

УДК 616-001.18:612.176:537.862:612.6

**І.В. Завгородній,  
Р.О. Бачинський,  
Д.П. Перцев,  
О.Л. Литовченко,  
Н.І. Горголь**

## СПОЛУЧЕНА ДІЯ ХІМІЧНИХ ТА ФІЗИЧНИХ ЧИННИКІВ НА РЕПРОДУКТИВНУ СИСТЕМУ ЩУРІВ В УМОВАХ ХОЛОДОВОГО СТРЕСУ

*Харківський національний медичний університет  
пр. Науки, 4, Харків, 61022, Україна  
Kharkiv National Medical University  
Av. Nauky, 4, Kharkiv, 61022, Ukraine  
e-mail: hygiene-ecology2@ukr.net*

**Ключові слова:** репродуктивна система, нітробензол, метилтретбутиловий ефір, електромагнітне випромінювання, холодний стрес, гонадотоксична дія, сполучена дія  
**Key words:** reproductive system, nitrobenzol, methyl tertiary butyl ether, electromagnetic radiation, cold stress, gonadotoxic action, mixed impact

**Реферат.** Сочетанное действие химических и физических факторов на репродуктивную систему крыс в условиях холодного стресса. Завгородний И.В., Бачинский Р.О., Перцев Д.П., Литовченко Е.Л., Горголь Н.И. Приведены результаты экспериментальных исследований по изучению особенностей гонадотоксического действия НБ, МТБЭ и ЭМИ в условиях холодного стресса, а также в условиях температурного комфорта. Исследования проводились на лабораторных животных, при 30-кратном введении НБ или МТБЭ в желудок в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub> и экспозицией животных в двух различных термических режимах по 4 часа в день 5 раз в неделю. Влияние ЭМИ моделировалось при частоте 70 кГц с напряжением 600 В/м. Особенности гонадотоксического действия НБ и МТБЭ изучали по показателям функционального состояния сперматозоидов, проводили общий гистологический анализ тканей семенника, дополняя его морфометрическими показателями. Анализ результатов экспериментальных исследований свидетельствует о том, что морфофункциональные изменения репродуктивной системы лабораторных животных при воздействии химических факторов (НБ и МТБЭ), физических факторов (ЭМИ) в двух различных термических режимах имеют аналогичный характер при условии, что при сочетании указанных факторов и пониженной температуры имеет место усиление гонадотоксического эффекта.

**Abstract.** The mixed impact of chemical and physical factors on reproductive system of rats in conditions of cold stress. Zavgorodnii I.V., Bachinskyi R.O., Pertsev D.P., Litovchenko O.L., Gorgol N.I. The results of experimental investigations on studying features of gonadotoxic effect of nitrobenzene (NB), methyl tertiary butyl ether (MTBE) and electromagnetic radiation (EMR) both in conditions of cold stress and in conditions of thermal acceptability are given. The investigations were carried out on laboratory animals, in 30-fold intragastric administration of NB or MTBE in a dose of 1/10 LD<sub>50</sub> and exposition of animals in two different thermal regimens – 4 hours a day, 5 times a week. Effect of EMR was simulated in 70 kHz frequency, 600 V/m voltage. The features of gonadotoxic effect of NB and MTBE were studied by the indices of spermatozoa functional state, general histological analysis of the state of testicle tissues, supplemented with morphometric values, was carried out. The analysis of results of experimental research proves that morpho-functional changes of reproductive system in laboratory animals during the influence of chemical factors (NB and MTBE), physical factors (EMR) in two different thermal regimens are similar provided that there is the increase of gonadotoxic effect in mixed effect of mentioned factors and decreased temperature.

Викликані антропогенним впливом зміни фізичних і хімічних параметрів місця існування, адаптація до яких не була вироблена в процесі еволюції, становлять реальну загрозу здоров'ю, яке виявилось значною мірою залежним від стану довкілля. Слід особливо виокремити наслідки несприятливої дії середовища на репродуктивну систему, оскільки порушення репродуктивної функції стосуються не лише здоров'я існуючих, але й майбутніх поколінь [2, 4].

Пріоритетним з точки зору масштабності можливих негативних наслідків слід визнати

сполучену дію хімічних та фізичних чинників. До таких сполучень, зокрема, належить одночасна дія хімічних сполук, електромагнітного випромінювання (ЕМВ) в умовах холодного стресу.

Серед хімічних токсичних речовин, які широко використовуються в різних галузях народного господарства і в побуті, є нітробензол (НБ) та метилтретбутиловий ефір (МТБЕ) [5, 7]. Автоматизація процесів сучасного виробництва призвела до наростання щільності ЕМВ, яке являє собою потужний ксенобіотичний фактор і

може несприятливо впливати на репродуктивну систему [3, 4]. Така сполучена дія несприятливих хімічних та фізичних виробничих чинників у холодний період року, при роботах на відкритих площадках, у географічних регіонах з холодним кліматом нерідко супроводжується впливом позитивних низьких температур, які в організмі викликають реакцію на холодний стрес.

Саме тому вивчення механізмів одночасної дії хімічних сполук та фізичних чинників на організм в умовах холодного стресу є актуальною проблемою сучасної медицини.

У зв'язку з вищезазначеним були проведені експериментальні дослідження, метою яких було вивчення особливостей токсичної дії НБ та МТБЕ на репродуктивну функцію лабораторних тварин, при впливі ЕМВ в умовах холодного стресу.

#### **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Дослідження проводили в умовах підгострого експерименту (1 міс. затравочного періоду) на лабораторних тваринах (статевозрілих щурах-самцях лінії WAG), яких утримували відповідно до санітарних правил. Досліди проводили з дотриманням правил Європейської конвенції про захист тварин [6].

Тварин було розподілено на 4 групи по 6 тварин у кожній.

Перша група піддавалася сполученій дії або хімічного чинника (НБ чи МТБЕ), або фізичного чинника (ЕМВ) і зниженої температури повітря  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  (тварини в умовах холодного стресу). Друга група тварин піддавалася ізольованій дії тільки зниженої температури  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ , тобто була контролем щодо тварин першої групи. Тварини третьої групи піддавалися дії або НБ, або МТБЕ, або ЕМВ при температурі повітря  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  (температура комфорту). Четверта група тварин служила контролем при комфортній температурі повітря  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Здійснювали 30-кратне введення речовин, що вивчалися, а саме: НБ або МТБЕ в шлунок у дозуванні  $1/10 \text{ LD}_{50}$  (70 мг/кг для НБ, 500 мг/кг для МТБЕ). Експозиції проводили по 4 години на день 5 разів на тиждень. Вплив ЕМВ моделювався при частоті 70 кГц за напруги 600 В/м.

Особливості сполученої дії НБ, МТБЕ, ЕМВ та зниженої температури  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  на репродуктивну функцію вивчали за показниками:

- функціонального стану сперматозоїдів за коефіцієнтом маси сім'яників, загальною кількістю сперматозоїдів у сім'янику, часом рухливості сперматозоїдів, мертвими та патологічними формами сперматозоїдів, осмотичною та кислотною резистентністю сперматозоїдів із використанням загальноприйнятих методів [1];

- морфологічного стану сім'яників за морфометричними показниками (кількість каналців із злуценом сім'яродним епітелієм, індекс сперматогенезу, сумарна кількість нормальних сперматогоній у першому ряду клітин на базальній мембрані каналця (число сперматогоній), площа ядер клітин Лейдига).

Отримані дані опрацьовано загальноприйнятими методами статистики (середня, помилка середньої, критерій вірогідності Фішера-Стьюдента).

#### **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

При макроскопічному обстеженні сім'яників щурів, що зазнавали впливу НБ як в умовах холодного стресу, так і в умовах температурного оптимуму, зареєстровано суттєві зміни: сім'яники значно зменшеного розміру, мають жовте забарвлення різного ступеня інтенсивності, на поверхні простежується значна ін'єкція судин, судинний малюнок різко виражений.

Результати проведених досліджень функціонального стану сперматозоїдів при дії НБ у двох різних температурних режимах свідчить про те, що у тварин, які зазнавали дії НБ як в умовах температурного оптимуму, так і в умовах холодного стресу, було зареєстровано суттєві зміни, що мали аналогічний характер, але певною мірою відрізнялися залежно від температурних умов. Так, коефіцієнти маси сім'яників при дії НБ у сполученні зі зниженою температурою були у 3,2 разу меншими від контролю, тоді як в умовах температурного оптимуму НБ спричиняв до зменшення цього показника лише в 1,8 разу. Кількість мертвих форм сперматозоїдів становила 85,47%, патологічних форм 87% при дії НБ в умовах холодного стресу, в умовах температурного оптимуму – 64,2% і 43,8% відповідно, порівняно з контролем; час рухливості сперматозоїдів 9,8 і 51,5 хвилини відповідно.

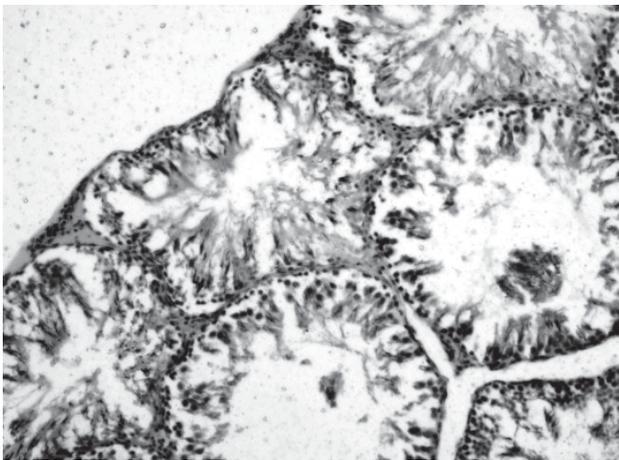
Таким чином, аналіз показників функціонального стану сперматозоїдів свідчить про те, що дія НБ на організм щурів-самців, які перебували в умовах холодного стресу, проявлялася підвищеною чутливістю чоловічих гонад, а саме: зменшенням коефіцієнту маси сім'яників та загальної кількості сперматозоїдів, зростанням кількості мертвих та патологічних форм, скороченням часу рухливості сперматозоїдів.

Аналіз морфометричних показників сім'яників тварин, що піддавалися дії НБ в умовах підгострого токсикологічного експерименту в обох температурних режимах, довів, що при дії НБ в умовах холодного стресу спостерігається

більш значне зменшення кількості сперматогоній у каналці –  $7,3 \pm 0,5$  проти  $28,9 \pm 5,4$  при дії НБ в умовах температурного комфорту; гальмування розвитку сперми – індекс сперматогенезу у тварин, що піддавалися дії НБ в умовах холододового стресу, становить  $0,2 \pm 0,04$  проти  $0,5 \pm 0,06$  при дії НБ в умовах термонеutralної зони.

Таким чином, в умовах підгострого токсикологічного експерименту дія НБ у сполученні зі зниженою температурою призводить до більш значного зменшення кількості сперматогоній у каналці і гальмування розвитку сперми щурів.

Морфологічне дослідження сім'яників показало, що у тварин, які підлягали ізольованій дії НБ, шар сперматогенного епітелію стоншений, сперматогенні клітини і клітини Сертолі нечисленні. В аблюмінальній зоні виявляються



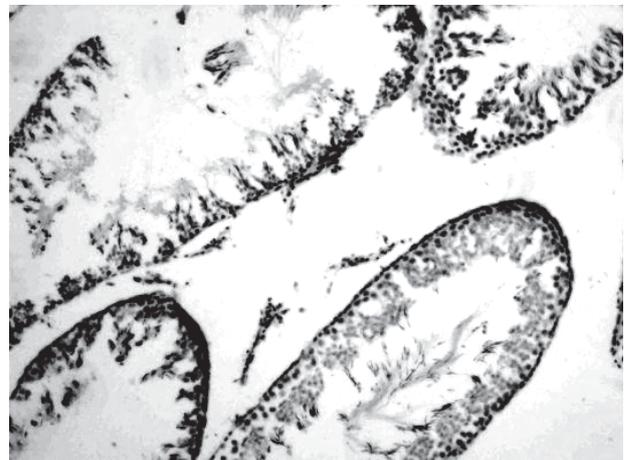
**Рис. 1.** Дія НБ в умовах температурного комфорту. Шар сперматогенного епітелію стоншений, в аблюмінальній зоні є одиничні сперматоцити, що діляться. Забарвлення за Ван Гізоном X 100

Під час дослідження функціонального стану сперматозоїдів тварин, що підлягали дії МТБЕ у двох термічних режимах, з'ясовано, що дія МТБЕ в умовах холододового стресу призводила до збільшення кількості мертвих форм сперматозоїдів до 38,4%, (в умовах температурного комфорту – 29,8%), зменшення часу рухливості сперматозоїдів:  $11,17 \pm 2,91$  с (в умовах температурного комфорту –  $29,40 \pm 4,93$  с). Кількість патологічних форм сперматозоїдів в обох дослідних групах становила 13%. Таким чином, у сполученні зі зниженою температурою дія МТБЕ спричиняє більш грубі порушення функціонального стану сперматозоїдів. Це стосується більш суттєвих змін таких показників, як час рухливості сперматозоїдів та кількість мертвих форм.

Морфометричні дослідження підтвердили, що більш несприятливою є дія МТБЕ в умовах

клітини, що діляться (сперматоцити, сперматиди, а також сперматозоїди). У міжканалцевої зоні виявляються ознаки набряку й повнокров'я судин, інтерстиціальні клітини нечисленні, дистрофічно змінені (рис. 1).

При морфологічному дослідженні сім'яників тварин, що зазнавали дії НБ в умовах сполученої дії зі зниженою температурою, тобто перебували в умовах холододового стресу, зустрічаються каналці з тотальним спустошенням і голою PAS-позитивною базальною мембраною. Лише в одному зі спостережень в аблюмінальній зоні знаходяться сперматоцити, що діляться, у стані дистрофії; сперматозоїди нерідко позбавлені джгутиків, мають гіперхромні пікнотичні й деформовані ядра (рис. 2).



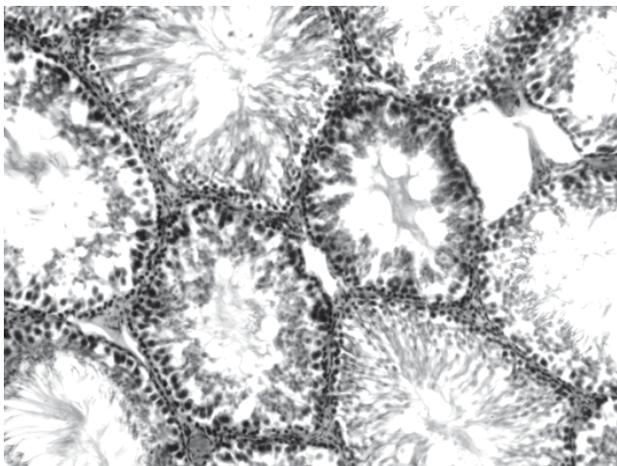
**Рис. 2.** Сполучена дія НБ зі зниженою температурою. Канальці з тотальним спустошенням і оголенням PAS-позитивної базальної мембрани PAS-реакція X 400

холододового стресу. Так, МТБЕ в умовах холододового стресу призводив до більш значних зрушень показників: збільшення кількості каналців з десквамованим епітелієм до 95%, порівняно з 36%, зменшення індексу сперматогенезу, кількості сперматогоній до  $30,05 \pm 3,54$  проти  $39,60 \pm 2,76$ , площі ядер клітин Лейдига.

Морфологічне дослідження сім'яників показало, що у тварин, які підлягали ізольованій токсичній дії МТБЕ, у сім'яниках епітеліо-сперматогенний шар широкий, представлений як стовбуровими, дозріваючими і такими, що формуються, статевими клітинами, так і сперматозоїдами. Сперматоцити, що діляться, у стані дистрофії (рис. 3).

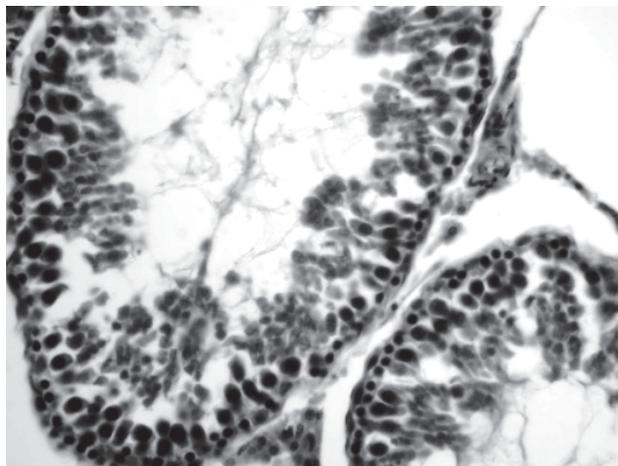
При морфологічному вивченні сім'яників тварин, що підлягали дії МТБЕ в умовах холододового стресу, у частині каналців сперматоцити й сперматозоїди в стані дистрофії або відсутні (рис. 4).

Морфологічні дослідження сім'яних залоз тварин при ізольованому впливі ЕМВ довели наявність каналців, сперматогенний епітелій яких представлений лише 1-2 рядами клітин. Вираженими були дегенеративні зміни в клі-



**Рис. 3.** Дія МТБЕ в умовах температурного комфорту. Сперматозоїди частини каналців позбавлені джгутиків. Сперматоцити, що діляться, у стані дистрофії. Забарвлення гематоксиліном та еозином X 200

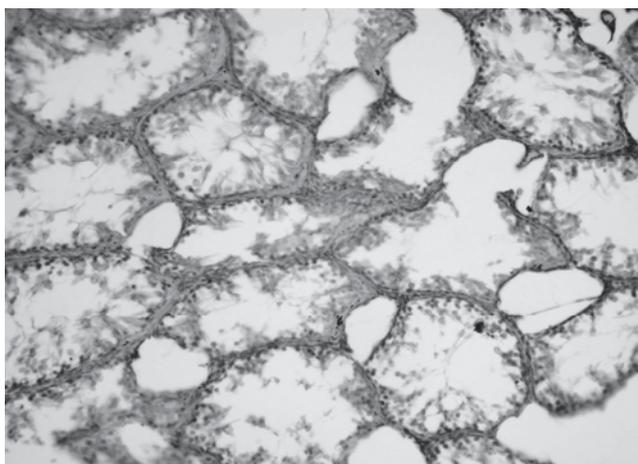
тинах сперматогенного епітелію або реєструвалася їх повна відсутність, що свідчить про зниження сім'яними залозами сперматогенної функції. Клітини Сертолі та Лейдига в цій групі не зазнали суттєвих змін (рис. 5).



**Рис. 4.** Сполучена дія МТБЕ зі зниженою температурою. У сім'яних каналцях відсутні сперматозоїди, а сперматоцити в стані дистрофії. Забарвлення гематоксиліном і еозином X 200

У щурів, що піддавалися сполученому впливу ЕМВ та зниженої температури повітря, у сім'яних залозах виявлено чіткі зміни гістологічної будови, які свідчать про втрату сперматогенної функції. Канальці зменшені в розмірах за рахунок збіднення сперматогенних клітин: не

визначалися сперматиди й сперматозоїди, іноді відсутні сперматоцити. У збережених клітинах відмічалися дистрофічні та некробіотичні зміни. Клітини Сертолі і Лейдига не зазнали видимих змін (рис. 6).



**Рис. 5.** Збіднення сім'яних каналців сперматогенними клітинами, виражені дегенеративні зміни сперматогенного епітелію. Ізольований вплив ЕМВ. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200



**Рис. 6.** Збіднення сім'яних каналців сперматогенними клітинами, у міжканальцевій стромі – набряк. ЕМВ у сполученні з холододим фактором. Забарвлення гематоксиліном та еозином. X 200

## ПІДСУМОК

Результати вивчення особливостей морфо-функціональних змін репродуктивної системи щурів при дії хімічних чинників (НБ і МТБЕ), фізичних чинників (ЕМВ) у сполученні зі зниженою температурою в підгострому експерименті свідчать про розвиток в організмі лабораторних тварин патогномонічних для ізольованої дії НБ, МТБЕ або ЕМВ зрушень за умови, що

при сполученій дії зазначених хімічних та фізичних чинників та зниженої температури має місце посилення гонадотоксичного ефекту. Зазначені ефекти потребують урахування при проведенні досліджень з гігієнічного нормування сполученого впливу несприятливих чинників, розроблення та впровадження заходів профілактики.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования: метод. указания / сост.: Саноцкий И.В., Фоменко В.Н., Сальникова Л.С. [и др.]. – Москва: НИИ ГТ и ПЗ АМН СССР, 1978. – 35 с.
2. Николаев А.А. Гонадотоксическое действие миллиметрового излучения / А.А. Николаев, М.Г. Кузнецова, В.Г. Сердюков. – Астрахань: АГМА, 2013. – 78 с.
3. Современное состояние исследований влияния электромагнитных излучений на организм человека / О.П. Чорний, В.В. Никифоров, Д.И. Родькин, В.Ю. Ноженко // Инженерні та освітні технології в електротехнічних і комп'ютерних системах. – Кременчук: КрНУ, 2013. – № 2 (2). – С. 112–124 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://eetecs.kdu.edu.ua>
4. Современные представления о механизмах стрессобусловленных изменениях активности сперма-

тогенеза / Т.А. Золотарёва, Б.А. Насибуллин, Н.А. Ярошенко, А. В. Змиевский // Мир медицины и биологии. – 2011. - № 4(7). – С. 134-136.

5. Яворовський О.П. Особливості умов праці та стану здоров'я робітників, зайнятих виготовленням та застосуванням метилтретбутилового ефіру на НПЗ України / О.П. Яворовський, Ю.О. Паустовський // Довкілля та здоров'я. – 2008. – № 3 (46). – С. 60-63.

6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. N 123. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

7. Mass spectrometric identification of hemoglobin modifications induced by nitrobenzene / F.Di Girolano, L. Campanella, R. Samperi, A. Bachi // Ecotoxicology Environmental Safety. – 2009. – Vol. 72, N 5. – P. 1601-1608.

## REFERENCES

1. Sanotckii IV, Fomenko VN, Salnikova LS. [Methods of experimental studies to establish thresholds of action of industrial poisons on the generative function for the purpose of hygienic regulation: Guidance]. NII GT i PZ AMN SSSR, Moskva, 1978;35. Russian.
2. Nikolaev AA, Kuznetcova MG, Serdiukov VG. [Gonadotoxic action of millimeter radiation]. Astrakhan, AGMA. 2013;78. Russian.
3. Chorniy OP, Nikiforov VV, Rodkin DI, Nozhenko VYu. [The current state of research on the influence of electromagnetic radiation on the human body]. Inzhenerni ta osviti tehnologiyi v elektrotehnichnih i komp'yuternih sistemah. 2013;2(2):112-4. Russian.
4. Zolotaryova TA, Nasibullin BA, Yaroshenko NA, Zmievskiy AV. [Modern understanding of the mecha-

nisms of stress caused by changes in the activity of spermatogenesis]. Mir meditsinyi i biologii. 2011;4(7):134-6. Russian.

5. Yavorovskiy OP, Paustovskiy IuO. [Features of working conditions and health of workers employed in manufacturing and application of metyl tret-butyl ether refineries Ukraine]. Dovkillia ta zdorov'ia. 2008;3(46):60-63. Ukrainian.

6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. Strasbourg, 1986;123:52.

7. Di Girolano F, Campanella L, Samperi R, Bachi A. [Mass spectrometric identification of hemoglobin modifications induced by nitrobenzene]. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2009;72(5):1601-8.

Стаття надійшла до редакції  
30.03.2016

