

© Н.А. Дмитренко, О.І. Цебржинський

УДК [612.018 + 616.681] – 092.9

Н.А. Дмитренко, О.І. Цебржинський

СТАН ЧОЛОВІЧОЇ СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ НЕСТАЧІ ТА НАДЛИШКУ МЕЛАТОНІНУ

Миколаївський національний університет імені В.О.Сухомлинського (м. Миколаїв)

Дана робота є фрагментом НДР «Вплив мелатоніну на функції систем організму», № держреєстрації 0106U002994.

Вступ. Мелатонін – це гормон епіфізу, який продукується також клітинами APUD-системи. В епіфізі мелатонін синтезується тоді, коли на очі не потрапляє світло внаслідок чого виникають суттєві зміни концентрації мелатоніну вдень та вночі, який зумовлює біологічні ритми організму. Як нейромедіатор мелатонін активує проведення нервових імпульсів та сприяє засинанню. Як гормон мелатонін блокує мітози, гальмує секрецію гормонів гіпоталамусу та гіпофізу, що знижує функцію гонад [1, 5].

Чоловіча репродуктивна система ссавців складається із сім'яників, деяких різних додаткових залоз та допоміжного апарату. Сім'яники виробляють мейозом сперматозоїди та як ендокринний орган – статевий гормон тестостерон. Вважається, що мелатонін гальмує в гіпоталамусі секрецію гонадотропінів, у гіпофізі – гонадотропінів, що зменшує продукцію тестостерону сім'яниками. У людини цикл сперматогенезу складає біля 74 ± 4 діб, у щурів – 48 ± 2 діб [7, 8]. Сперматогенез потребує в сім'яниках низького рівня неферментативного вільнорадикального перекисного окиснення за рахунок підвищеного рівня антиоксидантного захисту [3, 4, 7, 10, 11, 12].

В літературі більшість відомостей про вплив мелатоніну на репродуктивну систему стосується оваріального циклу. Майже зовсім не висвітлено вплив мелатоніну на прооксидантно-антиоксидантну систему сім'яників. Мелатонін впливає не тільки на секрецію гонадотропінів, але діє як антиоксидант, але майже не відомі зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу сім'яників в умовах різного забезпечення організму мелатоніном.

У попередніх публікаціях нами встановлено, що 10-денне витримання щурів при світлі сприяло в сім'яниках зменшенню вмісту дієних, активностей супероксиддисмутази й глутатіонпероксидази при збільшенні загальної протеолітичної активності. Запаси екзогенних низькомолекулярних антиоксидантів перешкоджають посиленню пероксидації в сім'яниках. Ми припустили, що цілодобове освітлення через нервову та ендокринну систему сприяє лабілізації лізосом, що призводить до збільшення загальної протеолітичної активності, внаслідок чого можливе руйнування протеолітичними ферментами білкових частин супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази; крім того, відсутність посилення пероксидації та нестача мелатоніну не стимулює на генному рівні синтез цих ферментів [1]. При дії

мелатоніну терміном 10 діб у дозі 1 мг/кг маси тіла на добу виявилось, що в сім'яниках вміст первинних (дієнові кон'югати) і вторинних (малоновий діальдегід) продуктів вільнорадикального перекисного окиснення суттєво не змінилися. Активність супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази достовірно була знижена, але активність каталази не змінилася, а загальна протеолітична активність суттєво збільшилася в гомогенаті сім'яників [5].

Метою дослідження було визначення функціонального стану сім'яників та передміхуровій залози за продукцією тестостерону у крові, активності тартратлабільної кислоти фосфатази та морфометрії спермів з додатків сім'яників.

Об'єкт і методи дослідження. Використані статевозрілі білі щури-самці лінії Wistar, масою біля 190 г. Для розвитку нестачі мелатоніну щурів витримували 10 діб при цілодобовому освітленні 1500 Лк [1]. Для створення в організмі щурів надлишку мелатоніну щурів витримували 10 діб у темряві, але додатково вводили рег ос мелатонін у дозі 1 мг/кг маси тіла на добу. Визначали у сироватці крові концентрацію тестостерону радіоімунологічно [6] набором TESTOK ("CEA-IRE-SORIN") та активність тартратлабільної кислоти фосфатази передміхуровій залози [2]. Визначення кількості сперматозоїдів, їх морфологічного та функціонального стану проводили за М.А.Базарною [9]. Придатки сім'яників розрізали й обережно суспензували кожний з 2 мл 0,9% розчину натрію хлориду. Одержану суспензію використовували для підрахунку кількості й оцінки функціонального стану сперматозоїдів. Суспензію сперматозоїдів набирали в меланжер до мітки 0,5 і доводили буферним розчином (до складу буферного розчину входили 5 г натрію бікарбонату, формалін і дистильована вода до 100 мл) до мітки 2, змішували і вносили до камери Горяєва. Підраховували кількість клітин у 5 великих квадратах і перемножували на 1000000. З метою визначення кинезисограми краплю суспензії сперматозоїдів переносили на предметне скло. У нативних препаратах за умов світлової мікроскопії з віконцем Фоніо серед 100 сперматозоїдів підраховували відсоток клітин із швидким поступальним рухом (50 мкм/сек) (нормокінезія), повільним поступальним рухом (гіпокінезія); нерухомих (акінезія) та коливальним неупорядкованим рухом (дискінезія). Життєздатність сперматозоїдів визначали за еозинним тестом. На предметне скло вміщували 1 краплю 1% розчину суспензії сперматозоїдів і одну краплю 1% розчину еозину, перемішували, накривали покривним склом і негайно піддавали мікроскопії. Підраховували 200

клітин і визначали серед них відсоток живих (незабарвлених) і мертвих (забарвлених у рожевий колір) сперматозоїдів. Для визначення відносної кількості патологічних форм сперматозоїдів краплю суспензії розподіляли на предметному склі, висушували, фіксували етанолом і фарбували 3% розчином гематоксиліну з еозином. Мазки досліджували з імерсійним об'єктивом мікроскопу. Патологічними формами спермій вважали ті, що мали ознаки набухання або зморщування голівки, шийки, відсутність або подвоєння хвоста, зростання хвоста з голівкою.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються

для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення. У сироватці крові щурів із 10-денною гіпомелатоніемією концентрація тестостерону та активність тартратлабільної кислоти фосфатази (ТКФ, маркер пошкодження передміхурової залози) суттєво не відрізнялися від значень норми (**табл.**). При 10-денній гіпомелатоніемії численність сперматозоїдів, відсутність хвоста в них, зростання хвоста з голівкою, подвоєння їх, набухання шийки та її зморщування кількісно не відрізнялися від норми.

Таблиця

Ефекти впливу 10-денного надлишку та нестачі мелатоніну на функціональний стан чоловічої статевої системи щурів

Показник	Інтактна група	Гіпомелатоніемія	Гіпермелатоніемія
Сироватка крові			
Тестостерон, нмоль/л	10,00 ± 4,76	9,66 ± 2,58	17,76 ± 2,78
ТКФ сироватки крові, Ум. од.	0,34 ± 0,09	0,38 ± 0,07	0,54 ± 0,03
p1 = 0,05			
Функціональний стан сім'яників			
Кількість сперматозоїдів,			
млн. x 106	57,42 ± 5,46	59,00 ± 4,00	63,81 ± 5,16
Нежиттєздатні форми сперматозоїдів, %	15,62 ± 2,81	21,10 ± 2,25	19,42 ± 2,56
Головка			
Набухання, %	5,20 ± 0,70	6,82 ± 1,65	5,01 ± 1,00
Зморщування, %	4,00 ± 0,50	5,62 ± 1,35	4,41 ± 1,05
Шийка			
Набухання, %	9,61 ± 1,05	7,40 ± 1,80	6,12 ± 2,00
Зморщування, %	6,80 ± 1,10	6,41 ± 1,05	5,21 ± 1,65
Хвіст			
Відсутність, %	4,00 ± 1,25	5,40 ± 1,20	6,62 ± 0,55 p1 < 0,1
Подвоєння, %	2,40 ± 1,05	4,21 ± 0,60	6,43 ± 1,55 p1 < 0,1
Зростання хвоста з голівкою, %	2,62 ± 0,70	4,81 ± 1,60	6,02 ± 1,63 p1 < 0,1

Примітка: % патологічних форм сперматозоїдів належить до загальної їх кількості, p < 0,05 не вказана.

У сироватці крові щурів з 10-денною гіпермелатоніемією концентрація тестостерону була за абсолютними цифрам у 2 рази більше норми, але ці зміни були недостовірними (**табл.**). Літературні відомості вказують, що мелатонін через зниження секреції гонадоліберинів гіпоталамусу й гонадотропінів гіпофізу сприяє зниженню секреції тестостерону клітинами Лейдига в сім'яниках. Але компенсаторні процеси не сприяли зниженню концентрації тестостерону невеликому за часом впливом надлишку мелатоніну. Тому ці тенденції накопичення та використання антиоксидантів врівноважуються. При 10-денній гіпермелатоніемії кількість сперматозоїдів та їх патологічних форм (набухання та зморщування

голівки, набухання та зморщування шийки) кількісно не відрізнялися від норми, але у 1,5–2,5 рази з тенденцією до достовірності збільшувалася кількість спермій з відсутністю хвоста, з подвоєнням хвоста та зростанням хвоста з голівкою.

Висновки. Таким чином, при 10-денній нестачі мелатоніну епіфізу суттєвих змін досліджуваних показників не встановлено, а при 10-денному надлишку мелатоніну у щурів на 40–50% збільшилась кількість сперматозоїдів з дефектами хвоста.

Перспективи подальших досліджень. Потребує подальшого дослідження запліднююча здатність щурів-самців з гіпо- та гіпермелатоніемією.

Список літератури

1. Дмитренко Н. Вплив гіпер- та гіпомелатоніемії на стан сім'яників щурів / Наталія Дмитренко, Олег Цебржинський // Вісник Луганського національного педагогічного університету імені Тараса Шевченка. – 2006. – № 13. – С.45–50.
2. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / [Под ред. В. Меньшикова и др.]. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
3. Почерняева В. Антиоксиданты и репродуктивная функция хряков-производителей / Виктория Почерняева, Виктор Коваленко // Зоотехника. – 1997. – № 2. – С. 27–29.
4. Почерняева В.Ф. Влияние антиоксидантов на показатели свободнорадикального окисления липидов в семенниках крыс разного возраста и репродуктивную способность при хронической полиантиоксидантной недостаточности / В.Ф. Почерняева, В.Н. Бобырев, О.Н. Воскресенский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1989. – № 2. – С. 229–231.
5. Прооксидантно-антиоксидантна система при хронічних гіпермелатоніемії та гіпомелатоніемії / О.І. Антонова, Н.А. Дмитренко, С.В. Семенчук [та ін.] // VI Міжнародні новорічні біологічні читання. – Миколаїв, 2006. – С. 83–87.
6. Резников А.Г. Методы определения гормонов / А.Г.Резников // Справочное пособие. – Киев : Наукова думка, 1980. – 385 с.
7. Репродуктивная эндокринология. Москва : [в 2 т.]. – М. : Медицина, 1998.
8. Рузен-Ранге Э. Сперматогенез у животных / Э. Рузен-Ранге. – М. : Медицина, 1980. – 272 с.
9. Руководство по клинической лабораторной диагностике: Учеб. пособие. Ч. 1-2. / М.А. Базарнова, А.И. Воробьев, З.С. Баркаган и др. / Под ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. – Киев: Вища школа, 1991. – 615 с.
10. Цебржинський О.І. Оксидативна активність у сперматозоїдів / О.І. Цебржинський // Фізіологічний журнал. – 2000. – № 4. – С.75–77.
11. Шостя А.М. Роль активних форм кисню в регуляції сперматогенезу та заплідненні у ссавців / А.М. Шостя, В.Ф. Коваленко, С.О. Усенко [та ін.] // Свилярство. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Полтава: Техносервіс, 2007. – С. 66–75.
12. Risbridger G.P., Kretser D.M. Paracrine Regulation of the Testis // The Testis. – N.-Y. : Raven Press. – 1989. – P. 255–268.

УДК [612.018 + 616.681] – 092.9

СТАН ЧОЛОВІЧОЇ СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ ПРИ НЕСТАЧІ ТА НАДЛИШКУ МЕЛАТОНІНУ

Дмитренко Н.А., Цебржинський О.І.

Резюме. Для утворення в організмі щурів надлишку мелатоніну щурів утримували 10 діб в темряві та додатково вводили per os мелатоніну в дозі 1 мг/кг маси тіла на добу. Визначали в сироватці крові концентрацію тестостерону радіоімунологічним методом та активність тартратлабільної кислоти фосфатази. При 10-денній нестачі мелатоніну епіфіза змін не виявлено, а при 10-денному надлишку мелатоніну у щурів на 40-50% збільшилась кількість сперматозоїдів з дефектами хвоста.

Ключові слова: мелатонін, надлишок, недостача, сім'яники, тестостерон.

УДК [612.018 + 616.681] – 092.9

СОСТОЯНИЕ МУЖСКОЙ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПРИ ИЗБЫТКЕ И НЕДОСТАТКЕ МЕЛАТОНИНА

Дмитренко Н.А., Цебржинський О.І.

Резюме. Для образования в организме крыс избытка мелатонина крыс выдерживали 10 суток в темноте и дополнительно вводили per os мелатонин в дозе 1 мг/кг массы тела на сутки. Определяли в сыворотке крови концентрацию тестостерона радиоимунологическим методом и активность тартратлабильной кислоты фосфатазы. При 10-дневной недостаточности мелатонина эпифиза существенных изменений не выявлено, а при 10-дневном избытке мелатонина у крыс на 40-50% увеличилось количество сперматозоидов с дефектами хвоста.

Ключевые слова: мелатонин, избыток, недостаточность, семенники, тестостерон.

UDC [612.018+ 616.681] - 092.9

Status Of The Male Reproductive System In Rats With An Excess And Deficiency Of Melatonin

Dmitrenko N., Tsebrzhinsky O.

Summary. For education in the organism of rats excess melatonin rats kept for 10 days in the dark and additionally administered per os melatonin dose of 1 mg/kg of body weight per day. Determined in blood serum concentration of testosterone радиоимунологическим method and activity тартратлабильной acid phosphatase. During the 10-day failure of melatonin epiphysis there were no significant changes, and with a 10-day abundance of melatonin in rats at 40-50% increase in the number of sperm defects in the tail.

Key words: melatonin, excess, failure, testicles testosterone.

Стаття надійшла 7.11.2011 р.