

УДК: 591.463:57.044

**І.С. Волошина****ЗМІНИ ГІСТОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ САМЦІВ ПІСЛЯ ІНГАЛЯЦІЙНОГО ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ТОЛУОЛУ***Державний заклад «Луганський державний медичний університет»*

**Волошина І.С.** Зміни гістологічної будови внутрішніх органів репродуктивної системи статевозрілих щурів самців після інгаляційного впливу на організм толуолу // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 1. – С. 140-144.

У представленій роботі наведені дані про гістологічну будову сім'яників, над'ячок, сім'явиносної протоки, передміхурової залози, сім'яних пухирців статевозрілих щурів, які в експерименті зазнавали впливу толуолу. Дані, отримані в ході дослідження, дозволяють стверджувати, що в умовах впливу на організм вказаного ксенобіотика в каналцях сім'яників спостерігається дезінтеграція сперматогенного епітелію, помірна вакуолізація клітин Лейдіга та Сертолі, незначне зниження індексу сперматогенезу, зменшення секреції передміхурової залози та помірне зниження висоти її епітелію та епітелію сім'яних пухирців.

**Ключові слова:** репродуктивна система, мікроскопія, толуол, щур.

**Волошина И.С.** Изменения гистологического строения внутренних органов репродуктивной системы половозрелых крыс самцов после ингаляционного воздействия на организм толуола // Украинский медицинский альманах. – 2014. – Том 17, № 1. – С. 140-144.

В представленной работе приведены данные о гистологическом строении семенников, придатков яичек, семявыносящего протока, предстательной железы, семенных пузырьков половозрелых крыс, которые в эксперименте испытывали влияние толуола. Данные, полученные в ходе исследования, позволяют утверждать, что в условиях воздействия на организм указанного ксенобиотика в канальцах семенников наблюдается дезинтеграция сперматогенного эпителия, умеренная вакуолизация клеток Лейдига и Сертоли, незначительное снижение индекса сперматогенеза, уменьшение секреции предстательной железы и умеренное снижение высоты ее эпителия и эпителия семенных пузырьков.

**Ключевые слова:** репродуктивная система, микроскопия, толуол, крыса.

**Voloshina I.S.** Changes in the histological structure of the internal organs of the reproductive system of immature rats after inhalation exposure to toluene // Украинский медицинский альманах. – 2014. – Том 17, № 1. – С. 140-144.

The present study shows the histological structure of the testis, epididymis, vas deferens, prostate, seminal vesicles of immature rats in the experiment were exposed to toluene. Data obtained in the study suggest that in terms of the effects on the xenobiotic observed that in the tubules of the testes there is disintegration of seminiferous epithelium, moderate vacuolization of Leydig and Sertoli cells, slight decrease of the spermatogenesis index, reduced secretion of the prostate gland, and a moderate decrease in the height of its epithelium and the epithelium of the seminal vesicles.

**Key words:** reproductive system, microscopy, toluene, rat.

**Вступ.** Основним з ризиків для здоров'я населення за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я є забруднення навколишнього середовища [11]. Перелік токсичних сполук натурального та штучного походження розширюється щорічно і складає тисячі назв. Особливе місце серед екополютантів займають епоксидні смоли, що широко застосовуються в народному господарстві, в авто- та суднобудуванні, нафтової промисловості; використовуються для одержання лакофарбових покриттів, клеїв, ливарних та просочувальних компаундів [1, 2].

Світове виробництво епоксидних смол перевищує 1 млн. тон на рік. У процесі застосування епоксидних матеріалів у робочу зону можуть потрапляти леткі компоненти смол, а також аерозолі вихідних і проміжних продуктів синтезу. Залежно від виду епоксидної смоли в складі комплексу летких речовин можуть виділятися толуол, епіхлоргідрин (ЕХГ), фенол, формальдегід, резорцин, анілін, діетиленгліколь та інші [3, 9].

Дані літератури про токсичне пошкоджен-

ня чоловічої репродуктивної системи після впливу на організм толуолу досить суперечливі і потребують поглибленого вивчення. Тому, доцільним є вивчення закономірностей морфогенезу органів чоловічої статеві системи після інгаляційного впливу на організм статевозрілих щурів толуолу.

**Зв'язок з науковими темами і планами.**

Презентована робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень ДЗ «ЛугДМУ» та є частиною наукової теми кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом летучих компонентів епоксидних смол» (номер державної реєстрації – 0109U004615).

**Мета дослідження** полягає у вивченні гістологічної будови внутрішніх органів репродуктивної системи (сім'яники, над'ячка, сім'явиносна протока, передміхурова залоза, сім'яні пухирці) статевозрілих щурів у віддалені терміни після інгаляційного впливу толуолу.

**Матеріал і методи.** Експериментальне дослідження виконано на 60 білих щурах-

самцях, які були введені в експеримент у віці 12 тижнів та початкова маса яких становила 130-150 г. Тварини були отримані з віварію ДЗ «ЛугДМУ». Утримання та маніпуляції над тваринами виконувались відповідно до основних етичних принципів у сфері біоетики, що викладені у положенні «Общих этических принципов экспериментов на животных», затверджених I Національним конгресом з біоетики [6], у «Європейській конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», що була ратифікована у 1985 році у Страсбурзі [10], згідно стандарту ідентичному міжнародному документу OECD Test № 421 «Reproduction / Developmental Toxicity Screening Test» (ОЕСР Тест № 421 «Скринінгове дослідження репродуктивної/ембріональної токсичності») [4] та вимогам Міжнародного комітету з лабораторних тварин, Міжнародної федерації з захисту тварин та вітчизняними інструктивними документами [8], а також відповідно до рекомендацій «Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень» [5].

Щури були розділені на контрольну та експериментальну серії (серія II). Контрольну серію (К) склали інтактні щури. Серія II була представлена щурами, які зазнавали інгаляційного впливу толуолу у концентрації 500 мг/м<sup>3</sup> протягом 60 днів, 5 днів на тиждень, 5 годин на добу. Толуол, що використовувався в експерименті було вироблено на ЗАТ «Макрохім» (Київ, Україна), ГОСТ 5789-78. Партія №86. Такі умови створювалися за допомогою спеціальної установки, яка складається з затраточної камери та камери, у якій створювалася та підтримувалася необхідна концентрація діючої речовини; датчика толуолу та допоміжного оснащення. Кожна серія тварин була розділена на п'ять груп (по 6 щурів в кожній) у відповідності з терміном виведення тварин з експерименту на 1, 7, 15, 30 та 60 доби після припинення впливу толуолу.

Після закінчення досліду тварин зважували на лабораторних вагах та виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом, дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту». Органи вилучали єдиним комплексом з навколишньою жировою тканиною і ретельно препарували та зважували на аналітичних вагах ВЛА-200 з точністю до 1 мг.

Фіксацію органів проводили у 10% розчині нейтрального формаліну з подальшим промиванням проточною водою та зневоднюванням у батареї спиртів зростаючої концентрації по загально-прийнятій методиці. Матеріал заливали в парафінові блоки. На санному мікроскопі отримували зрізи, товщиною 4-5 мкм. Фарбування здійснювали гематоксилін-еозином.

Деталі гістологічної будови зрізів внутрі-

шніх органів статеві системи щурів вивчали за допомогою мікроскопа Olympus BX-41 з використанням об'єктивів Plan 4<sup>x</sup> ∞/-, Plan 10<sup>x</sup> x/0.25, Plan 40<sup>x</sup> x/0.65 ∞/0.17. Морфометричне дослідження об'єктів проводили на комп'ютерному комплексі. Для отримання параметрів об'єктів, що вивчалися цифрові зображення завантажували в програму «Master of Morphology, 2008» [7].

Гістоморфометричний аналіз ячок був проведений на тонких зрізах сім'яників, забарвлених гематоксилін-еозином з використанням програми для аналізу графічних зображень «Olympus». Аналіз полягав у визначенні діаметру звивистих сім'яних каналців, висоти епітелію каналця, індексу сперматогенезу, визначенні відносної кількості ендокриноцитів та розміру їх ядер. Для дослідження над'ячок використовувались поперечні зрізи голівки, забарвлені гематоксилін-еозином. Вивчалися діаметр просвіту придатка та висота епітелію придатка. Гістоморфометричне дослідження передміхурової залози полягало у визначенні діаметру ядер клітин залозистого епітелію передміхурової залози. Дослідження сім'яних пухирців проводили по поперечних зрізах забарвлених гематоксилін-еозином. Вивчали висоту епітелію сім'яних пухирців. Внутрішню структуру сім'явиносної протоки вивчали на поперечних зрізах з середньої частини органу, що були забарвлені гематоксилін-еозином. Оцінювали такі параметри як максимальний діаметр просвіту протоки та висоту епітелію.

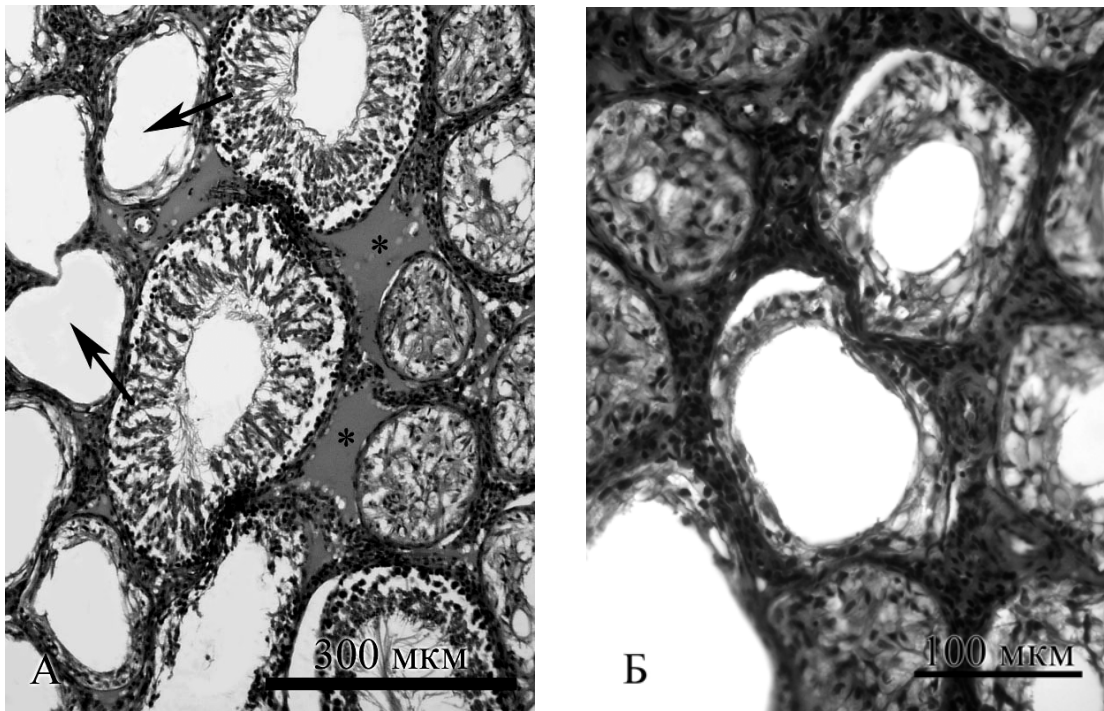
За допомогою статистичних методів дослідження з використанням програми «Basic Statistic.6.0» визначали середню, середнє квадратичне відхилення варіант в кожній групі, критерій Ст'юдента (t). При визначенні різниці між середніми показниками достовірною вважали статистичну похибку менше за 5% (p<0,05). Коефіцієнт Ст'юдента та рівень значущості виражали як p1 та t1 відповідно при порівнянні значень груп контрольної та експериментальної серії.

**Результати дослідження.** В експериментальній групі статевозрілих тварин, які зазнавали інгаляційного впливу толуолу, на рівні світлової мікроскопії в перші терміни після закінчення дії толуолу в сім'яниках щурів більшість сім'яних каналців зберігають будову, близьку до звичайної. Однак, поряд з цим, спостерігається інтерстиціальний набряк, сплюснення деяких епітелію, дисконфlekтація сперматогенного епітелію, помірна вакуолізація клітин Сертолі (рис. 1). Але, слід зауважити, що ці зміни поодинокі. Так, в переважній більшості кількість каналців із проявами сперматогенезу збережені.

Діаметр сім'яних каналців сім'яників щурів, що в експерименті зазнавали інгаляційного впливу толуолу, на 7 добу після припинення дії екоплютанту дорівнював 228,11 мкм, що

на 12,4% нижче за показники контрольної од-  
ноименної групи ( $p=0,001$ ). Поряд зі зменшен-  
ням діаметру каналців зменшується і товщи-  
на їх епітелію. Так, наприклад, у тварин 1 та 2  
груп II серії вона дорівнювала 142,41 мкм та  
144,73 мкм відповідно, що становить 81,1%  
( $p=0,003$ ) і 81,4% ( $p=0,009$ ) по відношенню до  
показника відповідної контрольної групи. Від-  
носна кількість клітин Лейдіга та діаметр їх  
ядер зберігає тенденцію до зменшення. Відно-  
сна кількість клітин Лейдіга у тварин 1 та 2

груп II серії була вірогідно меншою в порів-  
нянні із контролем відповідно на 17,35% ( $p$   
 $=0,001$ ) та 17,28% ( $p=0,006$ ), а діаметр ядер  
цих клітин - на 12,22% ( $p=0,062$ ) та 12,23% ( $p$   
 $=0,032$ ) (див. таблицю). Середній показник  
індексу сперматогенезу у тварин II серії був  
зафіксований на рівні  $2,93 \pm 0,23$ . Вірогідне  
зниження індексу сперматогенезу було відмі-  
чено на 1, 7, 15 та 60 доби після припинення  
дії толуолу.



**Рис. 1.** (А) Яечко статевозрілого щура II експериментальної серії. \* - інтерстиціальний набряк, стрілки – спустошені каналці. (Б) Зріз сім'яника статевозрілого щура II серії. Канальці з дезінтегрованим епітелієм. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

**Таблиця.** Характеристика клітин Лейдіга статевозрілих тварин контрольної серії та щурів, які зазнавали впливу толуолу

Серія	Група	Діаметр ядра клітини Лейдіга (мкм)						Відносна кількість ендокриноцитів (%)					
		Mean	SD	max	min	t1	p1	Mean	SD	max	min	t1	p1
К	1	6,22	0,68	7,06	5,08	-	-	10,95	0,56	11,44	9,86	-	-
	2	6,38	0,24	6,60	6,02	-	-	10,53	0,88	11,44	8,91	-	-
	3	6,41	0,26	6,80	6,16	-	-	11,65	1,44	13,10	9,27	-	-
	4	5,98	0,95	6,73	4,22	-	-	10,86	0,41	11,26	10,23	-	-
	5	6,29	0,32	6,57	5,67	-	-	12,02	0,53	12,83	11,52	-	-
II	1	5,46	0,57	6,03	4,48	2,11	0,062	9,05	0,83	9,82	7,47	4,64	0,001*
	2	5,60	0,72	6,27	4,29	2,49	0,032*	8,71	0,90	9,63	7,15	3,52	0,006*
	3	5,67	0,24	5,90	5,24	5,08	0,001*	9,77	1,26	10,92	7,48	2,42	0,036*
	4	5,30	0,47	5,82	4,46	1,57	0,148	9,16	0,39	9,54	8,46	7,37	0,001*
	5	5,62	0,61	6,37	4,59	2,40	0,038*	10,17	0,90	11,16	8,55	4,34	0,001*

При гістологічному дослідженні каналців над'ячка тварин, які зазнавали протягом 60 діб інгаляційного впливу толуолу, звертає на себе увагу те, що більшість каналців над'ячка зберігають структуру подібну до тієї, що притаманна статевозрілим тваринам контрольної серії. Однак, на тлі збережених каналців виявляються каналці без вмісту

сперматозоїдів, із потоншеним епітелієм та помірно вираженим розшаруванням інтерстицію. Просвіти таких каналців розширені.

Після припинення дії толуолу на 1 та 30 доби діаметр просвіту каналця над'ячка вірогідно збільшувався. Так, показник дорівнював відповідно 164,22 мкм та 162,27 мкм, що порівняно з контрольними значеннями більше

на 17,99 мкм і 16,67 мкм, що у відсотках складає 12,3% ( $p=0,033$ ) та 11,45% ( $p=0,027$ ). Поряд зі зниженням висоти епітелію в яєчках, зменшується товщина епітелію каналців над'яєчка тварин II серії. Так, наприклад, на 1 добу і 30 діб після припинення дії екополютанту вона становила 40,96 мкм та 39,27 мкм, що нижче за контроль на 11,63% ( $p=0,018$ ) і 10,24% ( $p=0,023$ ) відповідно.

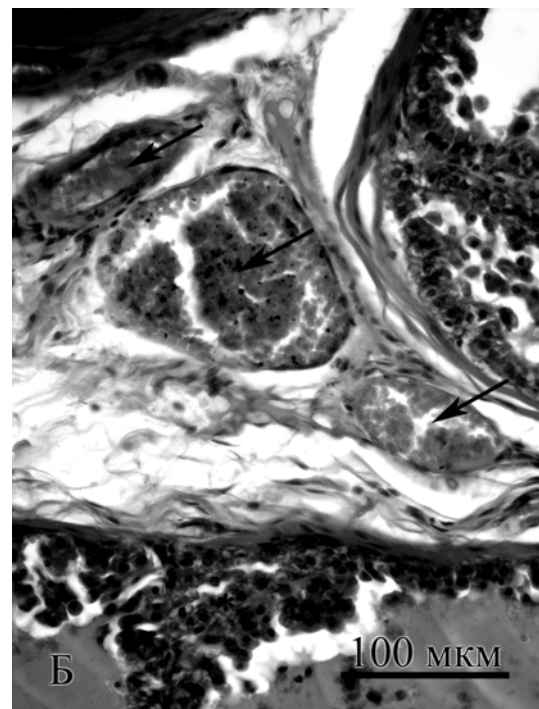
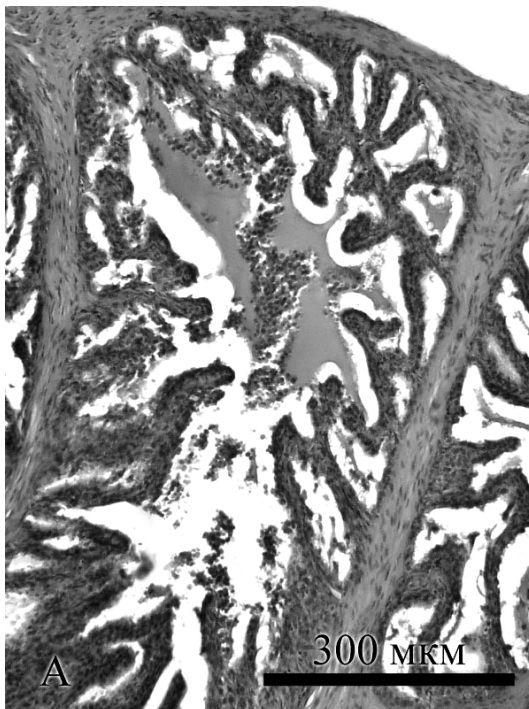
При дослідженні сім'явиносної протоки шурів, які зазнавали інгаляційного впливу толуолу в експерименті, суттєвих змін нами визначено не було. Але, все ж таки, деякі зрізи проток відрізнялись від зрізів протоки тварин контрольної серії. Так, під впливом толуолу максимальний діаметр сім'явиносної протоки збільшується, за рахунок втрати складчастості епітелію, товщина епітелію протоки зменшується, в просвіті відсутні сперматоцити. В деяких місцях зустрічається руйнування стереоцилій та розшарування м'язової стріми протоки.

Діаметр просвіту протоки та 15 добу після припинення інгаляційної дії толуолу становив 278,73 мкм, що при порівнянні із значенням однойменної контрольної групи вище на 9,36% ( $p=0,053$ ). Вірогідне зменшення товщини епітелію сім'явиносної протоки було зафіксовано у шурів 1 та 4 груп. Так, значення цього показника шурів 1 групи дорівнювало 69,21 мкм, що менше показника відповідної групи

контрольної серії на 10,15% ( $p=0,002$ ), а тварин 4 групи - 71,33 мкм, що нижче даних однойменної групи контрольної серії на 9,36% ( $p=0,042$ ). Передміхурова залоза шурів, які знаходились в умовах інгаляційного впливу толуолу, має характерну будову: ззовні вона вкрита тонким сполучнотканинним шаром з невеликою кількістю гладком'язових волокон. Часточки представлені групами залоз, які складаються з кінцевих секреторних відділів і проточок. В перші доби після припинення дії толуолу звертає на себе увагу, що секреторні відділи скудно заповнені секретом різної щільності з клітинними елементами. Визначаються ознаки інтерстиціального набряку, розширення просвітів залоз та зменшення висоти епітелію.

Висота епітелію передміхурової залози, що зазнавали інгаляційного впливу толуолу на 1 та 7 доби після припинення дії фактора становила 18,95 мкм і 18,61 мкм відповідно, що вірогідно нижче за показники контрольної серії однойменних груп на 18,32% ( $p=0,01$ ) та 18,02% ( $p=0,001$ ).

В сім'яних пухирцях шурів, які піддавались впливу толуолу, на 1, 7 та 15 доби після припинення впливу екополютанту визначаються ознаки набряку інтерстицію, але більш виразні явища його розшарування. Деяка частина просвітів секреторних відділів запусіває, в просвітах з'являються злушені клітини епітелію (рис. 2).



**Рис. 2.** (А) Сім'яний пухирець статевозрілого шура контрольної серії. (Б) Сім'яний пухирець статевозрілого шура II експериментальної серії. \* - епітелій сім'яного пухирця, стрілки – судини інтерстицію. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

Після інгаляційного впливу толуолу на організм статевозрілих шурів протягом 2 місяців, зменшується висота епітелію сім'яних пухирців. При порівнянні з показниками одноймен-

них груп контрольної серії зменшення становило: на 1 день після припинення дії толуолу висота епітелію сім'яних пухирців зменшилась на 16,48% ( $p=0,004$ ), через 7 діб - на 16,42%

( $p=0,024$ ), на 15 добу - зниження зафіксовано на рівні 16,23% ( $p=0,034$ ), на 30 добу після припинення дії толуолу висота епітелію була меншою за показник контрольної серії відповідної групи на 15,39% ( $p=0,002$ ), а на 60 добу – на 14,71% ( $p=0,031$ ). Просвіт сім'яних пухирців шурів після виглядає розширеним, в ньому визначається густий секрет.

**Висновки:** В ході проведеного дослідження нами було встановлено, що в умовах тривалого впливу толуолу в каналцях сім'яників статевозрілих шурів спостерігається дезінтеграція гермінативного епітелію, помірна вакуо-

лізація клітин Лейдіга та Сертолі, незначне зниження індексу сперматогенезу, зменшення секретії передміхурової залози та помірне зниження висоти епітелію, що на 60 добу після закінчення дії толуолу за рахунок компенсаторно-приспосувальних реакцій з боку епітелію та продукції секрету відновлюється.

**Перспективи подальших досліджень.** Наступним дослідженням буде вивчення ультрамікроскопічної будови внутрішніх органів статевої системи статевозрілих шурів після інгаляційного впливу на організм толуолу.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. **Высоцкий И.Ю.** Фармакологическая регуляция активности ферментов, принимающих участие в метаболизме эпоксидных соединений / И.Ю. Высоцкий // Вісник СумДУ .- 2002. - №8(41). – С. 5-12.
2. **Давыдова Н.С.** Роль генетических маркеров крови АВО-НLA-систем в формировании повышенной чувствительности организма к производственному аллергену эпихлоргидрину / Н.С. Давыдова, Г.М. Бодиенкова // Медицина труда и промышленная экология. – 2002. - №11. – С. 16-19.
3. К вопросу о нормировании модифицированной к вопросу о нормировании модифицированной эпоксидной смолы марки уп-666-4 в воздухе рабочей зоны / **Т.Е. Теплова, Е.В. Богатырева, Я.Б. Ли [и др.]** // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2005. - № 2. – С.84-88.
4. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод) // Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС). – Москва, Стандартинформ. – 2013. – 18 с.
5. **Мішалов В.Д.** Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковський, І.В. Твердохліб // Морфологія. – 2007. – Т. 1, № 2. – С. 108-115.
6. Общие этические принципы экспериментов на животных: мат. I Национального конгресса по биотике. – К.: НАНУ. – 2001. – 16 с.
7. **Овчаренко В. В.** Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» / В.В. Овчаренко, В.В. Маврич // Свідотство про реєстрацію авторського права на твір № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
8. **Севко О.Л.** Етичні аспекти біомедичних досліджень з використанням експериментальних тварин / О.Л. Севко // Третій національний конгрес з білетики з міжнародною участю (8-11 жовтня 2007 р., м. Київ, Україна). – К., 2007. – С 139-140.
9. Состояние перекисного окисления липидов в организме животных при воздействии летучих компонентов эпоксидных смол / **К.Г. Каликин, И.Ю. Высоцкий, Т.Ф. Гречишкина, М.О. Сиротина** // Український медичний альманах. – 2008. - Том 11, № 6 (додаток). – С. 136.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes // Coun. of Europe, Strasbourg, 1986.-53p.
11. Stress induces glucocorticoid-mediated apoptosis of rat Leydig cells in vivo. / **C.Y. Cheng, Q. Wang, F.F. Wang [et all.]** // Stress. - 2012. - Vol. 15, № 1. - P. 74-78.

*Надійшла 12.12.2013 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін*