
РАДИОЭКОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ, РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

RADIOECOLOGY AND RADIOBIOLOGY, RADIATION SAFETY

УДК 57.043+539.1.047+591.463

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС-САМЦОВ К ИЗОЛИРОВАННОМУ И СОЧЕТАННОМУ ДЕЙСТВИЮ ВНЕШНЕГО ОБЛУЧЕНИЯ (1,0 Гр) И МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ (50 Гц)

**Г. Г. ВЕРЕЩАКО¹⁾, Н. В. ЧУЕШОВА¹⁾, М. А. БАКШАЕВА¹⁾,
А. Е. КОЗЛОВ¹⁾, Е. В. ЦУКАНОВА¹⁾, В. И. ШАЛАТОНИН²⁾**

¹⁾Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии НАН Беларуси»,
ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Беларусь

²⁾Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники,
ул. П. Бровки, 6, 220013, г. Минск, Беларусь

Образец цитирования:

Верещако Г. Г., Чуешова Н. В., Бакшаева М. А., Козлов А. Е., Цуканова Е. В., Шалатонин В. И. Чувствительность репродуктивной системы крыс-самцов к изолированному и сочетанному действию внешнего облучения (1,0 Гр) и магнитного поля промышленной частоты (50 Гц) // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2017. № 1. С. 55–62.

For citation:

Vereschako G. G., Chueshova N. V., Bakshayeva M. A., Kazlou A. E., Tsukanova E. V., Shalatonin V. I. Sensitivity of the reproductive system of male-rats to isolated and combined external exposure activity (1.0 Gy) and magnetic field of industrial frequency (50 Hz). *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2017. No. 1. P. 55–62 (in Russ.).

Авторы:

Геннадий Григорьевич Верещако – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории эндокринологии и биохимии.

Наталья Владимировна Чуешова – научный сотрудник лаборатории эндокринологии и биохимии.

Маргарита Александровна Бакшаева – научный сотрудник лаборатории эндокринологии и биохимии.

Александр Евгеньевич Козлов – младший научный сотрудник лаборатории эндокринологии и биохимии.

Елена Владимировна Цуканова – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биологических моделей.

Валерий Иванович Шалатонин – кандидат технических наук; доцент кафедры систем телекоммуникаций (СТК).

Authors:

Genadiy G. Vereschako, PhD (biological); leading researcher of the laboratory of endocrinology and biochemistry.

vereshako2@tut.by

Natalya V. Chueshova, researcher of the laboratory of endocrinology and biochemistry.

natalya-chueshova@tut.by

Marharyta A. Bakshayeva, researcher of the laboratory of endocrinology and biochemistry.

m.bakshaeva@yandex.ru

Aleksandr E. Kazlou, junior researcher of the laboratory of endocrinology and biochemistry.

kozlov.aleksander@yandex.ru

Elena V. Tsukanova, junior researcher of the laboratory of experimental biological models.

elenatsukanova14@gmail.com

Valeriy I. Shalatonin, PhD. (engineering); associate professor of the department of telecommunication systems.

shalatonin@bsuir.by

Изучено влияние изолированного и сочетанного действия внешнего облучения в дозе 1,0 Гр (источник – ^{137}Cs , мощность дозы 46 сГр/мин) и магнитного поля промышленной частоты (50 Гц, 0,4 мТ, 4 часа/день, 5 дней/неделю, количество дней экспозиции – 28) на состояние репродуктивной системы самцов крыс линии Вистар в различные сроки после экспозиции.

Установлено снижение массы семенников после внешнего облучения, дезинтеграция процесса сперматогенеза, падение содержания глутатиона и повышение активности глутатионпероксидазы (ГПО) в ткани семенника, значительное ухудшение количественных и качественных показателей эпидидимальных сперматозоидов, увеличение некротической и программированной гибели сперматозоидов после указанных воздействий. Сочетанное действие внешнего облучения (1,0 Гр) и МП ПЧ (50 Гц) сопровождалось модификацией действия каждого из них и в ряде случаев приводило к эффектам, превышающим влияние каждого из них в отдельности. Изменения исследованных показателей свидетельствует о высокой чувствительности репродуктивной системы самцов к изучаемым антропогенным факторам окружающей среды.

Ключевые слова: крысы-самцы Вистар; внешнее облучение в дозе 1,0 Гр; МП ПЧ (50 Гц); органы репродуктивной системы крыс; относительная масса; сперматогенез; эпидидимальные сперматозоиды; количество клеток; жизнеспособность; апоптоз; некроз; фруктоза; глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФДГ); акрозин; глутатион; глутатионпероксидаза (ГПО).

SENSITIVITY OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF MALE-RATS TO ISOLATED AND COMBINED EXTERNAL EXPOSURE ACTIVITY (1.0 Gy) AND MAGNETIC FIELD OF INDUSTRIAL FREQUENCY (50 Hz)

**G. G. VERESCHAKO^a, N. V. CHUESHOVA^a, M. A. BAKSHAYEVA^a,
A. E. KAZLOU^a, E. V. TSUKANOVA^a, V. I. SHALATONIN^b**

^a*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
Fedyninskogo street, 4, 246007, Gomel, Belarus*

^b*Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics,
P. Brovki street, 6, 220013, Minsk, Belarus*

Corresponding author: shalatonin@bsuir.by

We studied the influence of the isolated and combined action of external irradiation at the dose of 1,0 Gy (source – ^{137}Cs , dose rate 46 cGy/min) and magnetic field of the industrial frequency (50 Hz, 0.4 mT, 4 hours/day, 5 days/week, number of days of exposure – 28) on the condition of the reproductive system of male Wistar rats at different times after exposure.

A decrease in the testes weight after external irradiation, disintegration of the spermatogenesis process, a decrease in the glutathione content and an increase in the activity of the GPO in the testis tissue, a significant deterioration of the quantitative and qualitative indices of epididymal spermatozoa, an increase in the necrotic and programmed sperm death after these effects. The combined effect of external irradiation (1,0 Gy) and MP IF (50 Hz) is accompanied by a modification of the action of each of them and in some cases led to effects exceeding the effect of each of them separately. Changes in the studied indicators indicate a high sensitivity of the reproductive system of males to the studied anthropogenic factors of the environment.

Key words: male rats reproductive systems; external irradiation at a dose of 1,0 Gy; MP of IF (50 Hz); relative mass; spermatogenesis; epididymal spermatozoa; quantity cells; viability; apoptosis; necrosis; fructose; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH); acrosyn; glutathione; glutathione peroxidase (GPO).

Введение

За последние годы существенно обострилась демографическая ситуация, вызванная рядом причин, в том числе неуклонным повышением репродуктивной патологии. Этот рост обусловлен ухудшением состояния мужской репродуктивной системы и связан преимущественно с уменьшением активности сперматогенеза [1; 2], которое в большей степени характерно для наиболее развитых индустриальных стран. Нормы показателей спермограммы, которые периодически пересматриваются ВОЗ, показывают их существенное снижение за последние десятилетия [3].

Среди этиологических факторов, вызывающих мужское бесплодие, практически всеми исследователями выделяются воздействия факторов внешней среды, стресс, а также роль различных общих заболеваний, приводящих в дальнейшем, зачастую вследствие интенсивной терапии, к развитию infertility [4]. Ионизирующие и неионизирующие излучения, которые обладают высокой биологической активностью, являются распространенными физическими факторами. Особенно быстрыми темпами

происходит повышение электромагнитного загрязнения, вызванного введением новых искусственных источников ЭМП различных диапазонов.

В реальной обстановке действие антропогенных факторов окружающей среды носит преимущественно комбинированный или сочетанный характер, что приводит к сложным взаимодействиям повреждающих агентов, влияющих на суммарный эффект [5]. Экспериментальные исследования на животных позволяют определить особенности репродуктивной токсичности действующих антропогенных факторов и установить закономерности их повреждающего действия.

Цель работы – изучение биологических эффектов в репродуктивной системе крыс-самцов Вистар, подвергнутых внешнему облучению в дозе 1,0 Гр и последующему продолжительному воздействию магнитным полем промышленной частоты (МП ПЧ, 50 Гц, 0,4 мТ) изолированно и сочетанно в различные сроки после воздействий.

Материалы и методы исследования

Исследования выполняли на крысах-самцах линии Вистар (исходный возраст 4 мес., масса $361,36 \pm 4,42$ г), находившихся на стандартном пищевом рационе вивария и имевших свободный доступ к питьевой воде. Контролем служили животные аналогичного возраста и пола, содержавшиеся в таких же условиях.

Все животные были разделены на 4 группы: 1. Интактный контроль. 2. Животные, подвергнутые воздействию МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТ, 4 часа/день, 5 дней/неделю, количество дней экспозиции – 28). 3. Крысы, облученные в дозе 1,0 Гр (источник – ^{137}Cs , м. д. 46 сГр/мин). 4. Животные, облученные в дозе 1,0 Гр, а затем таким образом подвергнутые длительному воздействию МП ПЧ, как сказано выше.

Источник синусоидального магнитного поля с частотой 50 Гц, с величиной магнитной индукции (плотности магнитного потока) равной 0,4 мТ (санитарная норма для человека до 5 мкТл) [6] состоит из двух рядом расположенных одинаковых радиальных катушек (катушки Гельмгольца), соединенных последовательно таким образом, чтобы обеспечить в них одинаковое направление тока. Расстояние между центрами катушек примерно равно их радиусу. Это позволяет обеспечить наибольшую однородность магнитного поля в рабочей зоне установки. Рабочая зона с магнитным полем, воздействующим на объект исследования, формируется между центрами катушек ($50 \times 50 \times 50$ см).

Оценку состояния репродуктивной системы крыс-самцов проводили на 1-е и 30-е сут. после экспозиции в МП ПЧ, а по отношению к облучению в дозе 1,0 Гр – на 40-е и 70-е сут. соответственно. Предварительно взвешенных животных подвергали декапитации, выделяли семенники с придатками (эпидидимисы) и семенные пузырьки, массу которых оценивали с последующим расчетом их относительной массы. В суспензии ткани одного из семенников методом проточной цитометрии (Cytomics FC 500, Beckman Coulter, США) анализировали количественный состав популяции сперматогенных клеток по содержанию ДНК, в том числе сперматогонии (2C), сперматоциты в S-фазе (прелептотенные сперматоциты), сперматоциты I порядка (4C), круглые (1C), удлинённые (HC1) и продолговатые сперматиды (HC2) [7]. Ткань второго семенника использовали для получения цитозольной фракции [8], в которой определяли концентрацию восстановленного глутатиона флуориметрическим методом с использованием о-фталевого диальдегида [9], активность глутатионпероксидазы, а концентрацию общего белка анализировали по [10]. В качестве стандарта использовался бычий сывороточный альбумин. В сперматозоидах, выделенных из эпидидимиса, подсчитывали количество клеток, их жизнеспособность, индекс DFI (фрагментация ДНК), число апоптотических и некротических клеток, активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГФДГ), акрозина и содержание фруктозы в семенных пузырьках [11].

Для обработки и статистического анализа полученных данных применяли пакеты программ STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc., USA), GraphPad Prism 5. В качестве критерия однородности применялся двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA). Для проведения апостериорных сравнений в рамках конкретных дисперсионных комплексов использовали критерий Тьюки (Tukey's test). Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В начальном периоде после экспозиции МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТ) относительная масса семенников животных не отличается от контроля, в то время как острое облучение (1,0 Гр) и сочетанное влияние двух антропогенных факторов (1,0 Гр + МП ПЧ, 50 Гц) приводит к статистически значимому падению этого показателя (на 33,7 и 26,4 % соответственно, по сравнению с контролем), указывая на значительную гибель тестикулярной ткани (рис. 1).

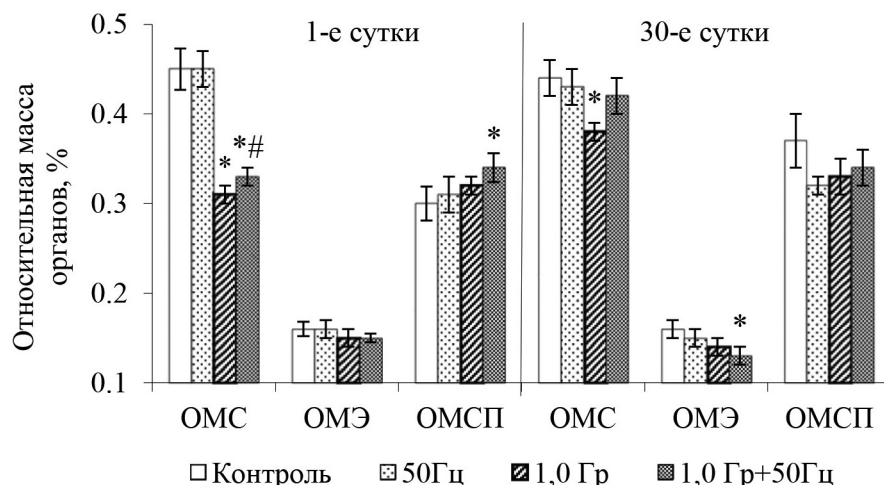


Рис. 1. Изменение относительной массы органов репродуктивной системы крыс-самцов в различные сроки после острого внешнего облучения в дозе 1,0 Гр, экспозиции в МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТл, 4 час/день, 5 дней в неделю, 28 дней) и их сочетанного воздействия

Примечания: по отношению к группе облучения в дозе 1,0 Гр – 40-е и 70-е сут.;
* – достоверно к контролю, # – достоверно к группе 50 Гц при $p < 0,05$.

Fig. 1. The change in the relative mass of organs of the reproductive system of male rats at different times after acute external irradiation at a dose of 1.0 Gy, exposures in the MP of the IF (50 Hz, 0.4 mT, 4 hours/day, 5 days a week, 28 days) and their combined effects

Note: in relation to the irradiation group in a dose of 1.0 Gy – 40th and 70th day;
* – authentically to the control, # – authentically to the 50 Hz group with $p < 0.05$.

Значимых изменений относительной массы эпидидимисов при влиянии всех исследуемых антропогенных факторов не отмечается, а данный показатель для семенных пузырьков повышается на 10,9 % при действии МП ПЧ и на 19,7 % – при сочетанном воздействии ионизирующей радиации (1,0 Гр) и электромагнитной экспозиции (50 Гц).

В отдаленном периоде относительная масса семенников частично восстанавливается, но не достигает значений контроля после внешнего облучения и сочетанного действия двух факторов, а относительная масса эпидидимисов и семенных пузырьков в этот период имеет тенденцию к снижению при всех воздействиях.

Количественный анализ состава популяции сперматогенных клеток различных этапов дифференцировки на 1-е сутки после воздействия МП ПЧ и после внешнего облучения (40-е сут) и их комбинированного влияния, указывает на значительную дезинтеграцию процесса сперматогенеза, которая выражается в стимуляции начального этапа сперматогенеза и характеризуется увеличением количества сперматогоний, прелептотенных сперматоцитов и сперматоцитов 1-го порядка (табл. 1). Однако это увеличение носит достоверный характер только для сперматогоний (+18,8 %) при сочетанной экспозиции внешнего облучения и МП ПЧ и прелептотенных сперматоцитов (+37,0 %) после внешнего облучения. В последнем случае необходимо учитывать, что оценка действия внешнего облучения анализировалась на 40-е сутки после воздействия.

Последующие стадии сперматогенеза (постмейотические) характеризуются повышением числа округлых сперматид при экспозиции МП ПЧ (на 18,8 %) и удлинённых сперматид (на 58,2 и 34,2 %, в группах 1,0 Гр и 1,0 Гр+МП ПЧ соответственно), однако на стадии продолговатых сперматид выявляется статистически значимое падение числа этих клеток от 20,3 до 24,6 % при всех воздействиях по сравнению с контролем. Последнее отражается на продукции спермиогенеза, которая снижается, что подтверждается при анализе количества эпидидимальных сперматозоидов у экспериментальных животных.

В отдаленном периоде при действии исследуемых факторов на изучаемые показатели процесса сперматогенеза сохраняются значительные нарушения, имеющие менее существенный характер при изолированном воздействии МП ПЧ (50 Гц), но более выраженные при сочетанном действии внешнего облучения 1,0 Гр и МП ПЧ (50 Гц). Например, в этой группе число круглых сперматид достоверно повышается на 39,9 %, а количество удлинённых сперматид падает до 49,9 % по сравнению с контролем.

Следовательно, изучение процесса сперматогенеза в различные сроки после воздействия внешнего облучения в дозе 1,0 Гр и экспозиции МП ПЧ (50 Гц) изолированно и сочетанно показало, что их действие приводит не только к дезинтеграции процесса, но также к значительному снижению его интенсивности.

Данные о содержании глутатиона и активности ГПО в ткани семенника (цитозольная фракция) крыс на 1-е и 30-е сут. после изолированного и комбинированного действия внешнего облучения в дозе 1,0 Гр и последующей экспозиции МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТл, 4 час/день, 5 дней в неделю, 28 дней) представлены в табл. 2. Показано, что при всех видах воздействия уровень глутатиона на 1-е и 30-е сут. значительно падает ($p < 0,05$). Так, на 1-е сут. после экспозиции МЧ ПЧ (50 Гц) и внешнего облучения в дозе 1,0 Гр изолированно и сочетанно концентрация глутатиона в ткани семенника снижается в пределах от 13 до 28 % от контрольных значений. Более значительные изменения этого показателя ($-27,9\%$) выявляются после радиационного воздействия (1,0 Гр). Учитывая, что в этом случае данный показатель анализировался на 40-е сут. после облучения, следует отметить длительное нарушение содержания глутатиона в тестикулярной ткани. В отдаленном периоде его уровень остается на сниженном уровне, однако его изменение ($-11,5\%$) имеет статистически значимый характер только после облучения животных в дозе 1,0 Гр.

Таблица 1

Изменение количественного состава популяций сперматогенных клеток тестикулярной ткани крыс-самцов в различные сроки после острого внешнего облучения в дозе 1,0 Гр, экспозиции в МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТл, 4 час/день, 5 дней в неделю, 28 дней) и их сочетанного влияния

Table 1

The change in the quantitative composition of the populations of spermatogenic cells of the testis tissue of male rats at different times after acute external irradiation at a dose of 1.0 Gy, exposure in MP IF (50 Hz, 0.4 mT, 4 h/day, 5 days a week, 28 days) and their combined effects

Сперматогенные клетки, %	Контроль	50 Гц	1,0 Гр**	1,0 Гр + 50 Гц
1-е сутки				
2C	7,22±0,48	8,48±1,06	7,41±0,17	8,58±0,29 ^{*#^}
S-phasa	1,73±0,08	1,93±0,19	2,37±0,19*	1,79±0,12 [^]
4C	3,19±0,69	4,75±0,44	4,06±0,31	4,41±0,40
1C	33,27±1,19	39,54±1,05*	30,04±2,18	31,79±1,30
HC1	18,37±0,80	16,84±1,23	29,06±2,14*	24,65±1,85 ^{*#}
HC2	35,70±0,52	26,94±0,53*	26,39±1,33*	28,44±1,27 ^{*#}
30-е сутки				
2C	7,46±0,41	8,06±0,36	8,58±0,26*	9,06±0,55*
S-phasa	2,58±0,20	2,31±0,09	2,37±0,16	2,65±0,18
4C	7,22±0,78	6,99±0,49	7,84±0,53	8,60±0,53 [#]
1C	37,70±2,70	43,63±2,13	46,77±0,90*	52,76±1,45 ^{*#^}
HC1	39,39±2,95	34,16±1,98	27,50±1,21*	19,64±1,96 ^{*#^}
HC2	5,04±0,46	4,15±0,68	5,56±0,49	6,01±1,10

Примечания: 2C – сперматогонии; S-phasa – сперматогонии в препролиферирующей фазе; 4C – сперматогонии I порядка, 1C – круглые, HC1 удлиненные и HC2 и продолговатые сперматиды; ** – 40-е и 70-е сут. после облучения в дозе 1,0 Гр; * – достоверно к контролю, # – достоверно к группе 50 Гц, ^ – достоверно к группе 1,0 Гр при $p < 0,05$.

Note: 2C – spermatogonia; cells in S-phase – spermatocytes in preleptotene; 4C – primary spermatocytes, 1C – round, HC1 elongating and HC2 and elongated spermatids; ** – 40th and 70th days after irradiation in a dose of 1.0 Gy; * – authentically to the control, # – authentically to the 50 Hz group, ^ – significantly to the group of 1,0 Gy at $p < 0,05$.

Активность глутатионпероксидазы (ГПО) в тестикулярной ткани экспериментальных животных в начальном периоде достоверно увеличивается, достигая максимальных значений при внешнем облучении (1,0 Гр), на повышенном уровне активность этого фермента остается и на 30-е сут. после всех воздействий, но достоверный характер имеет только после внешнего облучения в дозе 1,0 Гр.

Как известно, восстановленный глутатион является мощным биоантиоксидантом. Этот трипептид, имея в своем составе активные группы (NH_2 , SH_2 и др.), участвует в глутамильном цикле, окислении серы, а ГПО – в разрушении перекиси водорода [12]. По мнению [13], содержание глутатиона и активность ферментов его метаболизма в тканях во многом определяют статус организма после ионизирующего излучения. Судя по полученным нами данным, этот вывод можно отнести и к другим видам антропогенного воздействия на тестикулярную ткань в отношении этих показателей. Выявленные изменения в различные сроки после внешнего облучения в дозе 1,0 Гр и МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТ) указывают на выраженную специфическую реакцию глутатиона и ГПО в ткани семенника.

Таблица 2

Изменение содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в ткани семенника крыс в различные сроки после острого внешнего облучения в дозе 1,0 Гр, экспозиции в МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТл, 4 час/день, 5 дней в неделю, 28 дней) и их сочетанного влияния

Table 2

The change in the glutathione content and activity of glutathione peroxidase in the testis tissue of rats at different times after acute external irradiation at a dose of 1.0 Gy, exposure in MP IF (50 Hz, 0.4 mT, 4 h/day, 5 days a week, 28 days) and their combined effects

Изучаемые показатели	Серии опытов			
	Контроль	50 Гц	1,0 Гр**	1,0 Гр + 50 Гц
1-е сутки				
Глутатион, мкмоль	23,11±1,09	20,11±0,89*	16,68±0,92*	17,49±1,39*
ГПО, мкмоль/мин* г белка	154,14±1,56	173,13±3,66*	192,62±2,67*	188,32±1,71*
30-е сут				
Глутатион, мкмоль	21,20±0,61	19,96±0,47	18,76±0,85*	19,48±0,68
ГПО, мкмоль/мин* г белка	170,21±1,06	176,84±1,47	190,21±1,82*	178,31±2,48

Примечания: ГПО – глутатионпероксидаза; ** – 40-е и 70-е сут после облучения в дозе 1,0 Гр; * – достоверно по отношению к контролю при $p < 0,05$.

Note: GPO is glutathione peroxidase; ** – 40th and 70th days after irradiation in a dose of 1.0 Gy; * – is significant relative to control at $p < 0,05$.

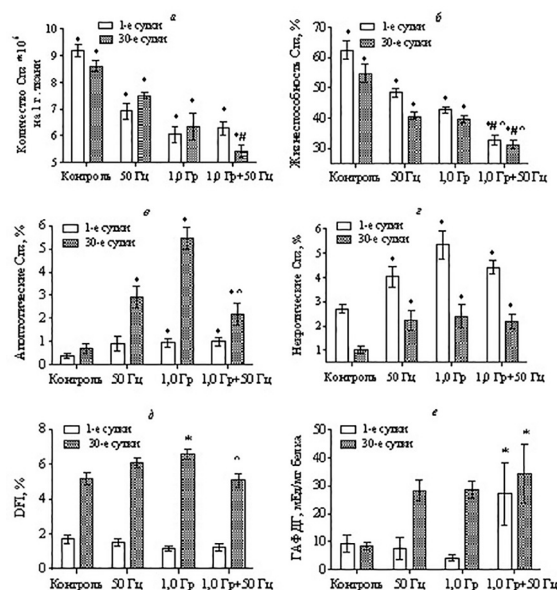


Рис. 2. Изменение количества (а), жизнеспособности (б), апоптотических (в) и некротических (г) сперматозоидов (Спз), а также анализ спермального хроматина (д, индекс фрагментации ДНК) и активности ГАФДГ (е) в зрелых половых клетках, выделенных из эпидидимисов крыс в различные сроки после острого внешнего облучения в дозе 1,0 Гр, экспозиции в МП ПЧ (50 Гц, 0,4 мТл, 4 час/день, 5 дней в неделю, 28 дней) и их сочетанного воздействия

Примечания: по отношению к группе облучения в дозе 1,0 Гр – 40-е и 70-е сут.;

* – достоверно к контролю, # – достоверно к группе 50 Гц ^ – достоверно к группе 1,0 Гр при $p < 0,05$.

Fig. 2. The change in the number of (a), viability (b), apoptotic (в) and necrotic (д) spermatozoa (Spz), as well as analysis of sperm chromatin (д, DNA fragmentation index) and activity of GAPD (е) in mature sex cells, isolated from epididymis of rats at different times after acute external irradiation at a dose of 1.0 Gy, exposures in the MP of the IF (50 Hz, 0.4 mT, 4 hours/day, 5 days a week, 28 days) and their combined effects

Note: in relation to the irradiation group in a dose of 1,0 Gy – 40th and 70th day;

* – authentically to the control, # – authentically to the group of 50 Hz ^ – trustible to the group of 1,0 Gy at $p < 0,05$.

Анализируя количественные и качественные показатели эпидидимальных сперматозоидов после изолированного и сочетанного действия внешнего облучения в дозе 1,0 Гр и МП ПЧ (50 Гц), отмечается значительное ухудшение их свойств. Во всех исследуемых группах в начальном периоде после воздействий продукция половых клеток достоверно снижается (в пределах 22,4–32,9 %). Значительная

потеря сперматозоидов, выделенных из эпидидимиса, обнаруживается после внешнего облучения в дозе 1,0 Гр, что подтверждается также падением относительной массы семенников (рис. 2, а). Сниженное количество клеток остается и в отдаленном периоде, и их максимальное падение ($-37,16\%$, $p < 0,05$) наблюдается при сочетанном действии исследуемых факторов (1,0 Гр+МП ПЧ 50 Гц).

При всех видах изучаемых антропогенных воздействий выявляется выраженное ухудшение жизнеспособности эпидидимальных сперматозоидов, которое достигает минимальных значений при последовательной экспозиции ионизирующего и затем неионизирующего излучения ($-47,4\%$ – на 1-е и $-43,0\%$ – на 30-е сут.).

У экспонированных животных значительно повышается гибель зрелых половых клеток как путем апоптоза, так и путем некроза. Высокий уровень некротической гибели эпидидимальных сперматозоидов характерен для начального периода (1-е сут) после действия антропогенных факторов, а их программированная гибель – для отдаленного периода (30-е сут.), особенно значительно после внешнего облучения в дозе 1,0 Гр, достигая в этом случае $758,33\%$ от контроля (рис. 2, в, г).

Не выявлено существенного влияния антропогенных факторов (ионизирующее излучение в дозе 1,0 Гр и МП ПЧ, 50 Гц) на индекс DFI, отражающий целостность структуры молекулы ДНК, за исключением его достоверного повышения в отдаленном периоде при внешнем облучении в дозе 1,0 Гр (рис. 2, д).

Уровень фруктозы в семенных пузырьках экспериментальных крыс всех групп имеет тенденцию к повышению, активность ГАФДГ – к снижению, однако при сочетанном действии 1,0 Гр+МП ПЧ (50 Гц) она резко возрастает (в четыре раза), а активность акрозина изменяется незначительно (рис. 2, е).

Изучение количественных и качественных показателей эпидидимальных сперматозоидов крыс, подвергнутых изолированному и сочетанному действию внешнего облучения (1,0 Гр) и экспозиции МП ПЧ (50 Гц), выявило значительное ухудшение и низкий уровень их восстановления в различные сроки после воздействия, что, в свою очередь, негативно отразится на оплодотворяющей способности животных.

Заключение

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что внешнее облучение в дозе 1,0 Гр, длительная экспозиция МП ПЧ (50 Гц) в отдельности и совместно вызывают выраженные нарушения изучаемых показателей репродуктивной системы крыс-самцов в начальном и отдаленном периодах. Несмотря на минимальные изменения изучаемых показателей при экспозиции МП ПЧ, сочетанное действие этого фактора с внешним облучением (1,0 Гр) сопровождалось модификацией действия каждого из них и в ряде случаев влияло на процесс сперматогенеза и спермиогенеза, количественные и качественные показатели эпидидимальных сперматозоидов эффекты, превышающее влияние каждого из изучаемых антропогенных факторов в отдельности.

Падение содержания глутатиона и повышение активности ГПО в ткани семенника позволяют сделать предположение о развитии в тестикулярной ткани выраженного окислительного стресса, приводящего к возникновению адаптивного ответа организма и необходимости рассматривать изменение этих показателей в качестве чувствительных биохимических индикаторов нарушений в исследуемой ткани при действии антропогенных факторов внешней среды.

Выявленные закономерности изменений относительной массы семенников, процесса сперматогенеза, содержание глутатиона и активности ГПО в ткани семенника, количество и качество эпидидимальных сперматозоидов объективно свидетельствуют о высокой чувствительности репродуктивной системы самцов к изолированному и сочетанному действию исследуемых антропогенных факторов окружающей среды, ухудшение которых приведет к снижению фертильности животных.

Библиографический список

1. Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years // Br. Med. J. 1992. Vol. 305, № 305. P. 609–613.
2. Сухих Г. Т., Божедомов В. А. Мужское бесплодие. М., 2009.
3. Курило Л. Ф., Макарова Н. П. Руководство по проведению исследования и оценке эякулята человека. ВОЗ, Пятое издание, 2010: Что нового? // Андрол. и генит. хирургия. 2010. № 4. С. 10–13.
4. Потемина Т. Е. Сравнительные эколого-физиологические особенности мужской репродуктивной системы в условиях стрессогенной напряженности : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 03.00.13, 14.00.16; Рос. ун-т дружбы народов. М., 2007.
5. Петин В. Г., Дергачева И. П., Жураковская Г. П. Комбинированное биологическое действие ИИ и других вредных факторов окружающей среды (научный обзор) // Радиация и риск (Бюл. Нац. радиац.-эпидемиол. регистра). 2001. № 12. С. 117–134.

6. СанПин 000127-25392 № 69-2010 «Гигиенические требования к электромагнитным полям в производственных условиях».
7. Suresh R., Aravindan G. R., Moudgal N. R. Quantitation of spermatogenesis by DNA flow cytometry: comparative study among six species of mammals / R. Suresh, // J. of Biosci. 1992. Vol. 17, № 4. P. 413–419.
8. Попов Е. Г. Андрогены, андроген-специфичные белки и ионизирующая радиация. Минск, 2013.
9. Green R. M., Graham M., O'Donovan M. R., et al. Subcellular compartmentalization of glutathione: Correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity // *Mutagenesis*. 2006. Vol. 21, № 6. P. 336–340.
10. Современные проблемы биохимии: Методы исследований / под ред. А. А. Чиркина. Минск, 2013.
11. Верещак Г. Г., Чернова Н. В., Туканова Е. В. и др. Радиационное поражение сперматогенных клеток и эпидидимальных сперматозоидов крыс линии Вистар после внешнего облучения // *Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук*. 2017. № 2. С. 40–45.
12. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Система глутатиона I: синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы // *Биомед. химия*. 2009. Т. 55, вып. 3. С. 255–277.
13. Лукьяненко А. И. Пострадиационные изменения содержания глутатиона и активности ферментов его метаболизма в мозгу, печени и легких крыс // 1 Всесоюз. радиобиол. съезд, Москва, 21–27 авг. 1989 : тез. докл. Пушино, 1989.

References

1. Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years // *Br. Med. J.* 1992. Vol. 305, No. 6854. P. 609–613.
2. Suhih G. T., Bozhedomov V. A. Male infertility. Moscow, 2009 (in Russ.).
3. Kurilo L. F., Makarova N. P. Guidelines for conducting research and evaluation of human ejaculate. WHO, Fifth Edition, 2010: What's new? *Androl. and Genit. Surg.* 2010. No. 4. P. 10–13 (in Russ.).
4. Potemina T. E. Comparative ecological and physiological features of the male reproductive system in conditions of stressful tension. Moscow: Rossijskij universitet druzhby narodov, 2007 (in Russ.).
5. Petin V. G., Dergacheva I. P., Zhurakovskaja G. P. Combined biological effect of AI and other harmful environmental factors (scientific review). *Radiat. and Risk (Bul. of the Nation. Radiat. and Epidem. Reg.)*. 2001. No. 12. P. 117–134 (in Russ.).
6. СанПин 000127-25392 № 69 – 2010 «Hygienic requirements for electromagnetic fields in production conditions» (in Russ.).
7. Suresh R., Aravindan G. R., Moudgal N. R. Quantitation of spermatogenesis by DNA flow cytometry: comparative study among six species of mammals. *J. of Biosci.*, 1992. Vol. 17, No. 4. P. 413–419. DOI: 10.1007/BF02720096.
8. Popov E. G. Androgens, androgen-specific proteins and ionizing radiation: monograph. Minsk, 2013 (in Russ.).
9. Green R. M., Graham M., O'Donovan M. R., et al. Subcellular compartmentalization of glutathione: Correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity. *Mutagenesis*. 2006. Vol. 21, No. 6. P. 336–340. DOI:10.1093/mutage/gel043.
10. Chirkin A. A. (ed) Modern problems of biochemistry: Methods of research. Minsk, 2013 (in Russ.).
11. Vereschako G. G., Chueshova N. V., Tsukanova E. V., et al. Radiation damage of spermatogenic cells and epididymal spermatozoa of Wistar rats after external irradiation. *News of the Nat. Acad. of Scien. of Belarus. Theory of Biol. Sci.* 2017. No. 2. P. 40–45 (in Russ.).
12. Kulinsky V. I., Kolesnichenko L. S. System of glutathion I: synthesis, transportation, glutathiontransferase, glutathione peroxides. *Biomed. chem.* 2009. Vol. 55, isseu 3. P. 255–277 (in Russ.).
13. Lukyanenko A. I. Post-radiation changes in glutathione content and enzyme activity of its metabolism in the brain, liver and lungs of rats. *1 All-Union Radiobiological Congress: thesis. doc.* Moscow, 21–27 Aug. 1989, Pushchino, 1989 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 01.06.2017
Received by editorial board 01.06.2017