

2. Fink A., Tomlinson G., Freeman J.L., Rosen I.B. and Asa S.L. Occult micropapillary carcinoma associated with benign follicular thyroid disease and unrelated thyroid neoplasms // *Mod Pathol.* — 1996. — Vol. 9. — P. 816–820.

3. Yamashita H., Noguchi S., Murakami N., Toda M., Uchino S., Watanabe S. and Kawamoto H. Extracapsular invasion of lymph node metastasis. A good indicator of disease recurrence and poor prognosis in patients with thyroid microcarcinoma // *Cancer.* — 1999. — Vol. 86. — P. 842–849.

4. Mercer K.E. and Pritchard C.A. Raf proteins and cancer: B-Raf is identified as a mutational target

// *Biochim Biophys Acta.* — 2003. — Vol. 1653. — P. 25–40.

5. Kimura E.T., Nikiforova M.N., Zhu Z., Knauf J.A., Nikiforov Y.E. and Fagin J.A. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma // *Cancer Res.* — 2003. — Vol. 63. — P. 1454–1457.

6. Xu X., Quiros R.M., Gattuso P., Ain K.B. and Prinz R.A. High prevalence of BRAF gene mutation in papillary thyroid carcinomas and thyroid tumor cell lines // *Cancer Res.* — 2003. — Vol. 63. — P. 4561–4567.

Поступила 15.03.2006

УДК 574:539.1.04

СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ И ТИРЕОИДНОГО ОБМЕНА КРЫС-САМЦОВ ПОТОМСТВА I ПОКОЛЕНИЯ, ПОЛУЧЕННОГО ОТ РОДИТЕЛЕЙ, ДЛИТЕЛЬНОЕ ВРЕМЯ НАХОДИВШИХСЯ В ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС

Е.Ф. Конопля, Г.Г. Верешако, А.М. Ходосовская, Г.А. Горох

Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель

Анализировали морфофункциональное состояние репродуктивной системы и тиреоидного обмена у крыс-самцов первого поколения (F_1), полученных от родителей, длительное время находившихся в условиях радиоактивного загрязнения, и внутриутробное развитие которых проходило в зоне отчуждения ЧАЭС. Установлено, что у опытных животных F_1 в возрасте 3 и 6 мес отмечается повышение относительной массы семенников и их придатков, количества сперматогенных клеток, уровня тестостерона в сыворотке крови, активности ЛДГ и содержания ДНК (3 мес) в тестикулярной ткани. Одновременно у животных F_1 выявляется гипотиреоидное состояние, что выражается в снижении уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови и активности дейодиназы в тканях печени и почек. Полученные данные свидетельствуют о возникновении нарушений в исследуемых системах организма крыс потомства первого поколения.

Ключевые слова: катастрофа на ЧАЭС, потомство крыс I поколения, репродуктивная система самцов, ЛДГ, СДГ, нуклеиновые кислоты, тестостерон, тироксин, трийодтиронин.

ANALYSIS OF REPRODUCTIVE SYSTEM AND THYROID METABOLISM STATE OF RAT MALE PROGENY I GENERATION, OBTAINED AFTER LONG LOW-INTENSITY IRRADIATION THEIR PARENTS IN CHERNOBYL ZONE

E.F. Konoplya, G.G. Vereshachako, A.M. Khodosovskaya, G.A. Goroch

Institute of Radiobiology of National Academy of Sciences of Belarus, Gomel

It rats progeny of first generation in the age of 3 and 6 month wicth parents were exposed to lonng low irradiation in Chernobyl zone testes weight indexes, amount of spermatogenous cells of all types and their total number in a suspension of testes tissue, content of DNA and RNA, activity of LDH and SDH in the testes tissue, contents of testosterone, T_3 and T_4 in blood serum and activity of deiodinase in tissue liver and kidneys were studies. The changes in morphofunctional state of testes and thyroid status of progeny rats received from the parents (males and females) were found.

Key words: Chernobyl accident, rat progeny of I generation, male reproductive system, LDH, SDH, nucleic acids, testosterone, thyroxin, triiodtyronin.

Повышение радиационного фона во многих районах Республики Беларусь в результате аварии на Чернобыльской АЭС делает необходимым оценку последствий действия низкоинтенсивного длительного облучения на организм. Известно о высокой опасности пренатального радиационного воздействия в связи с высокой радиочувствительностью процесса эмбриогенеза [7]. Высокий генетический риск сохраняется, если облучению подвергается организм во время репродуктивного периода или до него, так как начальные стадии развития половых клеток, т.е. сперматогоний и ооцитов наиболее уязвимы к действию повреждающих факторов [4]. Экспериментальные исследования, посвященные анализу состояния важнейших систем организма животных потомства, полученных от родителей, длительное время находившихся в условиях внешнего и внутреннего радиационного воздействия в зоне ЧАЭС, немногочисленны [1, 3, 6].

В настоящем сообщении представлены данные анализа морфофункционального состояния репродуктивной системы и тиреоидного обмена у крыс-самцов первого поколения потомства, полученного от самок и самцов, которые в течение 4 мес находились в 10-км зоне отчуждения ЧАЭС.

Материал и методы исследования

Исследования проводили на крысах потомства первого поколения, полученных от половозрелых самок и самцов стадного разведения (исходный возраст 3 мес). Животные были размещены в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике (10-км зона отчуждения ЧАЭС, н.п. Массаны), где их содержали на протяжении 124 сут. В качестве корма использовали продукты, выращенные в условиях радиоактивного загрязнения. Мощность эквивалентной дозы излучения в реперной точке, где содержались животные, составляла в среднем 500 мкЗв/час, суммарная экспозиционная доза составляла 0,01704 Зв. Плотность загрязнения почвы по ^{137}Cs в этом месте достигала 1890 кБк/м². В конце срока содержания (за 20 дней) животные были спарены (свободное спаривание) и перед родами были возвращены на виварий Института радиобиологии НАН Беларуси. В результате эксперимента было получено потомство, первое поколение (F₁). В условиях вивария животные полученного по-

томства F₁ продолжали получать радиоактивный корм, удельная активность которого составляла 275–757 Бк/кг. В опыт животных брали при достижении возраста 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев. Удельная активность ^{137}Cs в тушках животных F₁ в возрасте 3 мес — 0,377 кБк/кг, в 6 мес — 0,142 кБк/кг. Суммарная поглощенная доза внутреннего облучения от инкорпорированного ^{137}Cs в различные сроки постнатального периода у потомства к 90 и 180 сут составляла, соответственно, $4,25 \cdot 10^{-5}$ и $3,20 \cdot 10^{-5}$ Гр. Контролем служили животные аналогичного возраста, содержащиеся в условиях стационарного вивария.

У животных изучали морфофункциональное состояние репродуктивной системы самцов, в том числе относительную массу семенников и их придатков (эпидидимисов), количество сперматогенных клеток всех типов, определение которых проводили в клеточной суспензии тестикулярной ткани в 5% уксусной кислоте в камере Горяева [5]. Оставшаяся часть семенника использовалась для приготовления гомогената ткани семенников, в которой спектрофотометрически определяли содержание нуклеиновых кислот (РНК и ДНК отдельно) в 10% хлорной кислоте [8, 9]. В гомогенате ткани семенников анализировали активность важнейших ферментов биоэнергетического обмена – гликолиза – ЛДГ в цитоплазматической фракции [12] и ЦТК — СДГ в митохондриях [11], которые получали методом дифференциального центрифугирования в 0,25 М сахарозе, 12000 г в течение 15 мин.

В сыворотке крови крыс потомства F₁ в возрасте 3, 6, 9 и 12 мес определяли уровень тестостерона (наборы РИА «Стерон-Т- ^{125}I » ХОП ИБОХ НАНБ, г. Минск) и тиреоидных гормонов (тироксина и трийодтиронин) с помощью наборов РИА-Т₄(Т₃)-ПГ (ХОП ИБОХ НАНБ, г. Минск). В гомогенате ткани печени и почек животных анализировали активность 5'-дейодиназы тироксина [10].

Полученные данные обрабатывали статистически общепринятыми методами биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента при уровне значимости 0,05.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены данные об изменении морфофункционального состояния репродуктивной системы крыс-самцов потомства F₁ в возрасте 3 мес, полученных от родителей, длительное время находив-

шихся в условиях радиоактивного загрязнения (10-км зона отчуждения ЧАЭС). Отмечается, что относительная масса семенников и эпидидимисов у опытных животных повышается, соответственно, на 14,3 и 25,2% по отношению к интактному контролю. Общее количество сперматогенных клеток имеет тенденцию к повышению (108,5%). Количественное соотношение половых клеток на различных эта-

пах дифференцировки в суспензии ткани семенника крыс F₁, полученных от родителей, содержащихся в зоне отчуждения ЧАЭС, имеет сложную картину. В то время как количество сперматогоний снижено на 33,3% (однако удельный вес этих клеток обычно не превышает 2–3% от общего количества), число сперматоцитов и сперматид увеличено на 28,3 (P < 0,05) и 12,3% соответственно.

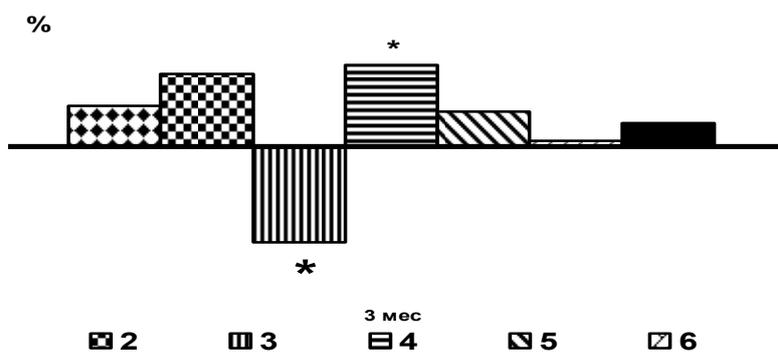


Рис. 1. Изменение показателей морфофункционального состояния репродуктивной системы крыс-самцов I поколения (в возрасте 3 мес), полученных от родителей, содержащихся в 10-км зоне отчуждения ЧАЭС (в % к контролю)

1 — относительная масса семенников; 2 — относительная масса эпидидимисов; 3 — сперматогонии; 4 — сперматоциты; 5 — сперматиды; 6 — сперматозоиды; 7 — общее количество клеток; * — достоверно при p < 0,05

Содержание тестостерона в сыворотке крови у опытных животных в возрасте 3 мес увеличивалось на 60,8% (рис. 2). Анализ окислительно-восстановительных процессов в ткани семенников у крыс потомства F₁ показывает, что интенсивность лактатдегидрогеназной реакции несколько повышается (до 110%), а активность СДГ не отличается от

контроля. В тестикулярной ткани крыс F₁, полученных от родителей, которые находились длительное время в условиях низкоинтенсивного внешнего и внутреннего облучения, выявляется рост содержания ДНК (до 113,8%), что, очевидно, связано с повышенным количеством диплоидных сперматогенных клеток (в основном, сперматоцитов).

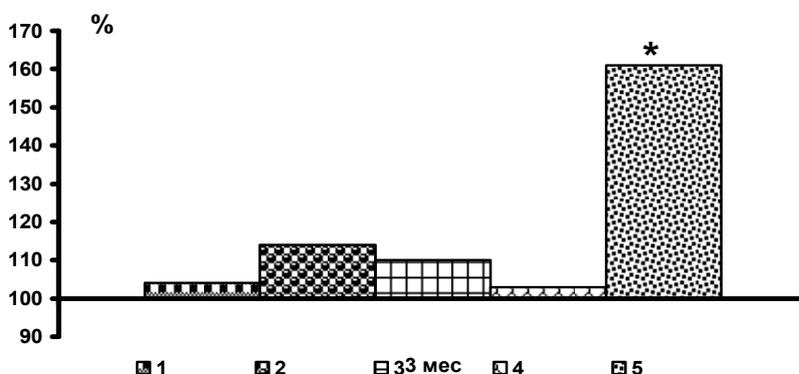


Рис. 2. Изменение биохимических показателей в ткани семенников крыс-самцов в возрасте 3 мес I поколения, полученного от родителей, содержащихся в 10 км зоне отчуждения ЧАЭС (в % к контролю)

1 — РНК; 2 — ДНК; 3 — ЛДГ; 4 — СДГ; 5 — Тестостерон; * — достоверно при p < 0,05.

У крыс-самцов F₁, полученных от родителей из зоны отчуждения ЧАЭС, достигших возраста 6 мес, сохраняется неко-

торое повышение относительной массы семенников, которое отмечалось и в возрасте 3 мес (рис. 3).

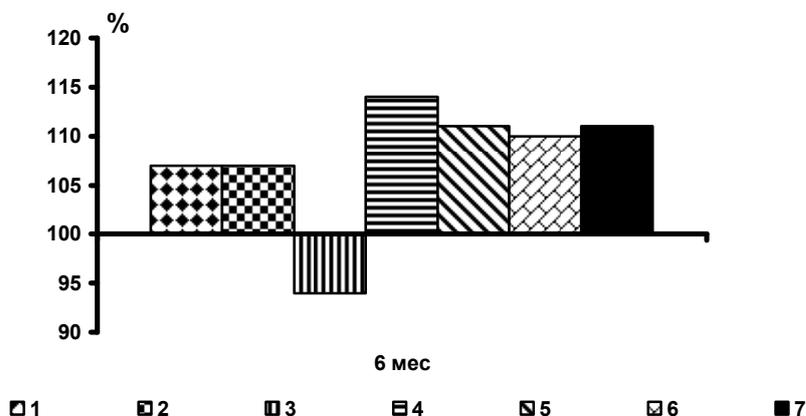


Рис. 3. Изменение показателей морфофункционального состояния репродуктивной системы крыс-самцов первого поколения в возрасте 6 мес, полученных от родителей, содержащихся в 10-км зоне отчуждения ЧАЭС. Обозначения такие же, как на рисунке 1

У животных этой группы отмечается также увеличение количества сперматогенных клеток (сперматоцитов, сперматид и зрелых половых клеток) и их общего числа в пределах 10–15%, в то время как количество сперматогоний близко к контрольному значению.

Уровень тестостерона в сыворотке крови сохраняется на повышенном уровне (48,9%). Концентрация РНК и ДНК в ткани сперматогенного эпителия у животных 6 мес возраста снижено на 16,2 и 20,6%, что

не вполне согласуется с данными количественного состава клеток (рис. 4). По-видимому, выявленный уровень биополимеров отражает некоторое замедление биосинтетических и пластических процессов в исследуемой ткани животных, родители которых подвергались радиационному воздействию в малой дозе. Определенное значение в этом случае может иметь соотношение содержания нуклеиновых кислот в сперматогенной и интерстициальной ткани семенников.

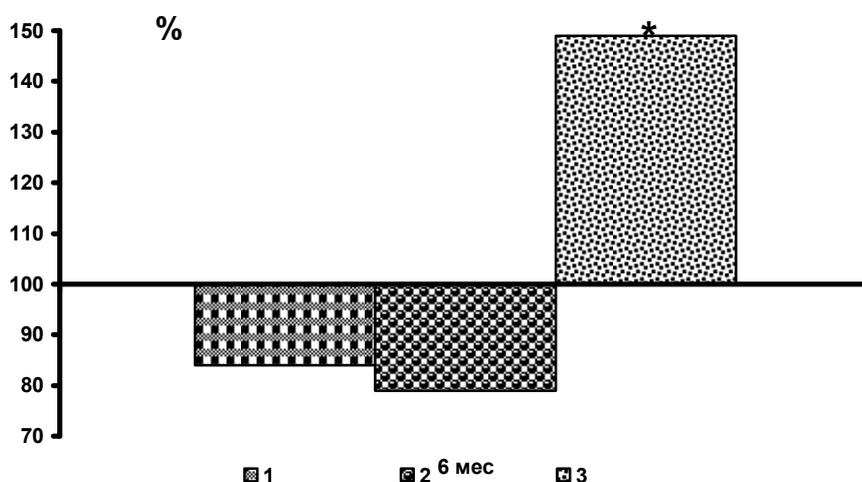


Рис. 4. Изменение биохимических показателей в ткани семенников крыс-самцов I поколения в возрасте 6 мес, полученных от родителей, содержащихся в 10 км зоне отчуждения ЧАЭС. Обозначения такие же, как на рисунке 2

Рассматривая состояние тиреоидного обмена у животных F_1 различных возрастных групп, полученных от самцов и самок крыс, которые в течение 4 мес находились в условиях радиоактивного загрязнения ЧАЭС, отмечено возникновение состояния гипотиреоза, проявляющееся снижением всех изучаемых показателей, за исключением уровня трийодтиронина в сыворотке крови у животных в возрасте 6 мес (рис. 5).

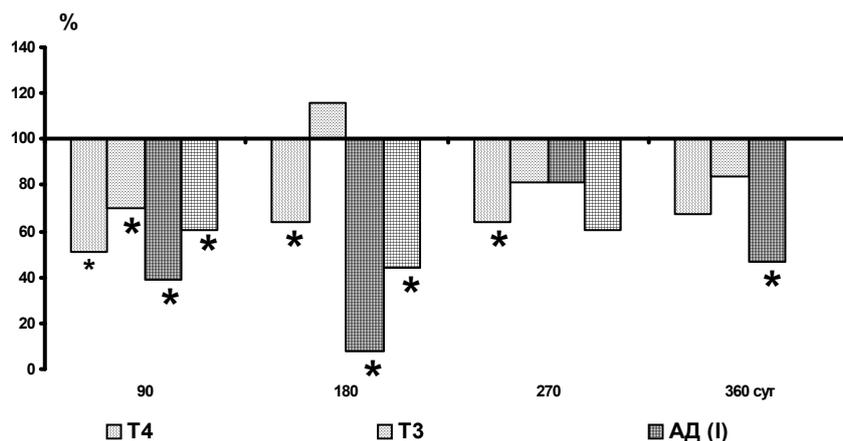


Рис. 5. Изменение показателей тиреоидного обмена в сыворотке крови и тканях самцов крыс I поколения, полученного от родителей, содержащихся в 10-км зоне отчуждения ЧАЭС (в % к контролю)

T_4 — уровень тироксина в сыворотке крови; T_3 — уровень трийодтиронина в сыворотке крови; АД(I) — активность 5' — дейодиназы тироксина в ткани печени; АД(II) — активность 5' — дейодиназы тироксина в ткани почек; * — достоверно при $P < 0,05$.

Возникновение состояния гипотиреоза у крыс потомства F_1 , полученного от родителей, которые длительное время находились в условиях радиоактивного загрязнения, вероятно, отражает долговременные адаптационные процессы в условиях хронического стресса [2].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возникновении существенных нарушений функционального состояния репродуктивной системы самцов и тиреоидного обмена у первого поколения крыс, полученных от родителей, длительное время находившихся в 10-км зоне отчуждения ЧАЭС. По ряду показателей репродуктивной системы крыс-самцов F_1 в возрасте 3 и 6 мес выявляется стимулирующее действие низких доз радиации, полученных родителями, что подтверждается повышением относительной массы семенников и их придатков, количества сперматогенных клеток, уровнем тестостерона в сыворотке крови, уровнем активности ЛДГ и содержанием ДНК (3 мес) в тестикулярной ткани.

Так, например, содержание тироксина в сыворотке крыс в возрасте 3 мес достоверно падает почти в два раза, а трийодтиронина — на 30,1% ($P < 0,05$). В это же время активность 5'-дейодиназы тироксина в ткани печени и почек животных уменьшается, соответственно, на 60,0 и 39,1%. Следует отметить также, что у 6-месячных животных падение активности фермента в печени составляет более 90%, а в почках — 56%.

Значительное снижение уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови (T_3 и T_4) и активности дейодиназы в тканях печени и почек свидетельствует о возникновении гипотиреоидного состояния и о высокой чувствительности тиреоидного статуса крыс F_1 к радиоэкологическим условиям среды, в которых находились родители.

В заключение следует отметить, что в некоторых случаях при облучении животных-родителей в условиях повышенного радиоактивного загрязнения у потомства, которое получено от них и внутриутробное развитие которых происходило при действии внешнего и внутреннего облучения, обнаруживаются нарушения, превышающие изменения у животных потомства, родители которых облучались в условиях модельных опытов в дозах до 1,0 Гр. По-видимому, подобное противоречие можно объяснить тем, что в случае пребывания животных в зоне радиационного загрязнения на их состоянии отражается действие не

только радиационного фактора, но и комплекса различных экологических факторов (в том числе характера питания, водного, светового и температурных режимов, условий транспортировки и т.д.), что также оказывает существенное влияние на морфофункциональное состояние полученного потомства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьева В.В., Зак К.П., Индык В.М. и др. // Радиобиология. — 1991. — Т. 31, Вып. 5. — С. 694–700.
2. Жекалов А.Н., Коваленко Р.И., Галанцев В.П. и др. // Физиология человека. — 1997.
3. Индык В.М., Парновская Н.В., Серкиз Я.И. и др. // Радиобиология. — 1991. — Т. 31, Вып. 5. — С. 663–667.
4. Источники, эффекты и опасность ионизирующей радиации: Доклад Научного комитета ООН по действию атомной радиации Генеральной Ассамблее за 1998 г. с приложениями. — М.: Мир, 1993. — Т. 2. — 726 с.
5. Мамина В.П., Семенов Д.И. // Цитология. — 1976. — Т. 18, № 7. — С. 913–914.
6. Мельников О.Ф., Самбур М.Б., Индык В.М. и др. // Радиобиология. — 1991. — Т. 31, Вып. 5. — С. 673–677.
7. Стрельцова В.Н., Москалев Ю.И. Отдаленные последствия радиационного поражения. Неопухолевые формы. — Итоги науки и техники. ВИНТИ // Радиационная биология. — 1987. — Т. 6. — С. 154–170.
8. Трудюлюбова М.Г. // Современные методы в биохимии / Под ред. В.А. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 313–316.
9. Blobel G., Potter V.R. // Biochem. Biophys. Acta. — 1968. — Vol. 166, № 1. — P. 48–57.
10. Kaplan V.V., Utiger R.D. // J. Clin. Invest. — 1978. — Vol. 110. — P. 459–471.
11. Kun E., Abood L.G. // Science. — 1949. — Vol. 109. — P. 144–146.
12. Sevela M., Toovarek J. // Europ. Symp. Med. Enzymol. — 1960. — P. 447.

Поступила 29.03.2006

УДК 614.876-07:575

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ДОНОЗОЛОГИЧЕСКОЙ И РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ЛИЦ, ПОСТРАДАВШИХ ОТ КАТАСТРОФЫ НА ЧАЭС

С.В. Жаворонок, Е.В. Воропаев, А.С. Рудницкая, А.Л. Калинин, Э.Н. Платошкин, О.В. Баранов, С.А. Степанец, А.В. Воропаева, Л.Г. Барри, Аль-Шаби Аль Ханса, Мунасар Хани, О.А. Рыбальченко, И.В. Пальцев, С.И. Пиманов, Е.В. Макаренко

Гомельский государственный медицинский университет
Витебский государственный медицинский университет

Ежегодный мониторинг состояния здоровья и донозологическая лабораторная диагностика основных заболеваний, приводящих к временной нетрудоспособности, инвалидности и смерти сотрудников Полесского государственного радиационно-экологического заповедника, свидетельствует о целесообразности во время плановых профилактических осмотров наряду со стандартным обследованием использовать дополнительные средства донозологической диагностики, что позволит проводить профилактику, раннее выявление и, соответственно, своевременное лечение установленной заболеваемости.

Ключевые слова: донозологическая диагностика, методы скрининга, генотипирование, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, цитогенетический анализ

POSSIBLE APPLICATION OF MOLECULAR-GENETIC METHODS FOR PRE-NOSOLOGICAL AND EARLY DIAGNOSTICS OF DISEASES IN PEOPLE SUFFERING FROM CHERNOBYL DISASTER

S.V. Zhavoronok, E.V. Voropaev, A.S. Rudnitskaya, A.L. Kalinin, E.N. Platoshkin, O.V. Baranov, S.A. Stepanets, A.V. Voropaeva, L.G. Barri, Al-Shabi Al Hansa, Munasar Hani, O.A. Rybalchenko, I.V. Paltsev, S.V. Pimanov, E.V. Makarenko

Gomel State Medical University,
Vitebsk State Medical University

Annual monitoring of state of health and pre-nosological laboratory diagnostics of main diseases resulting in temporal or complete disability and death of the Polesye State Radio-Ecological Reservation staff proves the use of additional pre-nosological diagnostics along with