

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ШАТАЛІН Борис Олегович**

УДК 616.681/.69-073.7:615.916'175

РОЛЬ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ ТА АЗОТУ В  
МЕХАНІЗМАХ УШКОДЖЕННЯ СІМ'ЯНИКІВ І  
СПЕРМАТОЗОЇДІВ ПРИ ПОСІДНАНІЙ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ  
РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ ТА НІТРАТУ  
НАТРІЮ

14.03.04 – патологічна фізіологія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Суми – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України.

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор  
**Костенко Віталій Олександрович,**  
ВДНЗУ “Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України,  
завідувач кафедри патофізіології

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, доцент  
**Атаман Юрій Олександрович,**  
Сумський державний університет МОН України,  
доцент кафедри сімейної медицини

доктор медичних наук, професор  
**Звягінцева Тетяна Володимирівна,**  
ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова  
НАМН України», головний консультант-експерт відділу  
експериментальної нейрохірургії та клінічної фармакології

Захист відбудеться 30 червня 2017 р. о 13<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 55.051.05 при Сумському державному університеті (40001, м. Суми, вул. Петропавлівська, 57).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Сумського державного університету (40007, м. Суми, вул. Римського-Корсакова, 2).

Автореферат розісланий “ \_\_\_ ” травня 2017 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
кандидат медичних наук



О.С. Погорелова

## **ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Активні форми кисню та азоту (АФК / АФА) у сім'яниках і спермі можуть в залежності від концентрації та інших причин виконувати як фізіологічну роль в регулюванні їхніх нормальних функцій (забезпечують внутрішньоклітинну сигналізацію через механізми фосфорилування білків, активацію протеїнкіназ і цАМФ (Ford W.C., 2004; Williams A.C., 2005; Sabeti P., 2016), регулюють процеси гіперактивації, капацитації сперматозоїдів, акросомальну реакцію (Aitken R.J., 2012-2014; Ford W.C., 2004; Lamirande E., 2008), так і чинити негативний вплив на чоловічу репродуктивну систему, викликаючи окисно-нітративний стрес, що супроводжується зниженням життєздатності сперматогенного епітелію та сперматозоїдів. Сучасні дослідження вказують про те, що високі рівні АФК / АФА виявлено в зразках сперми до 40% безплідних чоловіків (Божедомов В.А., 2008, 2011; Цебржинский О.И., 2008; Sabeti P., 2016).

До антропогенних чинників, які обумовлюють погіршення показників репродуктивного здоров'я чоловіків, належить іонізуюча радіація та хімічні сполуки.

**У світі сучасних досягнень радіобіології надзвичайно актуальною вважається проблема впливу на організм людини та тварин малих і середніх доз зовнішнього опромінення (Сафонова В.Ю., 2011; Møller A.P., 2016; Yang G., 2016), особливо за умов поєднаної дії іонізуючої радіації з іншими стресорами, що дозволяє з'ясувати результати їхньої синергічної або антагоністичної взаємодії (Сабадашка М.В., 2014; Brody S.A., 2014, Верещако Г.Г., 2016).**

До найпоширеніших забруднювачів довкілля належать неорганічні нітросполуки. На VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю (Харків, 2016 р.) була висловлена думка, що тривале навантаження нітратами та нітритами, у значній мірі, обумовлює розвиток соціально важливих захворювань та, навіть, обмежує середню тривалість життя (Реутов В.П., 2016).

Нітратно-нітритний фон існування сучасної людини може діяти як хімічний (нітративний) стрес, який у сукупності з окисданивним впливом здатний породжувати утворення високотоксичних сполук - пероксинітриту, діоксиду азоту (NO<sub>2</sub>) і •ОН-радикалів (Реутов В.П., 2016). Усі ці сполуки утворюються при іонізуючому опроміненні (Gorbunov N., 2000; Gisone P., 2004; Сабадашка М.В., 2014).

Проте наслідки комплексного впливу нітратів та іонізуючої радіації прогнозувати досить важко, оскільки продукт біотрансформації нітрат- та нітрит-йонів – оксид азоту (NO) - грає значну роль як у фізіології, так і патофізіології чоловічої репродуктивної системи (Запорожан В.М. та співавт., 2001; Lee N.P., 2008; Rosselli M., 2008; Garg V., 2011; Doshi S.B., 2012). Механізми поєднаної дії рентгенівського опромінення та надлишкового надходження неорганічних нітросполук до організму ссавців на метаболізм і функції сім'яників і сперми ссавців раніше не досліджувалися.

Залишається нез'ясованою роль на метаболічний і функціональний стан чоловічої репродуктивної системи нещодавно виявлених регуляторів утворення АФК / АФА, зокрема мелатоніну та інгібіторів активації транскрипційного ядерного чинника  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ). Ці сполуки здатні обмежувати ефекти індукційної ізоформи NO-синтази (iNOS), прозапальних цитокінів та підвищувати антиоксидантний потенціал в різних органах (Escames G., 2006; Manchester L.C., 2014; Френкель Ю.Д., 2014).

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертація виконана як самостійний фрагмент планових наукових робіт Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України «Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами» (№ держреєстрації №0108U010079) та «Роль активних форм кисню, системи оксиду азоту та транскрипційних факторів у механізмах патологічного системогенезу» (№ держреєстрації №0114U004941). Здобувач є співвиконавцем тем. Тема дисертації затверджена на засіданні Проблемної комісії МОЗ і НАМН України «Нормальна та патологічна фізіологія» від 31.05.2012 р. (протокол № 2) та на засіданні Вченої ради стоматологічного факультету (протокол №2 від 26.09.2012 р.).

**Мета дослідження.** Метою цієї роботи було з'ясування механізмів розвитку окисно-нітративного стресу у сім'яниках і сперматозоїдах та порушень функціонального стану останніх при поєднаній дії на організм рентгенівського опромінення та нітрату натрію.

#### **Завдання дослідження:**

1. Дослідити спільні механізми змін продукції активних форм кисню та азоту, пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту у сім'яниках білих щурів при дії радіаційного (фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр) та хімічного (30-денна інтоксикація нітратом натрію) чинників.

2. Вивчити спільні механізми змін продукції супероксидного аніон-радикала, сумарної активності NO-синтази та пероксидного окиснення ліпідів у сперматозоїдах білих щурів при дії радіаційного (фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр) та хімічного (30-денна інтоксикація нітратом натрію) чинників.

3. Дослідити вироблення активних форм кисню та азоту, стан вільнорадикальних процесів у сім'яниках і сперматозоїдах білих щурів за умов поєднаної дії на організм доз рентгенівського опромінення та надлишкового надходження нітрату натрію.

4. З'ясувати функціональний стан сперматозоїдів білих щурів за умов поєднаної дії на організм рентгенівського опромінення та надлишкового надходження нітрату натрію.

5. Дослідити вплив мелатоніну на розвиток окисно-нітративного стресу у сім'яниках і сперматозоїдах та функціональний стан останніх за умов поєднаної дії на організм рентгенівського опромінення та надлишкового надходження нітрату натрію.

6. Вивчити вплив інгібітора активації NF- $\kappa\text{B}$  JSH-23 на розвиток окисно-нітративного стресу у сім'яниках і сперматозоїдах та функціональний стан останніх за умов поєднаної дії на організм рентгенівського опромінення та надлишкового надходження нітрату натрію.

*Об'єкт дослідження:* механізми окисно-нітративного стресу та його роль в ушкодженні чоловічої репродуктивної системи.

*Предмет дослідження:* роль активних форм кисню та азоту у патогенезі метаболічних розладів і функції сім'яників і сперматозоїдів за умов поєднаної дії на організм рентгенівського опромінення та надлишкового надходження нітрату натрію.

*Методи дослідження:* поставлена мета досягнута шляхом використання експериментальних, біохімічних, функціональних та математико-статистичних методів дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Виявлено, що поєднана дія радіаційного (фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр) та хімічного (30-денне введення нітрату натрію) чинників потенціює негативні ефекти у сім'яниках (утворення пероксинітриту, розвиток декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, зменшує активність цитохромоксидази) та сперматозоїдах щурів (збільшує гіперпродукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, сумарну активність NO-синтаз та пероксидне окиснення ліпідів). Показано, що фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр під час 30-денного введення нітрату натрію супроводжується більш суттєвим (у порівнянні з ізольованою дією чинників) зниженням середнього числа сперматозоїдів, підвищенням кількості нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм, зменшенням активно-рухливих клітин з поступальним рухом (категорія А), прогресуючим підвищенням нерухомих сперматозоїдів (категорія D).

Вперше виявлено, що введення мелатоніну та інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов поєднаної дії радіаційного та хімічного чинників обмежує у тканинах сім'яників генерацію супероксидного аніон-радикала дихальним ланцюгом мітохондрій, підвищує активність цитохромоксидази, зменшує сумарну активність NO-синтаз, концентрацію нітрит-йонів і пероксинітриту, що супроводжується зменшенням утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Вперше виявлено, що введення мелатоніну та інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов експерименту обмежує генерацію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним і НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> і НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>-залежними електронно-транспортними ланцюгами сперматозоїдів щурів, зменшує сумарну активність NO-синтаз та утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, що супроводжується зменшенням відсотка нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм, збільшує число сперматозоїдів із швидким поступальним рухом.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані результати можуть використовуватися як експериментальна база для розробки патогенетично обґрунтованих методів корекції функціонально-метаболічних розладів органів чоловічої репродуктивної системи (із залученням мелатоніну та інгібіторів активації NF-κB) за умов впливу надмірного ятрогенного або промислового рентгенівського опромінення та тривалого надходження до організму неорганічних нітросполук.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах патофізіології Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія», Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету, Одеського національного медичного університету, Харківського національного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Здобувачем особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, сформульовано висновки дисертації. Разом із науковим керівником розроблена програма, визначені мета і завдання дослідження, методичні підходи до проведення експерименту на тваринах. У працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок: результати власних експериментальних досліджень, участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовлено статті до друку.

**Апробація результатів дослідження.** Основні наукові положення і результати дисертації доповідалися та обговорювалися на науково-практичних конференціях «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів» (Тернопіль, 2011, 2015), XVIII міжміській конференції молодих учених «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, Росія, 2012), VI конгресі патофізіологів України «Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології» (Місхор, 2012), XVII Всеросійській медико-біологічній конференції молодих дослідників (з міжнародною участю) «Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, Росія, 2014), 8-й національній науково-практичній конференції з іноземною участю «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека» (Смоленськ, Росія, 2014), VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції» (Харків, 2016), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука в практику охорони здоров'я» (Полтава, 2016), засіданні апробаційної ради №1 ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (Полтава, 2016).

**Публікації.** Результати дослідження опубліковано в 4 статтях у фахових журналах України, що реферуються міжнародними наукометричними базами даних *РИНЦ*, *Index Copernicus International*, *Google Scholar*, 1 статті у фаховому журналі за кордоном (Республіка Білорусь), 1 статті у збірнику наукових праць, 6 робіт опубліковано у матеріалах конгресів і конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 161 сторінці комп'ютерного набору, містить 37 таблиць та 19 рисунків. Складається зі вступу, огляду літератури, характеристики об'єктів і методів дослідження, 4-х розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 272 джерела – 124 кирилицею та 148 латиницею (обсягом 33 сторінки).

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Експерименти виконані на 84 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-280 г. При роботі з тваринами дотримувались вимог “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях” (Страсбург, 18.03.1986 р.). Комісією з питань біоетики Вищого державного навчального закладу України “Українська медична стоматологічна академія” (протокол № 147 від 23.12.2016 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Всі тварини були розподілені на 6 груп: 1-ша – інтактна; 2-га, 3-тя, 4-та – дослідні (відповідно – введення нітрату натрію у дозі 200 мг/кг щоденно протягом 30 діб; опромінення рентгенівськими променями дозою 0,08 Гр три рази протягом тижня через день (сумарно 0,24 Гр); поєднана дія нітрату натрію та рентгенівського опромінення; 5-та, 6-та – дослідні (за умов поєднаної дії нітрату натрію та рентгенівського опромінення тваринам вводили відповідно – мелатонін та інгібітор активації NF-κB – JSH-23. Евтаназію білих щурів проводили шляхом декапітації під ефірним наркозом, після чого видаляли сім'яники. Сперму (суспензію сперматозоїдів) отримували із придатка сім'яника.

Фракційне рентгенівське опромінення здійснювали рентгенівським апаратом АРД-2 у разовій дозі 0,08 Гр екстракорпорально три рази через добу (сумарна доза – 0,24 Гр). При відтворенні моделі поєднаної дії на організм малих доз іонізуючої радіації та надлишкового надходження нітрату натрію - в останній тиждень нітратної інтоксикації.

Мелатонін (виробництво “Sigma-Aldrich, Inc.”, США) вводили щоденно о 23 годині вечора у вигляді водного розчину інтрагастрально за допомогою спеціального зонду у дозі 0,3 мг/кг маси тіла на добу протягом 30 діб (Чеботар Л.Д., Цебржинський О.І., 2006). Запропонована експериментальна модель супроводжується підвищенням концентрації мелатоніну в крові > 35 пг/мл (Френкель Ю.Д., 2015).

Інгібітор активації NF-κB II – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) виробництва “Santa Cruz Biotechnology” (ФРН) вводили внутрішньоочеревинно в дозі 1 мг/кг маси тварини 2 рази на тиждень протягом періоду відтворення 30-денної інтоксикації нітратом натрію (Kumar A. et al., 2011).

*Біохімічні методи дослідження сім'яників.* Утворення супероксидного аніон-радикала (САР) оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм (НСТ) у модифікації (Костенко В.О., Цебржинський О.І., 2000). При цьому оцінювали продукцію САР мітохондріальним і мікросомальним електронно-транспортними ланцюгами (ЕТЛ) у гомогенаті тканин сім'яників за умов введення відповідних індукторів (НАДН і НАДФН).

Активність цитохромоксидази (ЦХО) в тканинах вивчали за реакцією НАДІ, результат виражали в індофенольних одиницях на г тканини в хвилину (од. акт.) (Straus W., 1954).

Активність сумарної активності NO-синтаз (NOS) визначали за різницею концентрації нітрит-іонів ( $\text{NO}_2^-$ ) до та після інкубації гомогенату тканин сім'яників у середовищі, що містить L-аргінін та НАДФН. Концентрацію  $\text{NO}_2^-$  визначали шляхом утворення діазосполук у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з  $\alpha$ -нафтилетилендіаміном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники) (Hevel J.M., 1991).

Вміст пероксинітрит-іонів проводили з використанням реакції з йодидом калію в буферизованому середовищі при  $\text{pH}=7,0$  спектрофотометрично за поглинанням на довжині хвилі 355 нм (Шрайбман Г.Н. та співавт., 2011).

Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах сім'яників оцінювали за утворенням у реакції тіобарбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметинового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині (Кайдашев І.П. та співавт., 2003).

Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (СОД) (Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф., 1976), каталази (Архипова О.Г., 1988) та глутатіонпероксидази (GSH-пероксидази) (Mills G.C., 1954).

*Біохімічні методи дослідження сперми.* Утворення CAP сперматозоїдами оцінювали шляхом проведення тесту з НСТ (Цебржинський О.І., 2000). При цьому оцінювали продукцію CAP НАДФН-залежними ЕТЛ (НАДФН-цитохром  $\text{P}_{450}$  і НАДФН-цитохром  $\text{B}_{245(558)}$ ) та мітохондріальним ЕТЛ у зразках сперми за умов введення індукторів (НАДФН і НАДН). Активність NOS визначали за різницею концентрації  $\text{NO}_2^-$  до та після інкубації зразків сперми у середовищі, що містить L-аргінін та НАДФН (Hevel J.M., 1991). Активність NOS виражали в  $\text{нмоль/хв} \times 10^6$  сперматозоїдів. Концентрацію ТБК-реактивних у сперматозоїдах визначали тіобарбітуровим методом (Кайдашев І.П. та співавт., 2003), виражали в  $\text{пмоль/л} \times 10^6$  клітин.

*Функціональні методи дослідження.* Кількість і функціональний стан сперматозоїдів визначали за М.А. Базарною та співавт. (1988) та методичними рекомендаціями Державного фармакологічного центру МОЗ України (Баріляк І.Р. та співавт., 2001). В нативних препаратах за умов світлової мікроскопії з віконцем Фоніо серед 100 сперматозоїдів підраховували відсоток клітин із швидким поступальним рухом (50  $\mu\text{м/с}$ ) (нормокінезія, категорія А), повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В); коливальним неупорядкованим рухом (дискінезія, категорія С) та нерухомих (акінезія, категорія D) (Долгов В.В. та співавт., 2006). Життєздатність сперматозоїдів визначали в умовах еозинового тесту. Сперміологічні дослідження виконано за консультативною допомогою завідувача кафедри біології і основ здоров'я людини Полтавського національного педагогічного університету ім. В.Г. Короленка, д. біол. н., професора О.І. Цебржинського



*Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шаніро-Вілка. Якщо дані відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували t-критерій Ст'юдента для незалежних вибірок. У випадку, коли ряди даних не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні розрахунки та побудову діаграм проводили з використанням програм "Microsoft Excel 2007" та "StatisticSoft 6.0".*

### **Результати досліджень та їх обговорення**

*1. Механізми вільнорадикального пошкодження сім'яників і сперми при поєднаній дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення*

Супероксидний аніон-радикал (САР) досить активно продукується субклітинними структурами сім'яників інтактних щурів. Так, НАДН-залежний (мітохондріальний) ЕТЛ виробляє  $18,6 \pm 1,2$  нмоль/г·с, НАДФН-залежний (мікросомальний) ЕТЛ –  $16,7 \pm 1,3$  нмоль/г·с.

На 30 добу інтоксикації нітратом натрію спостерігається підвищення продукції САР мітохондріальним ЕТЛ – до  $22,7 \pm 1,1$  нмоль/г·с (на 22,0%,  $P < 0,02$ ). У той же час генерація цього радикала НАДФН-залежним (мікросомальним) ЕТЛ зменшується – до  $9,3 \pm 0,8$  нмоль/г·с (на 44,3%,  $P < 0,001$ ).

Вироблення цієї АФК мітохондріями сім'яних каналців і клітин Лейдіга пов'язують з дисфункцією мітохондріального ферментного комплексу I (НАДН – убіхіноноксидоредуктаза (Vinogradov A.D., Grivennikova V.G., 2016). У низьких концентраціях САР бере участь у біосинтезі білка на етапі трансляції та, як внутрішньоклітинний регулятор функціонального стану мітохондрій (Sabeti P. 2016; Sanz A., 2016).

Припускаємо, що зменшення генерації САР мікросомами може бути пов'язано зі здатністю нітратів окиснювати  $Fe^{+2}$  і стабілізувати цитохром  $P_{450}$ , що знижує його активність (Ває Y.S. et al., 2011). Продукт метаболізму нітратів – оксид азоту – здатний блокувати ферменти цього ЕТЛ, утворюючи комплекс з  $Fe^{+3}$  за лігандним місцем субстрату.

Фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр також підвищує продукцію САР у тканинах сім'яників НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ – до  $24,3 \pm 1,6$  нмоль/г·с (на 30,6%,  $p < 0,02$ ). При цьому генерація САР НАДФН-залежним (мікросомальним) ЕТЛ зменшується – до  $11,2 \pm 1,4$  нмоль/г·с (на 32,9%,  $P < 0,02$ ).

Пригнічення цитохром P<sub>450</sub>-залежних оксидоредуктаз ендоплазматичного ретикулума та / або автоокиснення цитохрому P<sub>450</sub> може бути результатом прямої або опосередкованої генотоксичної дії іонізуючого опромінення, спрямованої на синтез ферментів (Цебржинский О.И., 2001).

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію генерація САР у тканинах сім'яників НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ підвищується до 26,3±1,2 нмоль/г·с, що перевищує на 41,4% (p<0,002) дані інтактної групи, але суттєво не відрізняється від результатів другої та третьої серій.

Порушення мітохондріальної ЕТЛ за умов ізольованої та сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення підтверджуються даними щодо активності у тканинах сім'яників білих щурів термінального ферменту дихального ланцюга мітохондрій – ЦХО. Так, активність ЦХО зменшується за умов 30-денної інтоксикації нітратом натрію з 1,43±0,12 од.акт. (у нормі) до 0,67±0,11 од.акт. (на 53,1%, P<0,02), при фракційному рентгенівському опроміненні – до 0,94±0,07 од. акт. (на 34,3%, P<0,05), при поєднаному впливі названих чинників – до 0,57±0,07 (на 60,1%, P<0,05).

Утворення значної кількості САР за умов ізольованої нітратної інтоксикації, впливі рентгенівського опромінення та поєднаної дії цих чинників створює передумови для утворення при збільшенні рівня NO АФА, зокрема, пероксинітриту.

При дослідженні тканин сім'яників інтактних щурів виявлено, що сумарна активність NOS складає – 4,71±0,15 мкмоль NO<sup>-</sup><sub>2</sub>/г·хв., а концентрація нітрит-йонів – 0,14±0,02 мкмоль/г. Концентрація пероксинітриту в тканинах сім'яників становить 0,68±0,02 мкмоль/г. Низький рівень цієї сполуки забезпечує її сигнальні властивості (Ji J. et al., 2007; Doshi S.V. et al., 2012).

Введення нітрату натрію протягом 30 діб істотно не позначається сумарній активності NOS у тканинах сім'яників. Концентрація нітрит-йонів (продуктів метаболізму нітрат-йонів) збільшується до 0,31±0,02 мкмоль/г (на 121,4%, p<0,001). Вміст пероксинітриту в тканинах сім'яників підвищується до 1,06±0,04 мкмоль/г (на 55,9%, p<0,001).

Фракційне рентгенівське опроміненні в сумарній дозі 0,24 Гр істотно збільшує сумарну активність NOS у тканинах сім'яників – до 11,11±0,58 мкмоль NO<sup>-</sup><sub>2</sub>/г·хв., що перевищує на 135,9% (p<0,001) дані інтактної групи та на 124,0% (p<0,001) результат другої серії.

Концентрація нітрит-йонів підвищується до 0,18±0,01 мкмоль/г (на 28,6%, p<0,001), проте поступається на 41,9% (p<0,001) даним другої серії. Вміст пероксинітриту в тканинах сім'яників підвищується до 0,98±0,03 мкмоль/г (на 44,1%, p<0,001).

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію сумарна активність NOS у тканинах сім'яників збільшується до 7,20±0,26 мкмоль NO<sup>-</sup><sub>2</sub>/г·хв., що перевищує на 52,9% (p<0,001) дані інтактної групи та на 45,2% (p<0,001) – результат другої серії, але поступається на 35,2% (p<0,001) – даним третьої серії.

Концентрація нітрит-йонів за цих умов у тканинах сім'яників підвищується до  $0,38 \pm 0,01$  мкмоль/г, що перевищує результат інтактної групи тварин – на 171,4% ( $p < 0,001$ ), результат другої серії – на 22,6% ( $p < 0,01$ ), результат третьої серії – на 111,1% ( $p < 0,001$ ).

Вміст пероксинітриту суттєво збільшується – до  $1,22 \pm 0,04$  мкмоль/г, що перевищує результат інтактної групи тварин – на 79,4% ( $p < 0,001$ ), результат другої серії – на 15,1% ( $p < 0,02$ ), результат третьої серії – на 24,5% ( $p < 0,001$ ).

САР, що виробляється мітохондріальним ЕТЛ, здатний індукувати і продовжувати ланцюг ПОЛ, вторинним продуктом якого є малоновий діальдегід – головна складова ТБК-активних продуктів (Цебржинский О.И. та співавт., 2008).

За даними дослідження, у гомогенаті тканин сім'яників інтактних щурів концентрація ТБК-активних сполук до та після 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині складає відповідно –  $19,3 \pm 2,2$  та  $23,2 \pm 3,2$  мкмоль/кг. Приріст концентрації цих речовин за час інкубації –  $3,9 \pm 1,7$  мкмоль/кг, тобто 20,2%.

На 30 добу інтоксикації нітратом натрію спостерігається підвищення концентрації ТБК-реактивних до та після 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині – відповідно до  $35,7 \pm 3,1$  (на 85,0%,  $p < 0,001$ ) та  $45,1 \pm 5,1$  мкмоль/кг (на 45,1%,  $p < 0,01$ ).

Проте приріст ТБК-активних сполук за час інкубації суттєво не відрізняється від даних інтактної групи, що свідчить про компенсований характер ПОЛ.

Цей висновок підтверджує також підвищення активності АО ферменту СОД – до  $4,8 \pm 0,2$  од. акт. (на 26,3%,  $P < 0,05$ ). У той же час активність каталази зменшується – до  $0,42 \pm 0,03$  од. акт. (на 55,8%,  $P < 0,001$ ). Активність GSH-пероксидаза – істотно не змінюється.

Відомо, що каталаза відрізняється високою чутливістю до NO, при взаємодії з яким утворюється пригнічена форма ферменту – ферікаталаза-NO (Kim Y.S., Han S., 2000).

Фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр також підвищує концентрацію ТБК-реактивних до та після 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині – відповідно до  $28,2 \pm 3,2$  (на 46,1%,  $p < 0,05$ ) та  $37,4 \pm 4,0$  мкмоль/кг (на 61,2%  $p < 0,02$ ).

При цьому приріст ТБК-активних сполук за час інкубації складає  $9,2 \pm 1,0$  мкмоль/кг, що на 135,9% ( $p < 0,02$ ) перевищує результат інтактної групи. Це свідчить про зниження АО потенціалу та декомпенсований характер ПОЛ.

Цьому сприяє, зокрема, і відсутність підвищення активності АО ферментів – СОД і GSH-пероксидази, а також зменшення активності каталази (на 21,1%,  $p < 0,05$ ).

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію спостерігається підвищення концентрації ТБК-реактивних до інкубації – до  $49,3 \pm 2,7$  мкмоль/кг, що перевищує на 155,4% ( $p < 0,001$ ) дані інтактної групи, на 38,1% ( $p < 0,01$ ) – результат другої серії, та на 74,8% ( $p < 0,001$ ) – результат третьої серії.

Концентрація ТБК-активних сполук після 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині також збільшується – до  $61,7+4,4$  мкмоль/кг, що перевищує на 165,9% ( $p<0,001$ ) дані інтактної групи, на 36,8% ( $p<0,05$ ) – результат другої серії, та на 65,0% ( $p<0,02$ ) – результат третьої серії.

Приріст ТБК-реактивів за час інкубації складає  $12,4+3,0$ , що на 217,9% ( $p<0,05$ ) перевищує результат інтактної групи та свідчить про декомпенсований характер ПОЛ.

За цих умов активність СОД суттєво зменшується – до  $2,6+0,1$  од. акт. , що поступається на 31,6% ( $p<0,002$ ) даним інтактної групи, на 45,8% ( $p<0,001$ ) – результату другої серії, та на 16,1% ( $p<0,02$ ) – результату третьої серії.

Активність каталази також знижується – до  $0,52+0,07$  од. акт., що поступається на 45,3% ( $p<0,002$ ) дані інтактної групи та на 30,7% ( $p<0,02$ ) результату третьої серії. Активність ГСН-пероксидази не виявляє достовірних змін.

Супероксидний аніон-радикал продукується у сперматозоїдах ссавців НАДН-залежним ( мітохондріальним) та НАДФН-залежними (НАДФН-цитохром  $P_{450}$  і НАДФН-цитохром  $B_{245(558)}$ ) ЕТЛ. Так, вироблення САР мітохондріальним ЕТЛ (при стимуляції НАДН) у спермі становить  $4,8+0,2$  пмоль/с $\times 10^6$ , а НАДФН-залежними –  $4,3+0,2$  пмоль/с $\times 10^6$ .

На 30 добу інтоксикації нітратом натрію генерація САР мітохондріальним ЕТЛ (при стимуляції НАДН) збільшується – до  $7,4+0,3$  пмоль/с $\times 10^6$  (на 54,2%,  $P<0,001$ ), а НАДФН-цитохром  $P_{450}$  і НАДФН-цитохром  $B_{245(558)}$  ЕТЛ (при стимуляції НАДФН) – до  $6,8+0,3$  пмоль/с $\times 10^6$  (на 58,1%,  $P<0,001$ ).

Фракційне рентгенівське опроміненні в сумарній дозі 0,24 Гр також підвищує продукцію САР у спермі мітохондріальним ЕТЛ (при стимуляції НАДН) – до  $7,5+0,3$  пмоль/с $\times 10^6$  (на 56,3%,  $P<0,001$ ), а НАДФН-цитохром  $P_{450}$  і НАДФН-цитохром  $B_{245(558)}$  ЕТЛ (при стимуляції НАДФН) – до  $7,8+0,3$  пмоль/с $\times 10^6$  (на 81,4%,  $P<0,001$ ).

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію генерація САР у спермі НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ підвищується до  $9,2+0,6$  пмоль/с $\times 10^6$ , що перевищує на 91,7% ( $p<0,001$ ) дані інтактної групи, на 24,3% ( $p<0,02$ ) – результат другої серії, та на 22,7% ( $p<0,02$ ) – результат третьої серії. Продукція САР у спермі НАДФН-цитохром  $P_{450}$  і НАДФН-цитохром  $B_{245(558)}$  ЕТЛ (при стимуляції НАДФН) підвищується до  $8,9+0,6$  пмоль/с $\times 10^6$ , , що перевищує на 107,0% ( $p<0,001$ ) дані інтактної групи та на 30,9% ( $p<0,01$ ) – результат другої серії. Згідно з нашими даними, на 30 добу інтоксикації нітратом натрію сумарна активність NOS у сперматозоїдах істотно не змінюється.

Фракційне рентгенівське опроміненні в сумарній дозі 0,24 Гр підвищує сумарну активність NOS у сперматозоїдах – до  $25,9+1,2$  нмоль/хв $\times 10^6$  (на 317,7%,  $P<0,001$ ).

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію сумарна активність NOS у сперматозоїдах залишається збільшеною – до  $20,7+1,6$  нмоль/хв $\times 10^6$  (на 233,9%,  $P<0,001$ ).

Надлишкове утворення АФК у сперматозоїдах за умов експерименту закономірно позначається на концентрації вторинних продуктів ПОЛ.

За даними дослідження, у спермі інтактних щурів концентрація ТБК-активних сполук складає відповідно –  $70,2+6,2$  пмоль/л  $\times 10^6$ .

На 30 добу інтоксикації нітратом натрію концентрація ТБК-реактивних збільшується – до  $117,5+5,5$  пмоль/с  $\times 10^6$  (на 67,4%,  $P < 0,001$ ).

Фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр також підвищує концентрацію ТБК-активних сполук – до  $123,9+8,6$  пмоль/с  $\times 10^6$  (на 76,5%,  $P < 0,001$ ).

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію концентрація ТБК-реактивних збільшується – до  $143,3+9,6$  пмоль/с  $\times 10^6$ , що перевищує на 104,1% ( $p < 0,001$ ) дані інтактної групи та на 22,0% ( $p < 0,05$ ) – результат другої серії.

## *2. Зміни функціонального стану сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення*

При дослідженні кількісних показників сперми інтактних щурів середнє число сперматозоїдів складає  $(48,4+3,1) \times 10^6$ , з яких  $(10,5+0,22)\%$  є нежиттєздатними, а  $(15,5+0,94)\%$  сперматозоїдів представлено патологічними формами.

На 30 добу інтоксикації нітратом натрію середнє число сперматозоїдів зменшується до  $(36,6+4,1) \times 10^6$  (на 24,4%,  $p < 0,05$ ). Кількість нежиттєздатних сперматозоїдів збільшується до  $(33,0+0,38)\%$  (на 214,3%,  $p < 0,001$ ). Число патологічних форм сперматозоїдів за цих умов складає  $(40,0+1,99)\%$ , що на 158,1% ( $p < 0,001$ ) перевищує величину інтактної групи. Серед патологічних форм сперматозоїдів, які утворюються за умов 30-денного введення нітрату натрію, спостерігається переважання клітин зі змінами голівки (набухання, зморщування, мікро- та макроголівки, вакуолізація акросоми тощо), а також змішаними дефектами.

Число клітин з аномаліями голівки та змішаною патологією за цих умов складає відповідно  $(80,0+3,59)\%$  та  $(7,5+0,62)\%$ , що на 37,8% ( $p < 0,001$ ) та 132,2% ( $p < 0,002$ ) перевищує дані першої серії.

У той же час відсоток сперматозоїдів з аномаліями шийки та середньої частини (набухання та зморщування) та хвоста (відсутність, подвоєння, зростання з голівкою) зменшується відповідно до  $(5,00+0,36)\%$  та  $(3,75+0,62)\%$ , тобто на 69,0% ( $p < 0,001$ ) та 76,8% ( $p < 0,001$ ) поступається даним інтактної серії.

За умов фракційного рентгенівського опромінення щурів у сумарній дозі 0,24 Гр середнє число сперматозоїдів також зменшується - до  $(34,7+3,6) \times 10^6$  (на 28,3%,  $p < 0,02$ ). Кількість нежиттєздатних сперматозоїдів збільшується до  $(35,5+0,40)\%$  (на 238,1%,  $p < 0,001$ ). Число патологічних форм сперматозоїдів за цих умов складає  $(40,0+2,1)\%$ , що на 158,1% ( $p < 0,001$ ) перевищує величину інтактної групи.

При цьому серед патологічних форм сперматозоїдів також переважають клітини з аномаліями голівки та змішаними дефектами. Так, кількість сперматозоїдів з аномаліями голівки та змішаною патологією за цих умов

складає відповідно  $(85,0 \pm 2,3)\%$  та  $(8,75 \pm 0,71)\%$ , що на  $46,4\%$  ( $p < 0,001$ ) та  $170,9\%$  ( $p < 0,001$ ) перевищує дані першої серії.

Відсоток сперматозоїдів з аномаліями шийки та тіла зменшується до  $(2,50 \pm 0,36)\%$ , хвоста - до  $(1,25 \pm 0,44)\%$ , нерозділених сперматозоїдів - до  $(2,50 \pm 0,44)\%$ , що відповідно на  $84,5\%$  ( $p < 0,001$ ),  $92,3\%$  ( $p < 0,001$ ) та  $61,2\%$  ( $p < 0,05$ ) поступається даним інтактної серії.

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію середнє число сперматозоїдів зменшується до  $(31,4 \pm 4,1) \times 10^6$ , що на  $35,1\%$  ( $p < 0,01$ ) поступається результату інтактної групи, проте суттєво не відрізняється від даних другої та третьої серій.

Кількість нежиттєздатних сперматозоїдів збільшується до  $(45,5 \pm 0,62)\%$ , що перевищує дані інтактної групи - на  $333,3\%$  ( $p < 0,001$ ), другої та третьої серій - відповідно на  $37,9\%$  ( $p < 0,001$ ) та  $28,2\%$  ( $p < 0,001$ ).

Число патологічних форм сперматозоїдів також істотно підвищується - до  $(50,0 \pm 3,22)\%$ , що перевищує дані інтактної групи - на  $222,6\%$  ( $p < 0,001$ ), другої та третьої серій - відповідно на  $25,0\%$  ( $p < 0,02$ ) та  $25,0\%$  ( $p < 0,05$ ).

Як і у серії з ізольованим фракційним рентгенівським опроміненням, у цьому випадку переважають клітини з аномаліями голівки та змішаною патологією, відсоток яких складає відповідно  $(86,00 \pm 4,18)\%$  та  $(6,00 \pm 0,49)\%$ , що на  $48,1\%$  ( $p < 0,001$ ) та  $85,8\%$  ( $p < 0,02$ ) перевищує дані першої серії. Проте відсоток сперматозоїдів зі змішаною патологією на  $31,4\%$  ( $p < 0,01$ ) поступається такому у третій серії.

При цьому у порівнянні з результатами третьої серії збільшується відсоток клітин з аномаліями шийки та тіла - на  $60,0\%$  ( $p < 0,01$ ), хвоста -  $140,0\%$  ( $p < 0,02$ ). Зустрічаються сперматозоїди зі "скрученою" шийкою, набуханням або зморщуванням середньої частини, відсутністю або подвоєнням хвоста. Рідше зустрічаються нерозділені сперматозоїди.

Переважання сперматозоїдів із патологією голівки свідчить, що головною причиною утворення патологічних форм клітин є зміни в спермогенному епітелії сім'яників (Долгов В.В. та співавт., 2006).

При дослідженні показників рухливості сперматозоїдів інтактних  $(72,6 \pm 4,2)\%$  клітин виявляють належність до категорії А (нормокінезис),  $(12,3 \pm 0,8)\%$  - категорії В (гіпокінезис),  $(9,4 \pm 0,5)\%$  - категорії С (дискінезис),  $(5,7 \pm 0,4)\%$  - категорії D (акінезис)

На 30 добу інтоксикації нітратом натрію відмічається збільшення до  $(13,6 \pm 1,5)\%$  (на  $138,6\%$ ,  $p < 0,001$ ) нерухомих сперматозоїдів (категорія D) при зменшенні (на  $22,3\%$ ,  $p < 0,02$ ) частки сперматозоїдів категорії С (дискінезис), який складає  $(7,3 \pm 0,5)\%$ .

За умов фракційного рентгенівського опромінення щурів у сумарній дозі  $0,24$  Гр істотно зменшується відсоток нормокінетичних форм сперматозоїдів (категорія А) - до  $(46,7 \pm 5,3)\%$ , тобто на  $35,7\%$  ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з даними інтактної серії. При цьому достовірно збільшується частки сперматозоїдів категорії В (гіпокінезис) - до  $(25,1 \pm 1,7)\%$ , що перевищує на  $104,1\%$  ( $p < 0,001$ ) результат інтактної групи та на  $59,9\%$  ( $p < 0,01$ ) дані другої серії. Відсоток

нерухомих сперматозоїдів (категорія D) також підвищується – до  $(18,1+1,5)\%$ , що на  $217,5\%$  ( $p<0,001$ ) перевищує результат інтактної групи.

За умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію відсоток нормокінетичних форм сперматозоїдів (категорія A) зменшується до  $(44,0+4,9)\%$ , тобто на  $39,4\%$  ( $p<0,01$ ) у порівнянні з результатом першої серії. Значно збільшується частка сперматозоїдів категорій B (гіпокінезис) та D (акінезис). Відсоток гіпокінетичних сперматозоїдів (категорія B) підвищується до  $(28,4+1,8)\%$ , що перевищує на  $130,9\%$  ( $p<0,001$ ) результат інтактної групи та на  $80,9\%$  ( $p<0,02$ ) дані другої серії. Частка нерухомих сперматозоїдів (категорія D) підвищується до  $(20,7+2,9)\%$ , що на  $263,2\%$  ( $p<0,001$ ) перевищує результат інтактної групи та на  $52,2\%$  ( $p<0,05$ ) дані другої серії. Одночасно з цим відсоток дискінетичних клітин (категорія C) зменшується до  $(6,9+0,4)\%$ , що відповідно на  $26,6\%$  ( $p<0,002$ ) та  $31,7\%$  ( $p<0,01$ ) поступається даним першої та третьої серії.

*3. Вплив мелатоніну на окиснювальний метаболізм в сім'яниках і спермі та функціональний стан сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення*

Введення мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію обмежує генерацію CAP у тканинах сім'яників НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ до  $20,4+1,2$  нмоль/г $\times$ с, що поступається на  $22,4\%$  ( $p<0,01$ ) даним четвертої серії.

У той же час призначення мелатоніну за умов поєднаного впливу радіаційного та токсичного чинників суттєво не позначається на генерації CAP у тканинах сім'яників НАДФН-залежними ЕТЛ.

Примітно, що мелатонін справляє позитивну дію на мітохондріальний ЕТЛ. Так, активність ЦХО при застосуванні мелатоніну за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення збільшується до  $1,41+0,20$  од.акт. , що на  $147,4\%$  ( $p<0,002$ ) перевищує результат четвертої серії.

Застосування мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію зменшує сумарну активність NOS у тканинах сім'яників – до  $3,91+0,16$  мкмоль  $\text{NO}_2^-$ /г $\cdot$ хв., що на  $45,7\%$  ( $p<0,002$ ) поступається даним четвертої групи.

Відомо, що мелатонін здатний селективно пригнічувати iNOS (Dong W.G. et al., 2003; Oktem G. et al., 2006; Escames G. et al., 2006).

За наведених вище умов концентрація нітрит-йонів також знижується - до  $0,28+0,02$  мкмоль/г, що на  $26,3\%$  ( $p<0,001$ ) поступається даним четвертої групи. Вміст пероксинітриду в тканинах сім'яників зменшується до  $0,92+0,06$  мкмоль/г, що на  $24,6\%$  ( $p<0,01$ ) поступається результату четвертої серії.

Введення мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію зменшує концентрацію ТБК-реактивних до інкубації гомогенату - до  $28,4+3,2$  мкмоль/кг, що поступається на  $42,4\%$  ( $p<0,001$ ) даним четвертої серії. Приріст ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині складає  $10,9+3,1$

мкмоль/кг, що поступається на 12,1% ( $p < 0,05$ ) даним четвертої серії та свідчить про підвищення антиоксидантного потенціалу.

Покращення АО системи при застосуванні мелатоніну за умов експерименту підтверджується також збільшенням активності АО ферментів. Так, активність СОД підвищується до  $3,7 \pm 0,3$  од. акт., що на 42,3% ( $p < 0,01$ ) перевищує величину четвертої серії. Активність ГSH-пероксидаза збільшується до  $88,4 \pm 5,2$  од. акт. Тобто на 35,8% ( $p < 0,01$ ) перевищує результат четвертої серії. Активність каталази підвищується до  $0,70 \pm 0,06$  од. акт., що на 34,6% ( $p < 0,002$ ) перевищує величину четвертої серії.

Введення мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію обмежує у спермі генерацію САР мітохондріальним (при стимуляції НАДН) і НАДФН-залежними ЕТЛ (НАДФН-цитохром  $P_{450}$  і НАДФН-цитохром  $B_{245(558)}$ ) - при стимуляції НАДФН) – відповідно до  $7,1 \pm 0,3$  пмоль/с  $\times 10^6$ , та  $5,7 \pm 0,6$  пмоль/с  $\times 10^6$ , що на 22,8% ( $p < 0,001$ ) та на 36,0% ( $p < 0,01$ ) поступається даним четвертої серії.

Застосування мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію зменшує у сперматозоїдах сумарну активність NOS – до  $7,1 \pm 0,9$  нмоль/хв  $\times 10^6$ , що на 65,7% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії.

Введення мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію знижує концентрацію ТБК-активних сполук – до  $111,4 \pm 5,7$  пмоль/л  $\times 10^6$ , що на 22,3% ( $p < 0,02$ ) поступається даним четвертої серії.

Введення мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво не впливає на середнє число сперматозоїдів у порівнянні з даними четвертої серії.

У той же час істотно зменшується кількість нежиттєздатних сперматозоїдів - до  $(27,5 \pm 1,02)\%$ , що на 39,6% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії. Число патологічних форм сперматозоїдів за цих умов знижується - до  $(30,0 \pm 1,92)\%$ , що на 40,0% ( $p < 0,001$ ) поступається величині четвертої групи. Серед патологічних форм сперматозоїдів, які утворюються за цих умов, відсутні клітини зі складними дефектами (змішані аномалії та нерозділені сперматозоїди), відповідно збільшився відсоток клітин з аномаліями шийки та середньої частини (набухання та зморщування) та хвоста (відсутність, подвоєння) у порівнянні з даними четвертої серії.

Введення мелатоніну за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво впливає на показники кінезіограми. Так, за цих умов збільшується відсоток сперматозоїдів із швидким поступальним рухом (50 мкм/с) (нормокінезія, категорія А) – до  $(67,1 \pm 6,8)\%$ , що на 52,5% ( $p < 0,02$ ) перевищує результат четвертої групи.

Зменшується число клітин з повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В) – до  $(20,6 \pm 1,8)\%$  та нерухомих сперматозоїдів (акінезія, категорія D) – до  $(6,9 \pm 0,5)\%$ , що відповідно на 27,5% ( $p < 0,01$ ) та 66,7% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої групи.



4. Вплив інгібітора активації NF-κB на окиснювальний метаболізм в сім'яниках і спермі та функціональний стан сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення

Внесення JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво обмежує генерацію CAP у тканинах сім'яників НАДН-залежним (мітохондріальним) ЕТЛ до  $17,1 \pm 1,1$  нмоль/г $\times$ с, що поступається на 35,0% ( $p < 0,001$ ) даним четвертої серії.

При цьому призначення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов поєданого впливу радіаційного та токсичного чинників суттєво не позначається на генерації CAP НАДФН-залежними ЕТЛ у тканинах сім'яників.

Застосування JSH-23 за умов експерименту збільшує активність ЦХО - до  $1,16 \pm 0,08$  од. акт., що на 103,5% ( $p < 0,001$ ) перевищує результат четвертої серії.

Введення JSH-23 за умов рентгенівського опромінення щурів під час 30-денного введення нітрату натрію зменшує сумарну активність NOS у тканинах сім'яників – до  $5,29 \pm 0,22$  мкмоль  $\text{NO}_2^-/\text{г}\cdot\text{хв.}$ , що на 26,5% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої групи. Відомо, що NF-κB контролює експресію iNOS (Vos T.A. et al., 1999).

За наведених вище умов концентрація нітрит-йонів також знижується - до  $0,24 \pm 0,02$  мкмоль/г, що на 36,8% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої групи. Вміст пероксинітриду в тканинах сім'яників зменшується до  $0,86 \pm 0,05$  мкмоль/г, що на 29,5% ( $p < 0,001$ ) поступається результату четвертої серії.

Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію зменшує концентрацію ТБК-реактивних до та після інкубації гомогенату сім'яників – відповідно до  $25,4 \pm 2,2$  мкмоль/кг та  $27,5 \pm 1,8$  мкмоль/кг, що поступається на 48,5% ( $p < 0,001$ ) та 55,4% ( $p < 0,001$ ) даним четвертої серії. Приріст ТБК-активних сполук за час 1,5-годинної інкубації у залізоаскорбатному буферному розчині зменшується до  $2,1 \pm 0,8$  мкмоль/кг, що поступається на 83,1% ( $p < 0,05$ ) даним четвертої серії та свідчить про збільшення антиоксидантного потенціалу

На покращення АО системи при застосуванні інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов експерименту вказує також збільшення активності АО ферментів. Так, активність СОД підвищується до  $4,5 \pm 0,2$  од. акт., що на 73,1% ( $p < 0,001$ ) перевищує величину четвертої серії. Активність каталази підвищується до  $0,84 \pm 0,09$  од. акт., що на 61,5% ( $p < 0,02$ ) перевищує величину четвертої серії. Проте активність GSH-пероксидаза не виявляє суттєвих змін.

Введення JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію обмежує у спермі генерацію CAP мітохондріальним (при стимуляції НАДН) і НАДФН-залежними ЕТЛ (НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> і НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>) - при стимуляції НАДФН) – відповідно до  $4,4 \pm 0,5$  пмоль/с $\times 10^6$ , та  $4,4 \pm 0,2$  пмоль/с $\times 10^6$ , що на 52,2% ( $p < 0,001$ ) та на 50,6% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії.

Застосування JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію зменшує у сперматозоїдах сумарну активність

NOS – до  $9,7 \pm 1,0$  нмоль/хв  $\times 10^6$ , що на 53,1% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії.

Введення інгібітора активації NF- $\kappa$ B JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію знижує концентрацію ТБК-активних сполук – до  $82,3 \pm 7,3$  пмоль/л  $\times 10^6$ , що на 42,6% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії.

Введення інгібітора активації NF- $\kappa$ B JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво не впливає на середнє число сперматозоїдів у порівнянні з даними четвертої серії. Проте за цих умов істотно зменшується кількість нежиттєздатних сперматозоїдів - до  $(24,5 \pm 1,34)\%$ , що на 46,2% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії.

Число патологічних форм сперматозоїдів за цих умов знижується - до  $(25,0 \pm 1,89)\%$ , що на 50,0 ( $p < 0,001$ ) поступається величині четвертої групи. Серед патологічних форм сперматозоїдів, які утворюються за цих умов, достовірно зменшується відсоток сперматозоїдів з аномаліями голівки – до  $(64,0 \pm 5,55)\%$ , що на 25,6% ( $p < 0,01$ ) поступається даним четвертої серії. Відповідно збільшився відсоток клітин з аномаліями шийки та середньої частини (набухання та зморщування), та хвоста (відсутність, подвоєння), нерозділених сперматозоїдів у порівнянні з даними четвертої серії.

Введення інгібітора активації NF- $\kappa$ B JSH-23 за умов рентгенівського опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію суттєво впливає на показники кінезіограми. Так, за наведених умов збільшується відсоток сперматозоїдів із швидким поступальним рухом (нормокінезія, категорія А) – до  $(70,6 \pm 6,5)\%$ , що на 60,5% ( $p < 0,01$ ) перевищує результат четвертої групи. Зменшується число клітин з повільним поступальним рухом (гіпокінезія, категорія В) – до  $(12,4 \pm 1,3)\%$  та нерухомих сперматозоїдів (акінезія, категорія D) – до  $(7,3 \pm 0,7)\%$ , що відповідно на 56,3% ( $p < 0,001$ ) та 64,7% ( $p < 0,001$ ) поступається даним четвертої серії. Число сперматозоїдів з коливальним невпорядкованим рухом (дискінезія, категорія С) – збільшується до  $(9,7 \pm 0,8)\%$ , що на 40,6% ( $p < 0,01$ ) перевищує результат четвертої групи, але достовірно не відрізняється від величини інтактних тварин.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і розв'язання наукової задачі, що полягає у з'ясуванні механізмів розвитку окисно-нітративного стресу у сім'яниках і сперматозоїдах та порушень функціонального стану останніх при поєднаній дії на організм рентгенівського опромінення та нітрату натрію.

1. 30-денна інтоксикація нітратом натрію (200 мг/кг 30 діб) та фракційне рентгенівське опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр виявляють спільні ланки патогенезу щодо надлишкової продукції у тканинах сім'яників щурів активних форм кисню й азоту - супероксидного аніон-радикала дихальним ланцюгом мітохондрій (відповідно на 22,0%,  $P < 0,02$ , та на 30,6%,  $p < 0,02$ ), нітрит-йонів (на 121,4%,  $p < 0,001$ , та на 28,6%,  $p < 0,001$ ) і пероксинітриту (на 55,9%,  $p < 0,001$ , та

на 44,1%,  $p < 0,001$ ), що супроводжується метаболічними розладами - зниженням активності цитохромоксидази (на 53,1%,  $p < 0,02$ , та на 34,3%,  $p < 0,05$ ), активацією пероксидного окиснення ліпідів.

2. Сукупна дія радіаційного та хімічного чинників мають спільні закономірності у розвитку окисно-нітративного стресу в спермі щурів: гіперпродукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним (на 54,2%,  $p < 0,001$ ) і НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> і НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>-залежними (на 58,1%,  $p < 0,001$ ) електронно-транспортними ланцюгами сперматозоїдів, активацією в них пероксидного окиснення ліпідів, що супроводжується подібними змінами кількісних і якісних показників сперми: зменшенням середнього числа сперматозоїдів (відповідно на 24,4%,  $p < 0,05$ , та на 28,3%,  $p < 0,02$ ), підвищенням кількості нежиттєздатних клітин (на 214,3%,  $p < 0,001$ , та на 238,1%,  $p < 0,001$ ), їх патологічних форм (переважання сперматозоїдів з аномаліями голівки та змішаними дефектами), порушенням рухливості сперматозоїдів.

3. Поєднана дія радіаційного та хімічного чинників потенціює негативні ефекти у сім'яниках (утворення пероксинітриту, розвиток декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, зменшує активність цитохромоксидази) та сперматозоїдах щурів (збільшує гіперпродукцію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, сумарну активність NO-синтаз та пероксидне окиснення ліпідів).

4. Фракційне рентгенівське опромінення під час 30-денного введення нітрату натрію супроводжується більш суттєвим (у порівнянні з ізольованою дією чинників) зниженням середнього числа сперматозоїдів, підвищенням кількості нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм (серед яких переважають сперматозоїди з аномаліями голівки), зменшенням активно-рухливих клітин з поступальним рухом (категорія А) та дискінетичних сперматозоїдів (категорія С) при прогресуючому підвищенні нерухомих сперматозоїдів (категорія D).

5. Введення мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла протягом 30 діб за умов поєднаної дії радіаційного та хімічного чинників обмежує генерацію супероксидного аніон-радикала у тканинах сім'яників дихальним ланцюгом мітохондрій (на 22,4%,  $p < 0,01$ ), підвищує в них активність цитохромоксидази (на 147,4%,  $p < 0,002$ ), зменшує сумарну активність NO-синтаз (на 45,7%,  $p < 0,002$ ), концентрацію пероксинітриту (на 24,6%,  $p < 0,01$ ), що супроводжується зменшенням утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, підвищенням у них активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (на 42,3%,  $p < 0,01$ ), каталази (на 34,6%,  $p < 0,002$ ), глутатіонпероксидази (на 35,8%,  $p < 0,01$ ).

6. Введення мелатоніну у дозі 0,3 мг/кг маси тіла протягом 30 діб за умов сукупної дії радіаційного та хімічного чинників обмежує генерацію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним (на 22,8%,  $p < 0,001$ ) і НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> і НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>-залежними (на 36,0%,  $p < 0,01$ ) електронно-транспортними ланцюгами сперматозоїдів щурів, зменшує сумарну активність NO-синтаз (на 22,3%,  $p < 0,02$ ) та утворення вторинних продуктів

пероксидного окиснення ліпідів, що супроводжується зменшенням відсотка нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм, відсутністю сперматозоїдів зі складними дефектами (нерозділених, зі змішаними аномаліями), збільшенням клітин із швидким поступальним рухом.

7. Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов поєднаної дії радіаційного та хімічного чинників обмежує у тканинах сім'яників генерацію супероксидного аніон-радикала дихальним ланцюгом мітохондрій (на 35,0%,  $p < 0,001$ ), зменшує в них сумарну активність NO-синтаз (на 26,5%,  $p < 0,001$ ), концентрацію пероксинітриту (на 29,5%,  $p < 0,001$ ), підвищує активність цитохромоксидази (на 103,5%,  $p < 0,001$ ), знижує концентрацію вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – ТБК активних сполук (на 48,5%,  $p < 0,001$ ), підвищує антиоксидантний потенціал та активність супероксиддисмутази (на 73,1%,  $p < 0,001$ ) та каталази (на 61,5%,  $p < 0,02$ ).

8. Введення інгібітора активації NF-κB JSH-23 за умов поєднаної дії радіаційного та хімічного чинників обмежує генерацію супероксидного аніон-радикала мітохондріальним (на 52,2%,  $p < 0,001$ ) і НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> і НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>-залежними (на 50,6%,  $p < 0,001$ ) електронно-транспортними ланцюгами сперматозоїдів щурів, зменшує сумарну активність NO-синтаз (на 53,1%,  $p < 0,001$ ) та утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – ТБК активних сполук (на 42,6%,  $p < 0,001$ ), знижує відсоток нежиттєздатних клітин та їх патологічних форм, збільшує число сперматозоїдів із швидким поступальним рухом.

### **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Чоловікам репродуктивного віку, які зазнають надмірний ятрогенний або промисловий вплив рентгенівського опромінення та тривале надходження до організму неорганічних нітросполук, доцільно рекомендувати щорічне сперміологічне дослідження, що включає визначення кількості, функціонального стану та життєздатності сперматозоїдів, а також показників окисно-нітративного стресу сперматозоїдів (оцінка утворення АФК, пероксинітриту, продуктів пероксидного окиснення ліпідів).

2. Проведені дослідження дозволяють вважати за доцільне подальше вивчення впливу мелатоніну та інгібіторів активації NF-κB як потенційних гонадопротекторів у чоловіків, які зазнають вплив іонізуючого опромінення та токсичних чинників.

3. На підставі проведених досліджень доцільно рекомендувати перегляд нормативної документації щодо встановлення рівня безпеки малих і середніх доз іонізуючого опромінення у залежності від поєднаної дії хімічних чинників.

### **СПИСОК РОБІТ, ЯКІ ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Шаталин Б.О. Состояние окислительного метаболизм семенников на фоне действия нитратной интоксикации и рентгеновского облучения/Б.О. Шаталин, В.А. Костенко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. - № 3 (37). – С. 56-61. (Особиста участь дисертанта – в аналізі літературних даних, в організації та проведенні досліджень, інтерпретації результатів, написанні статті).

2. Шаталін Б.О. Влияние мелатонина на окислительный метаболизм семенников на фоне действия нитратной интоксикации и рентгеновского облучения / Б.О. Шаталін, В.А. Костенко // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2014. – №3 (47). – С. 42-44. (Особиста участь дисертанта – в аналізі літературних даних, в організації та проведенні досліджень, інтерпретації результатів, написанні статті).

3. Шаталін Б.О. Показники функціонального стану сперми білих щурів за умов сукупної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення / Б.О. Шаталін, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2016. – Т.16, №3 – С. 192-195. (Особиста участь дисертанта – в аналізі літературних даних, в організації та проведенні досліджень, інтерпретації результатів, написанні статті).

4. Шаталін Б.О. Вплив інгібітора активації ядерного фактора κВ на функціональний стан сперми щурів за умов поєднаної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення / Б.О. Шаталін, В.О. Костенко // Світ мед. та біол. – 2016. – №3. – С. 158-161. (Особиста участь дисертанта – в аналізі літературних даних, в організації та проведенні досліджень, інтерпретації результатів, написанні статті).

5. Шаталін Б.О. Вплив інгібітору активації ядерного фактора κВ на окисний метаболізм у сім'яниках щурів за умов поєднаної дії на організм нітрату натрію та рентгенівського опромінення / Б.О. Шаталін, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2016. – Т.16, №4 (ч. 3). – С. 78-80. (Особиста участь дисертанта – в аналізі літературних даних, в організації та проведенні досліджень, інтерпретації результатів, написанні статті).

6. NF-κB-опосередковані ефекти NO-синтаз у патогенезі метаболічних розладів при надлишковому утворенні оксиду азоту / В.О. Костенко, Н.В. Соловйова, Б.О. Шаталін, Т.Г. Діхтенко, О.А. Левченко, Л.І. Ляшенко, Б.В. Сорокін, О.А. Стасюк / Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів : мат. наук.-практ. конф. (Тернопіль, 10–11 листопада 2011 р.) // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2012. – №1. – С. 186–187. (Безпосередньо здобувачу належать дані щодо ролі NF-κB- у патогенезі метаболічних розладів у сім'яниках за умов дії на організм нітрату натрію та іонізуючого опромінення).

7. Роль NF-κB-опосередкованих ефектів NO в механізмах метаболічних розладів при избыточном образовании оксида азота / Н.В. Соловьева, Л.И. Ляшенко, Б.О. Шаталін, В.В. Талаш, А.Н. Елинская // Актуальные проблемы патофизиологии: XVIII межгор. конф. мол. ученых. – СПб., 2012. – С. 114–116. (Безпосередньо здобувачу належать дані щодо ролі NF-κB- у механізмах NO-опосередкованих метаболічних розладів у органах чоловічої репродуктивної системи за умов дії на організм нітрату натрію та іонізуючого опромінення).

8. NF-κB- та NO-залежні механізми метаболічних розладів при надмірному утворенні в організмі оксиду азоту / В.О. Костенко, Н.В. Соловійова, Л.І. Ляшенко, В.В. Талаш, А.М. Єлінська, Б.В. Сорокін, Д.О. Хміль, Б.О. Шаталін // VI конгрес патофізіологів України : мат. // Таврический медико-биол. вестн. – 2012. – Т.15, №3 (ч. 2). - С.342-343. (Безпосередньо здобувачу належать дані щодо ролі NF-κB- та NO-синтаз у патогенезі метаболічних розладів у сім'яниках за умов дії на організм нітрату натрію та іонізуючого опромінення).

9. Шаталін Б.О. Коррекция мелатонином изменений прооксидантно-антиоксидантной системы семенников, вызванных нитратами и рентгеновским облучением / Б.О. Шаталін // Фундаментальная наука и клиническая медицина – Человек и его здоровье: VII Всерос. мед.-биол. конф. молодых исследователей (с международным участием): тезисы. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2014. – С. 509-510. (Фундам. наука клин. мед. - 2014. - Т. 17. - С. 509-510)

10. Шаталін Б.О. Влияние нитратной интоксикации и рентгеновского облучения на окислительные процессы в семенниках / Б.О. Шаталін, В.А. Костенко // Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека : VI нац. науч.-практ. конф. с международ. участием (Смоленск, 25-29 мая 2014 г.). – Смоленск, 2014. - С. 101-103. (Особиста участь дисертанта – в аналізі літературних даних, в організації та проведенні досліджень, інтерпретації результатів, підготовці доповіді).

11. Шаталін Б.О. Сперматограма при сумісній хронічній дії на щурів нітрат-іону та рентгенівського опромінення / Б.О. Шаталін // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : VIII науково-практичної конференції : матеріали (Тернопіль, 1-2 жовтня 2015 р.). – Тернопіль, 2015. – С. 103.

12. Механізми дизрегуляції системи оксиду азоту в організмі ссавців за умов надмірного надходження його донаторів /Б.О. Шаталін, В.О. Костенко, О.І. Белікова О.В. Богданов, І.О. Ковальова, Н.В. Соловійова, Ю.Д. Френкель, Д.О. Хміль, В.С. Черно // Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції : тези доповідей VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю (5-7 жовтня 2016 р.). – Харків : Вид-во НФаУ, 2016. – С. 119. (Безпосередньо здобувачу належать дані щодо механізмів порушення авторегуляції рівня активних форм азоту в органах чоловічої репродуктивної системи).

## АНОТАЦІЯ

**Шаталін Б.О. Роль активних форм кисню та азоту в механізмах ушкодження сім'яників і сперматозоїдів при поєднаній дії на організм рентгенівського опромінення та нітрату натрію. –Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет МОН України, м. Суми, 2017.

В роботі проведена оцінка результатів експериментальних досліджень поєднаної дії на організм лабораторних щурів рентгенівського опромінення та нітрату натрію за показниками розвитку окисно-нітративного стресу в

сім'яниках та спермі.

*На основі проведених досліджень встановлено особливості поєднаної дії на організм лабораторних щурів фракційного рентгенівського опромінення в сумарній дозі 0,24 Гр та нітрату натрію, що виражається в розвитку негативних ефектів у сім'яниках утворенні пероксинітриту, розвитку декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів, зменшенні активності цитохромоксидази) та сперматозоїдах щурів (збільшенні гіперпродукції супероксидного аніон-радикала мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, сумарної активності NO-синтаз та пероксидного окиснення ліпідів.*

*Показано, що введення мелатоніну та інгібітора активації ядерного фактора κВ (NF-κВ) JSH-23 за умов експерименту обмежує у тканинах сім'яників генерацію супероксидного аніон-радикала дихальним ланцюгом мітохондрій, зменшує сумарну активність NO-синтаз, концентрацію нітрит-йонів і пероксинітриту, пероксидне окиснення ліпідів, підвищує антиоксидантний потенціал та активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази та каталази.*

Проведені дослідження дозволяють вважати за доцільне подальше вивчення впливу мелатоніну та інгібіторів активації NF-κВ як потенційних гонадопротекторів у чоловіків, які зазнають впливу іонізуючого опромінення та дії токсичних чинників.

**Ключові слова:** рентгенівське опромінення, неорганічні нітросполуки, гонадопротектори, мелатонін, інгібітори активації NF-κВ.

## **АННОТАЦІЯ**

**Шаталин Б.О. Роль активних форм кислорода и азота в механизмах повреждения семенников и сперматозоидов при сочетанном действии на организм рентгеновского излучения и нитрата натрия. – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Сумской государственной университет МОИ Украины, г. Сумы, 2017.

В работе проведена оценка результатов экспериментальных исследований комбинированного действия на организм лабораторных крыс рентгеновского облучения и нитрата натрия по показателям развития окислительно-нитративного стресса в семенниках и сперме. На основании проведенных исследований установлены особенности комбинированного действия на организм лабораторных крыс фракционного рентгеновского облучения в суммарной дозе 0,24 Гр и нитрата натрия, что выражается в развитии негативных эффектов в семенниках - образовании пероксинитрита, развитии некомпенсированного пероксидного окисления липидов, уменьшении активности цитохромоксидазы) и сперматозоидах крыс (увеличении гиперпродукции супероксидного анион-радикала митохондриальной электронно-транспортной цепью, суммарной активности NO-синтаз и пероксидного окисления липидов.

*Показано, что введение мелатонина в дозе 0,3 мг/кг массы тела в течении 30 суток при условиях комбинированного действия радиационного и химического факторов ограничивает генерацию супероксидного анион-радикала в тканях семенников дыхательной цепью митохондрий, повышает в них активность цитохромоксидазы, уменьшает суммарную активность NO-синтаз, концентрацию нитрит-ионов и пероксинитрита, что сопровождается уменьшением образования вторичных продуктов пероксидного окисления липидов, повышением в них активности антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы. В сперме ограничивается генерация супероксидного анион-радикала митохондриальным и НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> и НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>-зависимыми электронно-транспортными цепями сперматозоидов крыс, уменьшается суммарная активность NO-синтаз и образование вторичных продуктов перекисного окисления липидов, что сопровождается уменьшением процента нежизнеспособных клеток и их*



*патологических форм, отмечается отсутствие сперматозоидов со сложными дефектами (неразделенных, со смешанными аномалиями), увеличение клеток с быстрым поступательным движением.*

Обнаружено, что введение ингибитора активации NF-κB JSH-23 при условиях комбинированного действия радиационного (фракционное рентгеновское облучение в суммарной дозе 0,24 Гр) и химического (30-дневная интоксикация нитратом натрия) факторов ограничивает в тканях семенников крыс генерацию супероксидного анион-радикала дыхательной цепью митохондрий, уменьшает в них суммарную активность NO-синтаз, концентрацию нитрит-ионов и пероксинитрита, повышает активность цитохромоксидазы, снижает концентрацию вторичных продуктов перекисного окисления липидов, повышает антиоксидантный потенциал, активность супероксиддисмутазы и каталазы. В сперме ограничивается генерация супероксидного анион-радикала митохондриальным и НАДФН-цитохром P<sub>450</sub> и НАДФН-цитохром B<sub>245(558)</sub>-зависимыми электронно-транспортными цепями сперматозоидов крыс, уменьшается суммарная активность NO-синтаз и образование вторичных продуктов перекисного окисления липидов, что сопровождается уменьшением процента нежизнеспособных клеток и их патологических форм, отмечается отсутствие сперматозоидов со сложными дефектами (неразделенных, со смешанными аномалиями), увеличение клеток с быстрым поступательным движением.

Проведенные исследования позволяют считать целесообразным дальнейшее изучение влияния мелатонина и ингибиторов активации NF-κB как потенциальных гонадопротекторов у мужчин, подвергающихся влиянию ионизирующего облучения и действия токсичных факторов химической природы. Предложены мероприятия, направленные на раннее выявление последствий неблагоприятного влияния комбинированного действия химических факторов и рентгеновского облучения.

**Ключевые слова:** рентгеновское облучение, неорганические нитросоединения, гонадопротекторы, мелатонин, ингибиторы активации NF-κB.

## **SUMMARY**

**Shatalin B.O. Reactive oxygen and nitrogen species in mechanisms damaging testicles and sperm cells under the whole body exposure to combined effects of X-ray irradiation and sodium nitrate. - Manuscript.**

Thesis for Candidate of Medical Sciences degree on Speciality 14.03.04 - Pathological Physiology. - Sumy State University, Ministry of Education and Science of Ukraine. – Sumy, 2017.

This paper represents the evaluation of the results obtained in the experimental studies of effects produced by combined X-ray irradiation and sodium nitrate on testicles and sperm cells of the laboratory rats. The effects were assessed by the indices demonstrating the dynamics of oxidative and nitrative stress.

The studies have demonstrated the peculiarities of combined action produced by fractional X-ray irradiation in a total dose of 0.24 Gy and sodium nitrate on the bodies of laboratory rats that are manifested by the development of the following adverse effects in the testes as peroxyxynitrite formation, decompensated lipid peroxidation, and reduced activity of cytochrome oxidase. The adverse effects observed in the sperm cells of the rats include increasing overproduction of superoxide anion radical by mitochondrial electron transport chain, the total activity of NO-synthase and lipid peroxidation.

It has been shown the administration of melatonin and nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) inhibitor JSH-23 in experimental conditions significantly reduces testicular superoxide anion radical generation by mitochondrial respiratory chain, total NO-synthase activity, nitrite ions and peroxyxynitrite concentration, increases lipid peroxidation, decreases antioxidant capacity and activity of antioxidant enzymes – superoxide dismutase and catalase.

The studies carried out suggest that further study of the gonado-protective properties of melatonin and inhibitors of NF- $\kappa$ B activation would be of particular clinical importance as they could reduce the damaging effects produced by ionizing radiation and some other toxic factors on the human body.

**Key words:** X-ray irradiation, inorganic nitro compounds, gonado-protective properties, melatonin, inhibitors of NF- $\kappa$ B activation.

#### ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АО	антиоксидант, антиоксидантний
АФА	активні форми азоту
АФК	активні форми кисню
ЕТЛ	електронно-транспортний ланцюг
НАДН	нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений
НАДФН	нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений
ПОЛ	пероксидне окиснення ліпідів
САР	супероксидний аніон-радикал
СОД	супероксиддисмутаза
ТБК	тіобарбітурова кислота
цАМФ, цГМФ	циклічний аденозин- та гуанозинмонофосфат
ЦХО	цитохромоксидаза
NOS (nNOS, eNOS, iNOS)	синтаза оксиду азоту (нейрональна, ендотеліальна, індуцибельна)
NF- $\kappa$ B	транскрипційний ядерний фактор $\kappa$ B

Підписано до друку 03.05.2017р. Формат 60x84/16  
Папір офсетний. Гарнітура times New Roman  
Друк офсетний. Умовно-друк. арк. 0,9  
Тираж 100. Зам. 56

Видавництво ФОП Гонтар О.В.  
36000, м. Полтава, вул. Шевченко, 27, тел. 509871

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру  
Серія ВО1 №595616 від 05.01.2006 р.