New York: Oxford university Pres, 2000.- P.245-271
135. Dym M. The fine structure of the monkey (*Macaca*) Sertoli cell and its role in maintaining the blood – testis barrier // *Anat. Rec.*-1973.- Vol. 175.- №4.-P. 639-656
136. Dym M., Don., Fawcett D. The blood-testis barrier in the rat and physiological compartmentation of the seminiferous epithelium // *Biol. Reprod.* -1970.- №3.- P.308-326
137. Escalier D. Impact of genetic engineering on the understanding of spermatogenesis: Rev. // *Human reproduction update.* – 2001. - Vol.7,№2. P. 191-210.
138. Evidence of decreasing quality of semen during the part 50 years / Carlsen E., Giwermann A., N. Keiding, N.e. Skakkeback // *Br. Med. J.* - 1992. – Vol.305. – P. 609-613.
139. Foster W.G. The reproductive toxicology of Great Lakes contaminants.- *Environ.-Health Perspect.*-1995.-Vol.103.-suppl. 9.-P.63-69
140. Freud A., Canfi A. Neonatal low-dose gamma irradiation-induced impaired fertility in mature rats // *Isr.j.Med.Sci.*-1990.-Vol.26.-№11.-P.611-615
141. Georgelis A., Tsiridotis M., Rydstrom J. Generation of super-oxide anion and lipid peroxidation in different cell types and subcellular fractions from rat testis // *Toxical. And Appl. Pharmacol.* – 1988. – V. 94, №3. – P. 362-373.
142. Girardin E., Noizet A. Hormonal treatments for normogonadotrophic oligoasthenospermia: a critical point of viw // *J. Endocrinol.* – 1993. – Vol.137, Suppl. – P. 150.

143. Gomathi C. Balasubramanian K. Vijayabanu N. Effects of chronic alcoholism on semen studies on lipid profiles // *Int J Androl.*- 1993/- Vol. 16.- P. 175-181
144. Gothami Z., Samani M. Ultrastructure sperm defects in addicts // *Fertile Steril.*-1992.-Vol.57.-P.699-702
145. Gunalp T. A study of semen parameters With emphasis on sperm morphology in a fertile population: an attempt to develop clinical thresholds // *Human Reproduction.* – 2001. – Vol.16, №1. – P.110-114.
146. Halangk W., Bohnensack R., Frank K., Kunz W. Effect of various substrates on mitochondrial and cellular energy state of intact spermatozoa // *Biomed. Biochim. Acta.* – 1985. – V.44, №3. – P. 411-420.
147. Halangk W., Dictz H. Capacities of oxidative metabolism in digitonintreated bovine epididymal spermatozoa // *biomed. Biochim. Acta.* – 1986. – V.45, №10. – P. 1249-1257.
148. Hammond A.L., Rodenburg E. and Moomaw W. Accontability in the Greenhouse. *Nature*, 1990, v.347, № 6295, p. 705-706
149. Hu H., Besser M. Atmospheric variation, noise vibration // *Occupational environmental reproductive hazards.*-Baltimore, Williams and Wilkins pres, 1993.-P.218-232
150. Inano H.,Suzuki K., Ishii-Ohba H. Steroid hormone production in testis, ovary, and adrenal gland of immature rats irradiated in uteri with ^{60}Co // *Radiat. Res.*-1989.-Vol.177.-№2.-P.293-303.
151. Irvine S. Is human testis still an organ at risk / *Br. Med J.*.-1996.-Vol.312.- P.1577-1578.
152. Joffe M. Disorders of spermatogenesis in Finland. Is this a period effect, and if so, why / *Br Med J.*- 1997.-Vol.314.- P.1042-1043.
153. Johanisson E., Campana A., Luthi, R.A. De Agostini Evaluation of “round cells” in semen analyses: a comparative study // *Human reproduction update.* – 2000. – Vol.6, №4. – P. 404-412.

154. Koppeschaar H.P.F., Horn C.D., Tijssen J.H. Differential effects of arginine on growth hormone releasing hormone and insulin induced growth hormone secretion // *Clin. endocrinol.* – 1992. – V.36, №5. – P. 487-490.
155. Maureen P. Videodisplay terminals // *Occupational environmental reproductive hazards.*-Baltimore, Williams and Wilkins pres, 1993.-P.190-200
156. Ogivy-Syuact A.L., Shalet S.M. Effect of radiation on the human reproductive system // *Environ. Health. Perspect.* – 1993. – Vol.101, Suppl.2. – P. 109-116.
157. Pinholster G. The spectrum of infection. *Environm. Health Perspect.*, 1996, v.104, №7, p. 694-699
158. Popescu H.J., Lancranpan J. Spermatogenesis alteration during protracted irradiation in man // *Health. Phys.* – 1975. – Vol.28,№5. – P. 567-573.
159. Potts R.J., Newbury C.J. Sperm chromatin damage associated with male smoking // *Mut Res.*-1999.-Vol.423.-P.103-111
160. Rao D.N., Yang M.X., Lasker J.M. 1-Hydroxyethyl radical formation during NADPH- and NADH-dependent oxidation of ethanol by human liver microsomes. *Mol. Pharmacol.*- 1996.- Vol. 49.- P. 814–821.
161. Rashba-Step,J., Turro,N.J. and Cederbaum,A.I. Increased NADPH- and NADH-dependent production of superoxide and hydroxyl radical by microsomes after chronic ethanol treatment. *Arch. Biochem. Biophys.*- 1993.- Vol. 30, P. 401–408
162. Rubes J., Lowe X., Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men // *Fertil Steril.*-1998.-Vol.70.-P.715-723
163. Saaranen M., Suistoma U., kautola M. Lead, magnesium, selenium and in zinc in human seminal fluid // *Hum. Reprod.*-1987.-Vol.2.-№3.-H.475-479
164. Salonen I., Eriksson C.J. Penetration of ethanol into the male reproductive tract // *Alcohol Clin Exp Res.*- 1989.- Vol.13.- P.746-751
165. Schwaczstein J. HMG in the treatment of oligospermic patients // *Male Fertility and Sterility* (eds. Mancini R.E.). – London, Academic Press, 1974. – P. 567-571.

166. Shalet S.M. Effect of irradiation treatment on gonadal function in men treated for germ cell cancer // *Eur Urol.*-1993.-Vol.23.- P.148-151
167. Shcrader M., Kesner J.S., Male reproductive toxicology // *Occupational environmental reproductive hazards.*-Baltimore, Williams and Wilkins pres, 1993.-P.3-17
168. Skakkebaek N.E., Keiding N. Changes in semen and the testis // *Brit. Med. J.* - 1-94. – Vol.309, №6965. – P. 1316-1317.
169. Starc G. The effect of ionizing radiation on lipid membranes // *Biochim. et biophys. acta. Rev. Biomembranes.* – 1991. – V.1071, №2. – P. 103-122.
170. Stark K.-H., Bernt W.D. Der Spermien neue andrologis cell untersuchungsmethode // *Zbl. Gynak.* – 1987. Bd. 109, №18. – S. 1149-1154.
171. The effect of dietary vitamin E and B-carotene on oxidation processes in the rat testis / Lomnitski L., Bergman M., Shon I., Grossman S. // *Biochim. et biophys acta. Lipids and lipid metab.* – 1991. – V 1082, №1. – P. 101-107.
172. The role of kinin system in male fertility / A. Gesce., A. Ottlecsz, Gy. Telegdy, L. Torok // *Curr. Conc. Kinin Res. Proc.: Statell. Symp. 7th int. Congr. Pharmacol., Paris, 1978. – Oxford e.a., 1979. – P. 15 – 23.*
173. Voutilainen R. Differentiation of the fetal gonad: Rev. // *Hormone Research.* – 1992. – Vol.38, Suppl.2. – P. 66-71.
174. Waters B.L., Trainer T.D. Development of the human fetal testis // *Ped. Path. Lab. Med.* – 1996. – Vol.16. – P. 9-23.