

– РОЗДІЛ 4 ЕКОЗООЛОГІЧНІ ТА
МЕДИКО-ЕКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ –

УДК 616.697:159.944.4:576.372

ПОРІВНЯЛЬНІ ЕКОЛОГО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
ЧОЛОВІЧОЇ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ В УМОВАХ
СТРЕСОГЕННОЇ НАПРУГИ

Романова М.Д., Бовт В.Д., Єщенко Ю.В.

Запорізький національний університет

rom-ma@ukr.net

В работе представлена краткая характеристика эколого-физиологических особенностей репродуктивной системы мужчин в условиях стрессогенного влияния. Исследовали 120 мужчин, которые были разделены на три группы, в зависимости от места проживания с разной степенью загрязнения воздуха: Хортицкий, Днепровский и Заводской районы; исследовались морфологические особенности клеток эякулята мужчин; определялись изменения показателей спермограммы обследованных.

Также исследовались 60 самцов белых половозрелых крыс. Из них 10 составили контрольную группу, другие находились на территории, тех же экологических районов г. Запорожье. Определялось состояние сперматогенеза у обследованных животных, находившихся в разных экологических условиях, и содержание хелатообразующего Zn в клетках спермы.

Установлено, что репродуктивный статус мужчин с нарушением нормального функционирования их системы из разных экологических районов г. Запорожья не имеет специфичности, а характеризуется тератоспермией, астенозооспермией, олигозооспермией, азооспермией.

Влияние антропогенного загрязнения воздуха снижает содержание Zn и, в свою очередь, вызывает нарушение мужской фертильности, что зависит от антропогенной экологической нагрузки на мужской организм.

Фертильность, загрязнение атмосферного воздуха, хелатообразующий цинк

Сучасне суспільство зазнає впливу різноманітних захворювань, патогенетичною основою яких є стрес. В умовах падіння народжуваності та високого рівня загальної смертності населення, проблема охорони репродуктивного здоров'я є не лише медичною, але й соціальною проблемою. Оцінка профілактичних заходів охорони репродуктивного здоров'я та спадковості сьогодні набуває особливої актуальності у зв'язку із зростаючим несприятливим впливом комплексу екологічних факторів [1, 2]. Дослідження останніх років показали, що частка впливу стану

репродуктивного здоров'я чоловіків на відтворення здорового потомства складає більше 50 %. Особливість «екологічних захворювань» полягає в тому, що вони здатні вражати не цілий організм, а лише окрему частину популяції [2, 3]. Це все набуває особливої актуальності в наш час саме тому, що разом зі збільшенням ступеня забруднення навколишнього середовища, спостерігається і зростання кількості патологічних процесів репродуктивної системи чоловіків [3].

Демографічна криза особливо актуальна в Україні і зараз. Більшість авторів пов'язують цю проблему саме з екологічним впливом на чоловічу фертильність [5]. Особливо це стосується тих факторів, що впливають на хелатоутворюючі метали. Зокрема, такий метал як цинк є есенціальним мікроелементом, який необхідний для багатьох важливих життєвих процесів (синтез і стабілізація нуклеїнових кислот та білків, контроль експресії генів, проліферація та диференціювання клітин, енергетичний обмін, імунний захист тощо) [4, 6].

Метою роботи було визначення взаємозв'язку між формуванням чоловічої безплідності та станом навколишнього середовища, а також вивчення вмісту хелатоутворюючого металу Zn в клітинах сперми.

Матеріали та методи досліджень

Було обстежено 120 чоловіків у віці 35 ± 14 років, які проживають у Хортицькому, Дніпровському та Заводському районах м. Запоріжжя, які характеризуються різним ступенем забрудненості атмосфери. У I-у групу (контрольну) входили результати обстеження еякуляту 40 чоловіків, які проживають у потенційно екологічно безпечному Хортицькому районі, що географічно віддалений від підприємств тяжкої промисловості, де ІЗА (індекс забруднення атмосфери) становить 0–5 т/добу [6, 7]. До другої дослідної групи (II) (Дніпровський район) було віднесено результати 25 осіб, де ІЗА дорівнює 5–7 т/добу, тобто спостерігається збільшений рівень забрудненості атмосферного повітря. Третю (III) дослідну групу сформували результати обстежень 55 чоловіків, що мешкають у Заводському районі, з найбільшим рівнем забруднення атмосфери у місті Запоріжжя та ІЗА дорівнює 7–14 т/добу [7].

Проведена мікро- та макроскопічна оцінка якості еякуляту, в якому визначали морфологічні зміни сперматозоїдів та частоту їх патологій, а також зміну усіх показників спермограми у

обстежених чоловіків Хортицького, Дніпровського та Заводського районів [4].

Матеріалом для дослідження були клітини сперматогенезу 60 білих статевозрілих самців щурів. Дослідження з використанням тварин проводили за вимогами ст.26 Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і принципів біоетики.

Для щурів були створені умови вдихання техногенно забрудненого атмосферного повітря, шляхом утримування тварин на територіях із високим ступенем забрудненості упродовж 15 та 30 діб. Тому було виділено 3 групи по 20 щурів у кожній: I – контроль, II – щури, які знаходились 15 діб у місцевості із високим ступенем забрудненості та III – 30 діб відповідно. Мікроскопічно досліджували кількість клітин зародкового епітелію, клітин Сертолі та клітин Лейдіга в сім'яниках щурів у нативних препаратах [4, 5].

Вміст цинку в клітинах сперми визначали цитохімічним методом за допомогою високочутливого металохромного індикатору дитизону, який рекомендований для цитохімічного визначення цього елемента [6, 7]. Використання зазначеного реагенту ґрунтується на його специфічній здатності утворювати комплекси з катіонами Zn^{2+} , вилучаючи його із клітинних цинквмісних біомолекул [6].

Статистичне опрацювання результатів проводили з використанням програмного пакету Statisc Soft 6,0.

Результати та їх обговорення

Проаналізувавши еколого-гігієнічні дані надані Головним управлінням статистики та Держуправлінням ОНПС в Запорізькій області, було визначено рівень забруднення повітряного басейну м. Запоріжжя відповідно до адміністративних районів [5]. До умовно екологічно чистого району віднесено Хортицький район, та за збільшенням значення індексу забруднення атмосферного повітря – Дніпровський, екологічно небезпечний – Заводський район [4].

За результатами проведених обстежень трьох груп чоловіків, що проживають у вище наведених районах міста, були визначені основні зміни параметрів спермограми. Визначено, що у I-й групі чоловіків усі параметри еякуляту відповідають нормі. Також у II-й

та у III-й групі такі показники, як об'єм, кількість в 1 мл та загальна кількість сперматозоїдів у межах допустимих норм ВООЗ. Проте інші показники такі, як рухливість сперматозоїдів, у 5 разів менше у II групі та у 1,7 у III-й групі чоловіків. При мікроскопічному дослідженні клітин сперматогенезу у II-й та III-й групах виявлено найбільше патологій головки сперматозоїдів – у 4,5 та майже у 3 рази, відповідно. Аналіз таких результатів дає пояснення ймовірної причини безпліддя більшості чоловіків у II-й та III-й групах, тому що сперматозоїди не можуть виконувати свої фізіологічні функції, внаслідок патології головки такі клітини не можуть проникнути у яйцеклітину, а також ймовірно несуть дефектний генетичний матеріал (табл. 1).

Таблиця 1 – Аналіз показників сперми, що впливають на фертильність чоловіків, які піддавалися різному антропогенному екологічному навантаженню

Table 1 – Analysis of sperm parameters, which affecting the fertility of men, who were subjected to various anthropogenic environment

Показник \ Група	I група (n=40)	II група (n=25)	III група (n=55)
Об'єм, мл	3,3±0,4	4,9±0,2*	4,1±0,5*
Кількість сперматозоїдів, млн	151,1±31,7	58,1±34,9*	91,4±33,3*
Рухливість сперматозоїдів, % :			
Група А	69,7±3,5	13,9±1,5**	41,8±2,5*
Група В	15,3±1,6	10,9±1,3**	13,1±1,45*
Група С	15,0±2,8	75,2±2,31*	45,1±2,5*
Морфологія клітин еякуляту, %:			
Норма	67,2±3,0	10,71±1,45*	39,0±2,2*
Патологія головки	16,9±1,7	76,5±1,8*	46,7±1,75*
Патологія шийки	4,2±1,0	4,1±0,43**	4,15±0,7*
Патологія хвоста	11,7±1,3	8,69±0,2**	10,15±0,75*

Примітка: * – різниця достовірна щодо контролю з $p < 0,05$; ** – різниця достовірна щодо контролю з $p < 0,01$; група А – сперматозоїди з швидким поступальним рухом (найперспективніші, з точки зору зачаття); група В – сперматозоїди з повільним поступальним рухом (менш перспективні, але їх кількість все ж враховується при визначенні фертильності чоловічої сперми); група С – сперматозоїди з непоступальним рухом (практично безперспективні, з точки зору природного запліднення)

Також було проведено порівняння морфологічних характеристик сперматозоїдів. Було встановлено, що зі збільшенням ступеня забруднення достовірно знижується кількість обстежених, які мають збережені клітини гаметогенезу [7–9]. Відмічено збільшення патологічних змін головки та шийки сперматозоїдів у II-й та III-й групах (ІЗА=5–7 та ІЗА=7–14 відповідно), порівняно з I-ю групою чоловіків, які проживають в екологічно-чистому районі [9].

Таблиця 2 – Зведені дані частоти патоспермій обстежених чоловіків із районів з різним ступенем забрудненості

Table 2 – Summary results of frequency of pathological humans spermatozoa from regions with different pollution level

Показник	Група		
	I група (n=40)	II група (n=25)	III група (n=55)
Олігозооспермія, %	31	13	10
Азооспермія, %	–	4	4
Тератозооспермія, %	49	69	72
Астеноспермія, %	10	14	14

Проаналізувавши дані патологій клітин еякуляту, які наведені у табл. 2, очевидно, що більша частина сперматозоїдів (навіть і у групі I) або майже вся їх кількість (у групі III), є морфологічно дефектними, за рахунок патологій головки, хвоста та шийки. Зважаючи на місце проживання та кількість таких форм спостерігається чітка закономірність із зростанням ІЗА. Решта параметрів у I-й групі в нормі. Проте у II-й та III-й групах була встановлена азооспермія. Повна відсутність сперматозоїдів у еякуляті спостерігалася у 28 чоловіків. Також у цих групах виявлена астенозооспермія, внаслідок аглютинації сперматозоїдів.

Отже отримані дані показали, що зі збільшенням забруднення атмосферного повітря, збільшується і число патологічних відхилень параметрів еякуляту [7, 8].

Також було проведено визначення вмісту хелатоутворюючого цинку у сперматозоїдах чоловіків трьох різних районів м. Запоріжжя (рис. 1).

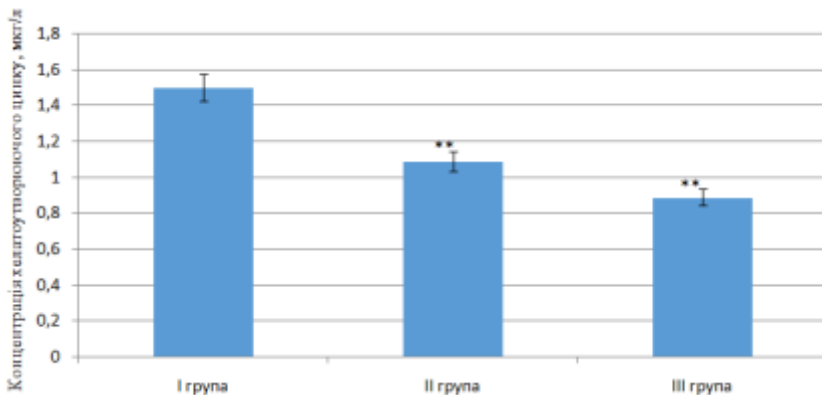


Рисунок 1 – Концентрація хелатуєтворюючого цинку в умовах забарвлення дитизином у сперматозоїдах трьох дослідних груп чоловіків

Figure 1 – Chelating zinc concentration in terms of color dithizine in spermatozoa in three experimental groups of men

Примітка: ** – різниця достовірна щодо контролю з $p < 0,01$

Результати дослідю вказують, що спостерігається тенденція до зниження вмісту цинку в сперматозоїдах чоловіків, які зазнали впливу забрудненого атмосферного повітря, зокрема у I-й групі – $1,50 \pm 0,16$ мкг/л, у II-й групі – $1,09 \pm 0,14^{**}$ мкг/л та в III-й групі – $0,89 \pm 0,09^{**}$ мкг/л [6, 9].

Наступним етапом досліджень було вивчення параметрів еякуляту самців білих щурів. При цитологічному дослідженні еякуляту, починаючи з другого тижня після початку експерименту, встановлено достовірне зменшення кількості зрілих форм сперматогенного епітелію – ранніх та пізніх сперматид та сперматозоїдів, а також сперматоцитів [9]. Загальна кількість пізніх сперматоцитів та сперматид зменшилася на 15-у добу майже у 2 рази, ранніх сперматид – у 1,3 рази. Так само спостерігалось і достовірне зниження клітин Лейдига майже в 3 рази [9, 10]. Отже, тривалий вплив забрудненого атмосферного повітря призводить до суттєвого зменшення загальної кількості клітин зародкового епітелію, та, як наслідок, зниження фертильності самців щурів [10].

Таблиця 3 – Кількісний вміст клітин еякуляту в сім'яниках щурів у полі зору

Table 3 – Quantitative ejaculate content of cells in the testes of rats in sight

Показник \ Група	I група (n=20)	II група (n=20)	III група (n=20)
Сперматогонії	44,8±1,03	68±73±0,99*	56,8±0,84*
Сперматоцити	57,56±1,57	30,28±1,64*	21,18±1,03*
Сперматиди ранні	92,18±4,32	76,46±2,02*	27,91±0,66*
Сперматиди	61,31±1,86	38,54±1,64*	13,57±0,64*
Сперматозоїди	67,72±0,72	29,34±1,47*	27,02±1,03*
Клітини Сертолі	25,32±0,49	25,59±0,35*	17,32±0,45*
Клітини Лейдига	5,37±0,07	1,89±0,05*	1,5±0,05*

Примітка: * – різниця достовірна щодо контролю з $p < 0,05$

Було визначено концентрацію хелатоутворюючого цинку в клітинах сперматозоїдів самців білих щурів. Спостерігалось поступове зменшення рівня цинку, аналогічно як і у чоловіків трьох різних екологічних районів. У I-й групі концентрація цинку в нормі; у щурів II-ї екологічної групи концентрація менша на 14 % і у самців III-ї групи вміст цинку знижувався на 37 % (рис. 2).

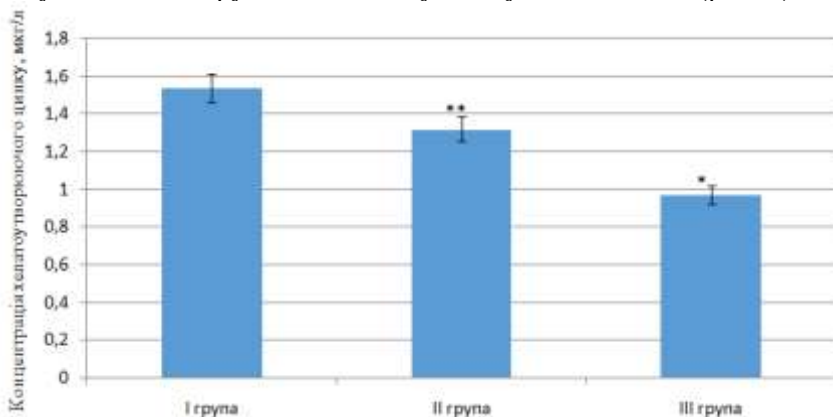


Рисунок 2 – Концентрація хелатоутворюючого цинку у сперматозоїдах щурів

Figure 2 – Concentration of chelating zinc in rat's spermatozoa

Примітка: * – різниця достовірна щодо контролю з $p < 0,05$; ** – різниця достовірна щодо контролю з $p < 0,01$

Усі проведені обстеження та дослідження еякуляту як чоловіків, так і щурів, свідчать про негативну дію забрудненого атмосферного повітря. Це сприяє значному зменшенню вмісту цинку в клітинах, тобто розвивається його дефіцит. Тривале інгаляційне надходження забрудненого атмосферного повітря призводить до хронічного стресу організму людини і тварин та супроводжується розвитком неспецифічного адаптаційного синдрому клітинної системи, однією з ланок якого є зменшення вмісту катіонів цинку в клітинах сперматозоїдів. Внаслідок цього спостерігається суттєве зниження репродуктивної функції. І саме ця причина може бути одним із провокуючих факторів безпліддя, що залежить від ступеня антропогенного екологічного навантаження [8, 11].

Доцільні подальші обстеження еякуляту чоловіків відносно впливу алкоголю та виду професійної діяльності.

Висновки

1. Встановлено, що зміни фертильності людини аналогічні змінам фертильності у щурів, що підтверджує неспецифічність цих змін.

2. У чоловіків, які проживають в Хортицькому, Дніпровському та Заводському районах, із зростанням забрудненості повітря, спостерігається зменшення кількості сперматозоїдів та їх активно рухомих форм і збільшення числа патологічних клітин в еякуляті.

3. Виявлено поступове зниження показників хелатоутворюючого цинку у сперматозоїдів, що пропорційне зростанню індексу забрудненості повітря району проживання обстежених чоловіків. Ймовірно це призводить до порушення репродуктивної функції у людини і тварин.

Література:

1. *Онищенко Г.Г. Актуальные проблемы управления состоянием окружающей среды и здоровьем населения / Г.Г. Онищенко // Уральский медицинский журнал. – 2008. – № 11. – С. 4–10.*

Onishhenko G.G. Aktual'nye problemy upravlenija sostojaniem okružhajushhej sredy i zdorov'em naselenija / G.G. Onishhenko // Ural'skij medicinskij zhurnal. – 2008. – № 11. – S. 4–10.

2. Потемина Т.Е. Влияние факторов внешней среды на мужскую репродуктивную систему / Потемина Т.Е., Кузнецова С.В., Шевантаева О.Н. // Новгород. – 2006. – 27 с.

Potemina T.E. Vlijanie faktorov vneshnej sredy na muzhskuju reproduktivnuju sistemu / Potemina T.E., Kuznecova S.V., Shevantaeva O.N. // Novgorod. – 2006. – 27 s.

3. Овсянникова Т.В. Бесплодный брак / Т.В. Овсянникова., И.В. Корнеева // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 1. – С. 32–36.

Ovsjannikova T.V. Besplodnyj brak / T.V. Ovsjannikova., I.V. Korneeva // Akusherstvo i genikologija. – 2008. – № 1. – S. 32–36.

4. Быков В.Л. Особенности сперматогенеза у мужчин / В.Л. Быков // Проблемы репродукции. – 2000. – № 1. – С. 6–13.

Vykov V.L. Osobennosti spermatogeneza u muzhchin / V.L. Vykov // Problemy reprodukcii. – 2000. – № 1. – S. 6–13.

5. Артифексов С.Б. Мужской репродуктивный потенциал, как критерий адаптации к различным экологическим факторам / С.Б. Артифексов, М.Ю. Сергеев // Эколого-физиологические проблемы адаптации. – М.: Медицина. – 2005. – 928 с.

Artifeksov S.B. Muzhskoj reproduktivnyj potencial, kak kriterij adaptacii k razlichnym jekologicheskim faktoram / S.B. Artifeksov, M.Ju. Sergeev // Jekologo-fiziologicheskie problemy adaptacii. – M.: Medicina. – 2005. – 928 s.

6. Важенко О.В. Зміна вмісту цинку та секреторного матеріалу в клітинах людей та тварин під впливом високого рівня забруднення атмосферного повітря в умовах м. Запоріжжя / [Важенко О.В., Єщенко Ю.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А.] // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2008. – Вип. 47. – С. 116–122.

Vazhnenko O.V. Zmina vmistu cinku ta sekretornogo materialu v klitinah ljudej ta tvarin pid vplivom visokogo rivnja zabrudnennja atmosferного povitrja v umovah m. Zaporizhzhja / [Vazhnenko O.V., Šshhenko Ju.V., Bovt V.D., Šshhenko V.A.] // Visnik L'vivs'kogo universitetu. Serija biologichna. – 2008. – Vip. 47. – S. 116–122.

7. Zalups R.K. Cellular and molecular biology of metal / R.K. Zalups, J. Koropatnick. – N.Y.: CRC Press, 2010. – 442 p.

8. Vallee B.L. Zinc: biochemistry, physiology, toxicology and clinical pathology / B.L. Vallee / Biofactors. – 1988. – Vol. 1. – P. 31–36.

9. Tudor R. Zinc in health and chronic disease / Tudor R., Zalewski P., Ratnaik R. // *J. Nutr. Health Aging*. – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 45–51.

10. Yoshida H. Fertilization of fresh and frozen spermatozoa / [Yoshida H., Hoshiai H., Fukaya T., Yajima A.] // *Assist Reprod Technol Androl*. – 1990. – P. 164 – 172.

COMPARATIVE ECOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM IN A STRESS LEVEL OF TENSION

Romanova M.D., Bovt V.D., Jeshhenko Ju.V.

Zaporizhzhya National University

rom-ma@ukr.net

The paper provided a brief description of environmental and physiological characteristics of the male reproductive system in times of stress exposure. Ecological, hygienic and cytochemical methods studied the impact of changes influenced by indicator chelating Zn in semen and fertility of men who contact with anthropogenically polluted air.

The study took place in 120 men who were divided into three groups, depending on the habitat of different degrees of air pollution. As a result, the frequency in patospermii of people living in areas with different ISA (air pollution index): Khortickiy, Dnieper and factory district; morphological features of male ejaculate cells; changes of semen of patients were observed.

Besides 60 male sexually mature white rats were studied. Of these, 10 were in a control group, while others were in different ecological districts of Zaporizhzhya (Khortickiy, Dnieper and Manufacturing areas) within 30 days.

Medical statistics according to medical cards of people was analyzed for the presence of diseases or infections in recent years. Assessment of andrological status of men underwent clinical method. Laboratory methods determined morphological changes in the cells of men ejaculate in three groups.

Rats were inhaling created conditions of technogenic pollution of the air content on the territories with low, medium and high levels of contamination for 30 days. Laboratory method determines the number of cells of the germinal epithelium, Sertoli cells and Leydig cells in the testes. The zinc content in sperm cells was determined by cytochemical analysis via dithizone indicator. Statistical evaluation of the results was performed using the software package Statists Software 6,0 using

Student's t – test. Defined by the surveyed spermatogenesis in animals that were in various environmental conditions and chelating Zn content in sperm cells.

The study found that men with normal functioning of reproductive system from different ecological districts of Zaporozhye has specificity and characterized by teratospermia, asthenozoospermia, oligozoospermia, azoospermia.

In particular, the impact of anthropogenic air pollution reduces the content of Zn which causes a disturbance of male fertility.

Zinc has been extensively studied. Its deficiency leads to gonadal dysfunction, decreases testicular weight and causes shrinkage of seminiferous tubules. The functional state of the cells depends on the presence of zinc in them, which is contained in the molecules of essential proteins. Therefore, the main task was to determine the effect of inhalation of contaminated by man-made substances air on the functional ability of male reproductive system. The use of selective dithizone indicator shows that the population in the semen of Zavodskiy district of the concentration of zinc cations is clearly reduced, than the inhabitants of the district Hortitsky.

Experiments on rats revealed that inhalation of polluted atmospheric decreases the zinc content in semen. Ecological and physiological status of the analysis of zinc present in residents of Zaporizhzhya, as well as laboratory animals demonstrated that prolonged intake of air pollutants leads to chronic stress of humans and animals and reduces the content of zinc cations in the cells.