

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК 577.391+591.463

ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ВНЕШНЕГО ОСТРОГО ОБЛУЧЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС-САМЦОВ

Е. Ф. Конопля, О. Л. Федосенко

Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель

Исследовано влияние острого внешнего облучения на морфофункциональное состояние репродуктивной системы половозрелых самцов крыс. После радиационного воздействия в дозе 1,0 Гр обнаружен дисбаланс соотношения различных типов сперматогенных клеток, угнетение (90 сут) и восстановление (180, 360 сут) продукции спермиогенеза, увеличение количества аномальных форм спермиев, выделенных из эпидидимисов.

Ключевые слова: острое облучение, репродуктивная система, тестикулярная ткань, аномальные формы спермиев.

DISTANT EFFECT OF THE EXTERNAL ACUTE IRRADIATION ON REPRODUCTIV SYSTEM SEXUALLY MATURE MALE RATS

Y. F. Kanaplia, V. L. Fiadosenka

The Institute of Radiobiology of NAS Belarus, Gomel

Investigated influence of acute irradiation on the morphofunctional state of reproductive system sexually mature male rats. The disbalance in distribution of spermatogenic cells, decrease (90 days) and recovery (180, 360 days) in sperm cells production was ascertained (after radiating exposure in a dose 1,0 G). The level of abnormal sperm cells was increased.

Key words: acute irradiation, reproductive system, testicular tissue, abnormal sperm cells.

Введение

Изучение нарушений, возникающих в семенниках при действии ионизирующих излучений, занимает одно из важнейших мест в радиобиологии, поскольку семенник обладает паракринной функцией и системой клеточного обновления. В связи с аварией на ЧАЭС значительные контингенты лиц подверглись действию внешнего и внутреннего облучения в малых дозах. Интерес к оценке морфофункционального состояния репродуктивной системы в этой связи существенно возрос. К настоящему времени имеется ряд данных о действии внешнего облучения на морфологическое состояние ткани сперматогенного эпителия [1–2] и цитогенетические нарушения в половых клетках самцов [3]. Однако эти единичные исследования касаются преимущественно морфологических и генетических эффектов летальных и сублетальных доз радиации на сперматогенную ткань и половые клетки половозрелых животных. В то же время отсутствует оценка отдаленных последствий в реальных дозах на состояние семенника и других органов репродуктивной системы.

Необходимо подчеркнуть, что сперматогенный эпителий обладает способностью к непрерывному обновлению клеток, имеющих различную радиочувствительность, и является уни-

кальной моделью для исследования радиационных эффектов и оценки их последствий [2, 4].

Таким образом, актуальность данной работы обусловлена важностью изучения изменения морфологических показателей репродуктивной системы при внешнем радиационном поражении организма в половозрелом возрасте для прогнозирования отдаленных эффектов и оценки риска действия ионизирующей радиации.

Целью данной работы явилась комплексная оценка состояния репродуктивной функции крыс-самцов, подвергшихся в половозрелом возрасте острому облучению в дозе 1,0 Гр, в отдаленные сроки после радиационного воздействия (90, 180, 360 сут).

Материалы и методы

Исследования проводили на 30 белых крысах-самцах стадного разведения, которых подвергали острому облучению в половозрелом возрасте (4 мес). Острое облучение проводили на установке «ИГУР» (источник облучения — ^{137}Cs , мощность дозы — 12,9 мЗв/с). Самцов декапитировали через 90, 180, 360 суток после облучения, извлекали семенники и придатки (эпидидимисы). Ткань семенников животных использовали для получения суспензии сперматогенных клеток в 5 %-ной уксусной кислоте с генцианвиолеттом, в которой подсчитывали количество сперматогоний (суммарно),

сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов в камере Горяева [5]. Проводили подсчет числа сперматозоидов, выделенных из эпидидимиса [6]. Второй эпидидимис (хвостовой отдел) использовали для учета аномальных форм спермиев [7]. Контрольные опыты проводили на животных аналогичного возраста в каждой серии экспериментов, содержащихся в условиях вивария. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При анализе количества сперматогенных клеток различных типов (таблица 1) в суспензии тестикулярной ткани у крыс в отдаленные сроки после облучения выявляются фазные изменения числа половых клеток на 2-м и 3-м сроках исследования (180, 360 сут после облучения). На 90 сут после облучения количество сперматогенных клеток и их соотношение в тестикулярной ткани мало отличается от такового у интактных животных.

Анализ изменений, происходящих в семеннике облученных крыс через 180 сут после лучевого воздействия, показывает дисбаланс в пролиферативной активности клеток начального этапа сперматогенеза, когда, вероятно, вступают в деление наиболее чувствительные сперматогонии (133,3 % от контроля). В этот период (180 сут) в ткани сперматогенного эпи-

телиа отмечается также повышение числа сперматид (до 118,2 % от контроля), что может быть обусловлено компенсаторным увеличением числа выживших герминативных клеток под влиянием облучения. Однако количество сперматоцитов и сперматозоидов находится на несколько сниженном уровне (89,3 и 81,9 % от контроля). Выраженный дисбаланс в клеточном составе не приводит к существенному снижению общего количества половых клеток в семенниках крыс.

При анализе количества сперматогенных клеток различных типов в суспензии тестикулярной ткани у крыс-самцов на 360 сут после острого облучения в дозе 1,0 Гр выявлена тенденция к снижению числа сперматогенных клеток практически на всех стадиях дифференцировки, особенно на стадии сперматид (82,3 % от контроля), что отражается на снижении общего количества клеток в тестикулярной ткани.

При оценке изменений числа зрелых половых клеток в эпидидимисах половозрелых крыс в различные сроки после радиационного воздействия (таблица 1) выявлено их снижение в основном в первые сроки исследования (90 сут) — до 83,7 % по отношению к контролю. В последующие более отдаленные сроки (180 и 360 сут) происходило относительное восстановление продукции спермиогенеза.

Таблица 1 — Изменение количества сперматогенных клеток в семенниках и эпидидимисах половозрелых крыс в отдаленные сроки после облучения в дозе 1,0 Гр.

Сроки после облучения	Возраст животных	Типы клеток	Количество клеток, $\times 10^8$ ткани на 1 г		
			контроль $\bar{x} \pm S_x$	опыт $\bar{x} \pm S_x$	% к контролю
<i>Семенники</i>					
90 сут	7 мес	Сперматогонии	0,15 \pm 0,02	0,14 \pm 0,01	93,3
		Сперматоциты	0,70 \pm 0,04	0,68 \pm 0,05	97,1
		Сперматиды	0,90 \pm 0,06	0,90 \pm 0,04	100,0
		Сперматозоиды	1,36 \pm 0,07	1,44 \pm 0,08	105,9
		Общее кол-во	3,11 \pm 0,11	3,16 \pm 0,13	101,6
		<i>Эпидидимисы</i>			
		Сперматозоиды	0,049 \pm 0,003	0,041 \pm 0,001*	83,7
<i>Семенники</i>					
180 сут	10 мес	Сперматогонии	0,09 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	133,3
		Сперматоциты	0,75 \pm 0,07	0,67 \pm 0,04*	89,3
		Сперматиды	0,77 \pm 0,04	0,91 \pm 0,06	118,2
		Сперматозоиды	1,55 \pm 0,05	1,27 \pm 0,04**	81,9
		Общее кол-во	3,16 \pm 0,14	2,97 \pm 0,04	94,0
		<i>Эпидидимисы</i>			
		Сперматозоиды	0,062 \pm 0,003	0,067 \pm 0,00	108,1
<i>Семенники</i>					
360 сут	16 мес	Сперматогонии	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,01	90,9
		Сперматоциты	0,63 \pm 0,05	0,61 \pm 0,06	96,8
		Сперматиды	0,79 \pm 0,03	0,65 \pm 0,22	82,3
		Сперматозоиды	1,40 \pm 0,13	1,32 \pm 0,04	94,3
		Общее кол-во	2,93 \pm 0,18	2,68 \pm 0,12	91,5
		<i>Эпидидимисы</i>			
		Сперматозоиды	0,056 \pm 0,003	0,062 \pm 0,005	110,7

* $P < 0,05$; ** $P < 0,005$ по сравнению с контролем

Результаты цитогенетического анализа зрелых половых клеток самцов опытных групп в различные сроки исследования указывают на

повышение частоты генетических нарушений, выражающихся в повышении уровня атипичных форм спермиев (таблица 2).

Таблица 2 — Частота встречаемости аномальных спермиев у крыс-самцов в отдаленные сроки (90, 180, 360 сут) после острого облучения в дозе 1,0 Гр

Характер эксперимента	Частота встречаемости аномальных спермиев, %	% к контролю	
90 сут	Контроль	0,64 ± 0,06	
	Опыт	1,08 ± 0,27	168,8
180 сут	Контроль	0,55 ± 0,07	—
	Опыт	0,92 ± 0,12*	167,3
360 сут	Контроль	0,53 ± 0,10	—
	Опыт	1,13 ± 0,21	213,2

* P < 0,01 по сравнению с контролем

Цитогенетический анализ зрелых половых клеток в эпидидимисах свидетельствует об увеличении выхода количества атипичных форм спермиев во всех экспериментальных группах в сравнении с контрольными показателями. При этом на 360 сутки выход аномальных клеток в 2 раза превышает контрольные показатели.

Заключение

Отдаленные последствия острого внешнего облучения половозрелых крыс-самцов проявляются на уровне морфологических изменений. Они выражаются в дисбалансе соотношения клеток сперматогенного эпителия на 180 и 360 сутки после воздействия ионизирующего излучения, снижении продукции спермиогенеза на 90 и относительном восстановлении на 360 сутки после облучения. Отмечается выраженное повреждение генетического аппарата половых клеток во все сроки исследования, проявляющееся в увеличении количества аномальных форм спермиев до 2 и более раз.

В свою очередь данные морфологического исследования сперматогенеза указывают, что в отдаленные сроки (спустя год) после внешнего острого облучения в дозе 1,0 Гр в семенниках и эпидидимисах сохраняются деструктивные процессы со снижением практически всего клеточного состава сперматогенеза при некоторой компенсаторной реакции отдельных звеньев, что более характерно для начальных сроков после облучения. Следовательно, острое облуче-

ние в дозе 1,0 Гр является повреждающим фактором длительного нарушения репродуктивной функции самцов. Результаты исследования могут служить в качестве объективного критерия оценки риска развития и возможности наследования изменений в репродуктивной системе у животных, а также человека при облучении.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Верещако, Г. Г. Влияние внутриутробного облучения на морфофункциональное состояние семенников у потомства крыс / Г. Г. Верещако, А. М. Ходосовская, Е. Ф. Конопля // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1998. — Т. 38, № 4. — С. 483–487.
2. Кондратенко, В. Г. Действие ионизирующей радиации на семенники млекопитающих / В. Г. Кондратенко // Успехи современной биологии. — 1977. — Т. 83, вып. 2. — С. 305–319.
3. Шевченко, В. А. Генетические последствия действия ионизирующих излучений / В. А. Шевченко, М. Д. Померанцева. — М., 1985. — 279 с.
4. Верещако, Г. Г. Биохимические изменения в семенниках млекопитающих при действии ионизирующих излучений / Г. Г. Верещако, А. М. Ходосовская, Е. Ф. Конопля // Успехи современной биологии. — 1998. — Т. 118, № 5. — С. 630–644.
5. Мамина, А. П. Метод определения количества сперматогенных клеток семенника в клеточной суспензии / А. П. Мамина, Д. И. Семенов // Цитология. — 1976. — Т. 18, № 7. — С. 913–914.
6. Влияние однократного общего облучения крыс на репродуктивную систему и содержание витаминов в органах у потомства / В. В. Евдокимов [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1998. — Т. 12. — С. 652–655
7. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog / J. Seed [et al.] // A consensus report. *Reprod. Toxicol.* — 1996. — Vol. 10. — P. 237–244.

Поступила 08.10.2008

УДК 615.322 (476.2)

РАСТОРОПША ПЯТНИСТАЯ — *SILYBUM MARIANUM* (L)

Э. С. Питкевич, А. Н. Лычиков, С. В. Цаприлова

Гомельский государственный медицинский университет
Витебский государственный медицинский университет

Расторопша пятнистая (*Silybum marianum*-L) — широко распространенное популярное лекарственное растение в народной и официальной медицине. Из биологически активных веществ, выделяемых из плодов расторопши, доминирующими компонентами являются силибин, силидианин, силикристин, сумма которых получила название силимарин. Используются в качестве гепатопротекторов.

Ключевые слова: расторопша пятнистая, химический состав, стандартизация и контроль качества.