

Морфологический анализ семенников в оценке фертильности мышей после однократного острого γ -облучения разными дозами

В.П. Мамина

ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Резюме. *Введение.* Лучевая терапия злокачественных новообразований создает повышенный риск для возникновения нарушений в мужской репродуктивной системе. Роль морфологических изменений семенников в оценке фертильности при облучении в летальных и сублетальных дозах изучена слабо. Цель работы – проведение сравнительного морфологического исследования семенников, сперматозоидов и фертильного потенциала у самцов мышей после однократного острого γ -облучения разными дозами.

Материалы и методы. В эксперименте на самцах линии BALB/c, подвергнутых острому однократному γ -облучению в дозах 1 и 6 Гр на установке ИГУР (Cs^{137} , мощность дозы 0,85 Гр/мин), изучали структурное состояние семенников и сперматозоидов. Морфологическое исследование проводили методом оптической микроскопии гистологических препаратов с использованием микроскопа с цифровым микрофотографированием ($n=180$). Фертильный потенциал оценивали путем спаривания облученных самцов ($n=200$) с интактными половозрелыми самками ($n=400$).

Результаты. В течение эксперимента (16–120-е сутки) в опытных группах выявлены глубокие морфологические изменения в семенниках, сперматозоидах. Максимальное увеличение числа семенных канальцев с деструкцией при дозах 1 и 6 Гр наблюдается на 62-е сутки: со сдуванием половых клеток в 2 и 4 раза, десквамацией сперматогенного эпителия в 3 и 6 раз, запустеванием семенных канальцев в 2 и 10 раз, соответственно. Максимальное снижение численности сперматозоидов составило 68 и 44% при дозах облучения 1 и 6 Гр, соответственно. Количество живых спермиев понизилось до 62% и 25%, их подвижность уменьшилась на 21% и 100%. Выявлено увеличение числа патологических форм сперматозоидов на 40% и в 3 раза при дозах 1 и 6 Гр, соответственно. Отмечено возрастание общей эмбриональной и индуцированной постимплантационной смертности у самок, оплодотворенных самцами, облученными на всех стадиях сперматогенеза ($p<0,05$), при дозе 6 Гр у самцов, находящихся на стадиях сперматид и сперматоцитов, выявлена временная стерильность.

Заключение. Степень и глубина морфологических изменений в семенниках, сперматозоидах являются дозозависимыми. Наиболее выраженные изменения при дозе 6 Гр вызывают временную стерильность. Выявлена компенсаторно-восстановительная реакция со стороны сперматогенеза.

Ключевые слова: γ -облучение, сперматогенез, сперматозоид, фертильность

Для корреспонденции: Вера Павловна Мамина. E-mail: mamina@ipae.uran.ru

Для цитирования: Мамина В.П. Морфологический анализ семенников в оценке фертильности мышей после однократного острого γ -облучения разными дозами. Клини. эксп. морфология. 2023;12(4):32–41. DOI: 10.31088/SEM2023.12.4.32-41.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Института экологии растений и животных Уральского отделения РАН (№ 122021000085-1).

Статья поступила 21.10.2022. Получена после рецензирования 29.11.2022. Принята в печать 10.04.2023.

Assessing mouse fertility by morphological analysis of testicles following acute γ -irradiation at various doses

V.P. Mamina

Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

Abstract. *Introduction.* Radiation therapy for malignant neoplasms can have detrimental effects on male reproductive health. Little is known about the role of morphological changes in the testes when assessing the fertility after exposure to lethal and sublethal doses. The research aimed to investigate the impact of acute γ -irradiation at various doses on testicular morphology, spermatozoa, and fertility potential in mice through a comparative morphological analysis.

Materials and methods. We subjected BALB/c mice to acute γ -irradiation at doses of 1 and 6 Gy using the IGUR device (Cs^{137} , dose rate of 0.85 Gy/min). We studied the structural state of the testes and spermatozoa. Morphological examination was performed using optical microscopy of histological slides with digital microphotography ($n=180$). Fertility potential was assessed by mating irradiated males ($n=200$) with intact mature females ($n=400$).

Results. During the course of the experiment, which lasted from 16 to 120 days, we observed significant morphological changes in the testes and spermatozoa of the experimental groups. On day 62, the number of seminiferous tubules exhibiting destruction at 1- and 6-Gy doses was the highest. This destruction was characterized by a 2- to 4-fold increase in the desquamation of germ cells, a 3- to 6-fold increase in the desquamation of the spermatogenic epithelium, and a 2- to 10-fold increase in the desolation of the seminiferous tubules, respectively. The maximum decrease in the number of spermatozoa was to 68 and 44% at doses of 1 and 6 Gy, respectively. The number of live spermatozoa decreased to 62% and 25%; sperm motility dropped by 21% and 100%. We detected an increase in the number of pathological forms of spermatozoa by 40% and 3 times at doses of 1 and 6 Gy, respectively. An increase in the total embryonic and induced post-implantation mortality in females fertilized by irradiated males was noted at all stages of spermatogenesis ($p<0.05$). At a 6-Gy dose, we detected a temporary sterility at the stages of spermatids and spermatocytes.

Conclusion. The degree and depth of morphological changes in the testes and spermatozoa are dose-dependent, the most pronounced changes being at a 6-Gy dose causing temporary sterility. A compensatory-restorative reaction from spermatogenesis was revealed.

Keywords: γ -irradiation, spermatogenesis, spermatozoon, fertility

Corresponding author: Vera P. Mamina. E-mail: mamina@ipae.uran.ru

For citation: Mamina V.P. Assessing mouse fertility by morphological analysis of testicles following acute γ -irradiation at various doses. Clin. exp. morphology. 2023;12(4):32–41 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.32-41.

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to Institute of Plant and Animal Ecology (No. 122021000085-1).

Received 21.10.2022. **Received in revised form** 29.11.2022. **Accepted** 10.04.2023.

Введение

Одной из актуальных проблем в области репродуктивного здоровья человека является рост числа бесплодных браков, которые более чем в 45% случаев обусловлены мужским бесплодием [1–3]. Ионизирующее излучение входит в число основных факторов, негативно влияющих на репродуктивный потенциал. Широкое использование источников ионизирующего излучения в различных сферах деятельности человека, в том числе лучевой терапии злокачественных новообразований, создает повышенный риск для возникновения нарушений в мужской репродуктивной системе, которые в большинстве случаев являются причиной бездетности [4]. Семенники, обладающие высокой чувствительностью к воздействию ионизирующего излучения, относятся к 1-й группе критических органов [5, 6]. В радиобиологических исследованиях для оценки воздействия ионизирующего излучения на репродуктивный потенциал в качестве тест-системы принято использовать процесс сперматогенеза. Одним из основных показателей радиационного поражения репродуктивной системы является морфологический анализ семенников, позволяющий прогнозировать отдаленные эффекты и оценивать риск мужского бесплодия [7, 8]. Морфологическая характеристика семенников позволяет установить степень нарушения герминативного и эндокринного отделов, определить репаративные возможности эпителиосперматогенного слоя. Исследование морфологических признаков, характерных для

повреждений индуцированных облучением семенников, дает возможность для разработки лечебно-профилактических мер в области репродуктивного здоровья мужчин. В достаточно обширной литературе по влиянию ионизирующего излучения на репродуктивную систему самцов практически отсутствуют данные, касающиеся сравнительного анализа морфологических показателей семенника и фертильности животных. Цели работы – проведение морфологического исследования семенников, сперматозоидов и оценка их роли в фертильном потенциале у мышей после однократного острого γ -облучения разными дозами.

Материалы и методы

В исследовании были использованы самцы мышей линии BALB/c в возрасте 2,5–3 месяцев массой тела 23–25 граммов ($n=380$) и intactные самки ($n=400$). Животных содержали в стандартных условиях вивария: температура воздуха +18–22°C, влажность 70–75%, освещение с 12-часовым циклом свет–темнота, стандартный рацион питания. Эксперименты проводили согласно требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), с разрешения биоэтической комиссии Института экологии растений и животных Уральского отделения РАН (протокол № 13 от 12.12.2022). Животные были разделены на три группы: 1-я группа – intactный контроль, животных 2-й группы подвергали однократному

облучению в дозе 1 Гр, животных 3-й группы – в дозе 6 Гр. Облучение проводили на установке ИГУР (Россия) (Cs^{137} , мощность дозы 0,85 Гр/мин) [9].

Животных всех групп выводили из эксперимента путем цервикальной дислокации на 8-е, 16-е, 24-е, 32-е, 48-е, 62-е, 90-е и 120-е сутки. Семенники фиксировали в смеси Буэна с последующей общепринятой гистологической обработкой. При морфологическом анализе семенников учитывали долю извитых семенных канальцев с деструктивными изменениями, слущиванием половых клеток в просвет семенных канальцев, десквамацией сперматогенного эпителия и запустеванием семенных канальцев. Для оценки состояния сперматогенного эпителия использовали индекс сперматогенеза, который рассчитывали по формуле

$$I = \frac{\sum a}{N},$$

где a – произведение количества извитых семенных канальцев с различными генерациями половых клеток, N – число проанализированных канальцев [10]. Количество эпидидимальных сперматозоидов, их подвижность определяли в камере Горяева, жизнеспособность – в мазках с помощью окрашивания эозином и нигрозином. При цитологическом анализе сперматозоидов выделяли патологические формы: с атипичным строением головки, цитоплазматические капли в области шейки или головки, с атипичным строением жгутика (короткий жгутик, изло-

манная форма жгутика, закрученные в виде петли). Для морфологического анализа использованы 180 самцов.

Для оценки фертильности самцов, находящихся во время радиационного воздействия на разных стадиях сперматогенеза (зрелые сперматозоиды, сперматиды, сперматоциты, сперматогонии и стволовые клетки, соответственно), их подсаживали к интактным половозрелым самкам через 1–7, 11–21, 22–24, 28–35 и после 35 суток. У самок определяли количество желтых тел яичника, живых плодов на самку, гибель эмбрионов до имплантации и после нее, общую эмбриональную и индуцированную постимплантационную смертность с учетом цикла сперматогенного эпителия самцов [11]. Для спаривания использованы 200 самцов и 400 самок.

После проверки на нормальность распределения цифровые данные подвергали статистической обработке с применением методов вариационной статистики (t-критерия Стьюдента) при 95% уровне значимости различий между показателями животных опытных и контрольной групп. Данные представлены в виде среднего значения и ошибки среднего ($M \pm m$).

Результаты

Цитологический анализ семенников у мышей контрольной группы показал активный сперматогенез без каких-либо изменений (рис. 1 А). В семенниках мы-

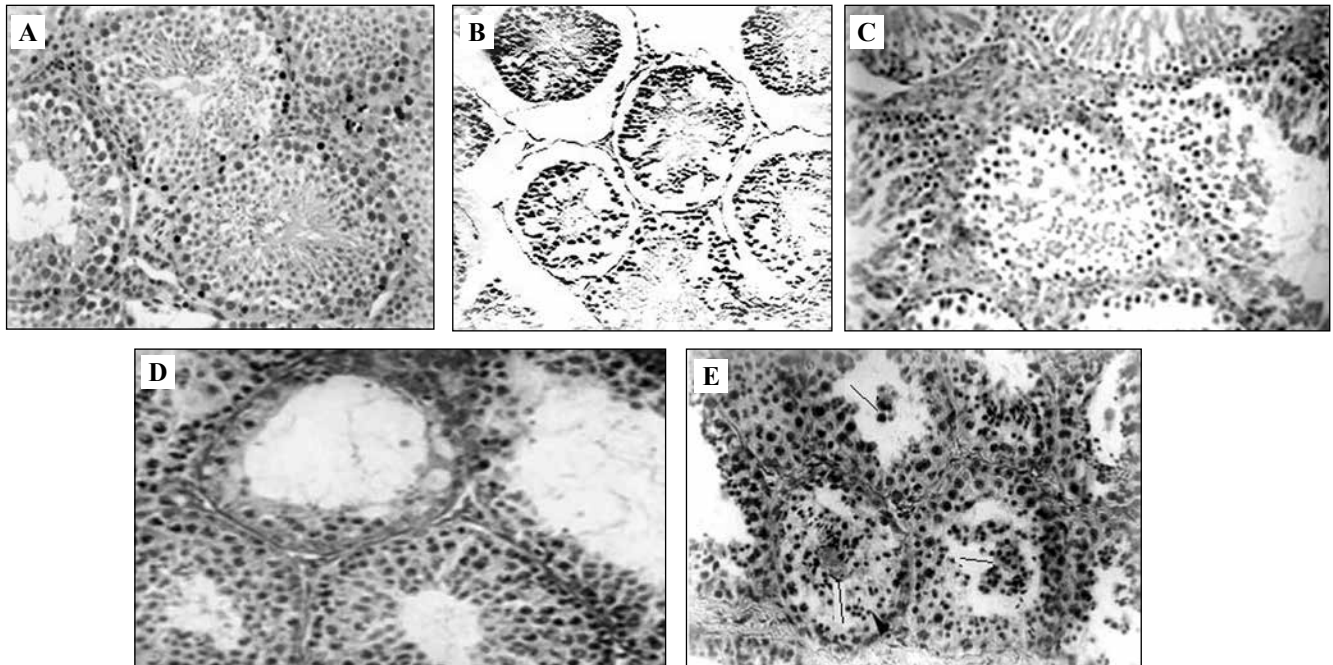


Рис. 1. Морфологические изменения в семенных канальцах после облучения.

А – семенные канальцы с активным сперматогенезом, структура без изменений, В – десквамация эпителиосперматогенного слоя, С – дезорганизация эпителиосперматогенного слоя, Д – запустевание семенных канальцев, Е – слущивание половых клеток в просвет канальцев. Окраска гематоксилином и эозином. А – $\times 200$, В, С – $\times 150$, Д – $\times 200$, Е – $\times 400$

Fig. 1. Morphological changes in seminiferous tubules after irradiation.

А – seminiferous tubules with active spermatogenesis, structure without changes, В – desquamation of the epithelial spermatogenic layer, С – disorganization of the epithelial spermatogenic layer, Д – emptying of the seminiferous tubules, Е – desquamation of germ cells into the lumen of the tubules. H&E stain. А – $\times 200$, В, С – $\times 150$, Д – $\times 200$, Е – $\times 400$

шей из опытных групп в течение всего эксперимента выявлены статистически значимое увеличение числа семенных канальцев с десквамацией эпителиосперматогенного слоя, дезорганизацией сперматогенного эпителия, запустеванием семенных канальцев, слущиванием половых клеток в просвет канальцев (рис. 1 В–D) и снижение индекса сперматогенеза.

В отдельных семенных канальцах выявлены многоядерные сперматиды, сперматогонии с апоптозоподобными ядрами, аномальные митозы, вакуоли,

которые образуются на месте гибели сперматоцитов (рис. 2 А–D).

Морфологический анализ эпидидимальных сперматозоидов у мышей опытных групп показал увеличение количества патологических форм спермиев, снижение числа и подвижности живых спермиев. К основным морфологическим изменениям сперматозоидов относятся аномальные головки и жгутик в виде петли (рис. 3 А–D).

У мышей после облучения в дозе 1 Гр статистически значимое увеличение числа семенных каналь-

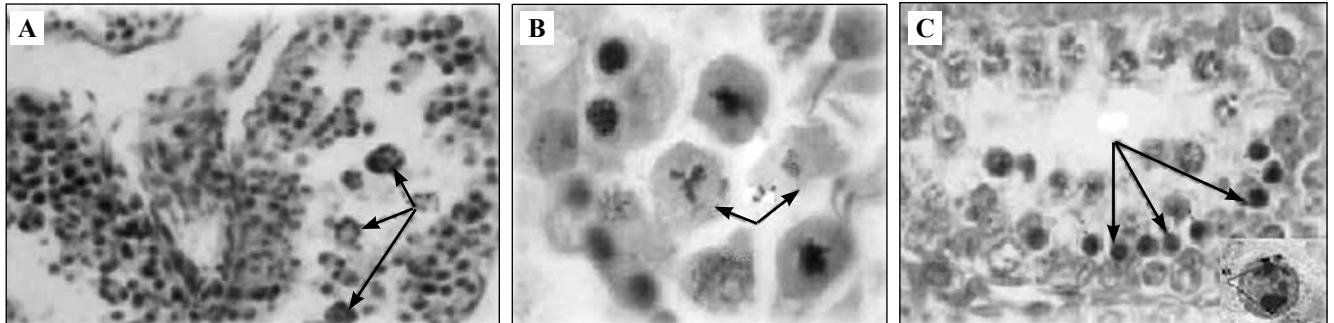


Рис. 2. Морфологические изменения в сперматогенных клетках после облучения.

А – семенные канальцы с многоядерными сперматидами (стрелка),
В – сперматогенные клетки с аномальными митозами и микроядрами (стрелка),
С – сперматогонии с апоптозоподобными ядрами (стрелка),
D – вакуоли, образующиеся на месте гибели половых клеток. Окраска гематоксилином и эозином. А – $\times 400$, В – $\times 1500$, С, D – $\times 600$

Fig. 2. Morphological changes in spermatogenic cells after irradiation.

А – seminiferous tubules with multinucleated spermatids (arrow),
В – spermatogenic cells with abnormal mitoses and micronuclei (arrow),
С – spermatogonia with apoptosis-like nuclei (arrow),
D – vacuoles formed at the site of dead germ cells. H&E stain. А – $\times 400$, В – $\times 1500$, С, D – $\times 600$

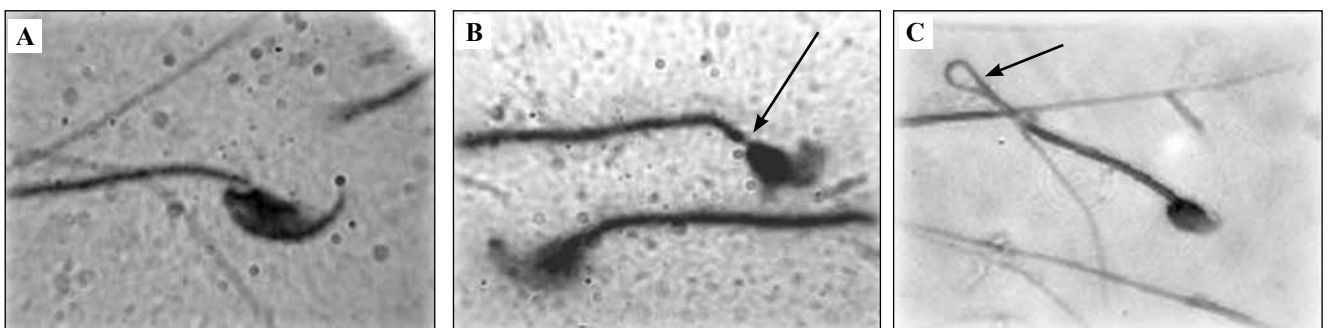


Рис. 3. Морфология сперматозоидов после облучения.

А – сперматозоид с нормальной морфологической структурой,
В – сперматозоид с аномальной головкой (стрелка), С, D – сперматозоид с аномалией хвоста в его разных отделах (стрелка). Окраска эозином и нигрозином. А, В – $\times 1500$, С, D – $\times 1000$

Fig. 3. Morphology of sperm cells after irradiation.

А – sperm with a normal morphological structure, В – sperm with an abnormal head (arrow), С, D – sperm with an abnormal tail in its different parts (arrow). Eosin-nigrosin staining. А, В – $\times 1500$, С, D – $\times 1000$

цев с различными морфологическими изменениями сохраняется до 90 суток, при дозе 6 Гр – до 120 суток (табл. 1). Наиболее выраженные морфологические изменения в семеннике при дозе 6 Гр приводят к резкому снижению индекса сперматогенеза ($0,5 \pm 0,04$ против $3,5 \pm 0,4$ в контроле), тогда как при дозе 1 Гр нижняя граница показателя составляет $2,4 \pm 0,1$ (табл. 1).

Количество сперматозоидов на 32-е, 48-е и 62-е сутки при дозе 1 Гр снизилось до 82, 76 и 70%, соответственно, число живых спермиев – до 60, 50%, подвижность спермиев уменьшилась на 21%, число патологических форм сперматозоидов во все исследуемые сроки увеличилось на 30% (табл. 2, $p < 0,05$). При дозе 6 Гр в эти же сроки количество сперматозоидов снизилось до 63 и 44%, число живых спермиев – до 40

и 20%, сперматозоиды утратили подвижность, число патологических форм увеличилось в 1,5–3 раза (табл. 2, $p < 0,05$).

Статистически значимое увеличение общей эмбриональной и индуцированной постимплантационной смертности у самок выявлено в опытных группах при облучении самцов на всех стадиях сперматогенеза, при дозе 1 Гр максимальный подъем отмечен на стадии сперматоцитов, при дозе 6 Гр самцы, у которых в момент облучения половые клетки находились на стадиях сперматоцитов и сперматид, оказались стерильными (табл. 3, $p < 0,05$). Вклад в общую эмбриональную смертность вносит как доимплантационная, так и постимплантационная гибель плодов, почти в равной доле.

Таблица 1 | Table 1

Количество извитых семенных канальцев с деструктивными изменениями у мышей после острого однократного облучения в дозах 1 и 6 Гр | The number of convoluted seminiferous tubules with destructive changes in mice after acute single irradiation at doses of 1 and 6 Gy

Время после облучения, суток Time after irradiation, day	Число канальцев со слущиванием половых клеток, % Number of tubules with germ cell desquamation, %	Число канальцев с десквамацией сперматогенного эпителия, % Number of tubules with spermatogenic epithelium desquamation, %	Запустевание извитых семенных канальцев, % Desolation of convoluted seminiferous tubules, %	Индекс сперматогенеза, усл. ед. Spermatogenesis index, cond. units
Контроль Control	$2,6 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,09$	$0,87 \pm 0,05$	$3,5 \pm 0,4$
Облучение 1 Гр 1-Gy irradiation				
16	$4,0 \pm 0,3^*$	$3,0 \pm 0,4^*$	$1,5 \pm 0,1^*$	$2,5 \pm 0,2^*$
32	$5,3 \pm 0,4^*$	$4,5 \pm 0,5^*$	$1,8 \pm 0,2^*$	$2,4 \pm 0,1^*$
62	$5,0 \pm 0,5^*$	$4,8 \pm 0,5^*$	$1,6 \pm 0,1^*$	$2,5 \pm 0,2^*$
90	$3,8 \pm 0,3^*$	$2,5 \pm 0,2^*$	$1,5 \pm 0,08^*$	$2,8 \pm 0,3^*$
120	$2,8 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,07$	$3,2 \pm 0,4$
Облучение 6 Гр 6-Gy irradiation				
16	$8,1 \pm 0,7^*$	$5,4 \pm 0,4^*$	$4,0 \pm 0,3^*$	$1,7 \pm 0,2^*$
32	$10,1 \pm 0,9^*$	$8,5 \pm 0,7^*$	$6,5 \pm 0,5^*$	$0,8 \pm 0,07^*$
62	$12,0 \pm 1,2^*$	$10,1 \pm 0,9^*$	$8,8 \pm 0,7^*$	$0,5 \pm 0,04^*$
90	$6,2 \pm 0,6^*$	$7,8 \pm 0,7^*$	$8,3 \pm 0,8^*$	$0,6 \pm 0,05^*$
120	$4,2 \pm 0,3^*$	$4,5 \pm 0,4^*$	$2,1 \pm 0,2^*$	$2,6 \pm 0,3^*$

* статистически значимые отличия опытной группы от группы контроля ($p < 0,05$) | statistically significant differences between the experimental group and the control group ($p < 0,05$)

Таблица 2 | Table 2

Показатели морфофункционального состояния сперматозоидов у мышей после острого однократного облучения в дозах 1 и 6 Гр | Morphofunctional state of spermatozoa in mice after acute irradiation at doses of 1 and 6 Gy

Время после облучения, суток Time after irradiation, day	Число спермиев, млн/мл Number of sperms, million/ml	Количество живых спермиев, % Number of live sperms, %	Патологические формы спермиев, % Pathological sperm forms, %	Подвижность, мкм/сек Mobility, $\mu\text{m}/\text{sec}$
Контроль Control	1,58±0,2	80,0±7,0	29,5±2,1	51,1±5,6
Облучение 1 Гр 1-Gy irradiation				
8	1,55±0,15	78,0±8,0	38,5±3,0*	52,0±5,0
16	1,50±0,20	75,0±6,9	37,1±3,2*	49,1±6,0
24	1,48±0,10	75,0±7,0	36,2±2,9*	48,6±4,9
32	1,41±0,15*	60,0±5,9*	35,3±3,5*	40,5±4,0*
48	1,40±0,18*	50,0±4,5*	40,1±4,0*	40,0±3,9*
62	1,10±0,07*	50,0±5,0*	42,0±3,9*	45,1±4,4*
90	1,45±0,09	77,0±8,5	40,7±2,9*	50,0±4,9
120	1,60 ±0,16	75,0±7,3	30,3±3,0	49,8±5,0
Облучение 6 Гр 6-Gy irradiation				
8	1,51±0,1	80,0±8,0	40,0 ±2,5*	58,8±6,0
16	1,50±0,09	75,0±7,0	42,8 ±2,8*	57,4±5,8
24	1,48±0,08	75,0±8,0	44,2 ±4,1*	41,3±4,6*
32	0,99±0,09*	38,0±4,0*	45,1 ±4,5*	0
48	1,06±0,1*	40,0±4,0*	90,0 ±9,1*	0
62	0,69±0,06*	20,0±2,0*	90,0±9,1*	0
90	0,79±0,07*	50,0±5,0*	38,1±2,0*	40,8±5,0*
120	1,33±0,1*	60,0±6,0*	40,1±3,0*	38,8±4,2*

* статистически значимые отличия опытной группы от группы контроля ($p < 0,05$) | statistically significant differences between the experimental group and the control group ($p < 0.05$)

Таблица 3 | Table 3

Эмбриональная смертность у самок, оплодотворенных самцами, половые клетки которых в момент облучения находились на разных стадиях сперматогенеза | Embryonic mortality in females fertilized by males whose germ cells were at different stages of spermatogenesis at the time of irradiation

Стадия сперматогенеза Stage of spermatogenesis	Показатели (среднее число на самку) Indicators (average per female)			ОЭС, % TES, %	ДС, % DS, %	ПС, % PS, %	Индукцированная ПС, % Induced PS, %
	желтые тела беременности yellow bodies of pregnancy	места имплантации implantation sites	живые эмбрионы live embryos				
Контроль Control	11,1±0,85	8,3±0,64	6,7±0,51	39,1±3,10	24,5±1,95	14,5±1,0	0
Облучение в дозе 1 Гр 1-Gy irradiation							
Сперматозоиды Spermatozoa	10,0±0,70	7,0±0,60*	5,7±0,35*	43,0±4,5*	30,0±2,5*	18,6±1,3*	4,5±0,4
Сперматиды Spermatis	9,4±0,91	6,3±0,55*	5,0±0,45*	46,8±4,3*	33,0±4,2*	20,6±1,9*	7,1±0,7
Сперматоциты Spermatoocytes	9,5±0,83	5,2±0,40*	4,3±0,38*	54,7±5,8*	45,2±4,5*	34,6±1,3*	23,5±1,9
Сперматогонии Spermatoγονia	11,1±0,80	7,4±0,64*	5,6±0,42*	48,6±4,0*	33,0±2,50*	23,0±2,1*	10,0±0,9
Стволовые клетки Stem cells	10,5±0,85	7,8±0,7	6,0±0,6	42,8±4,2	25,7±2,4	17,1±1,6	3,0±0,25
Облучение в дозе 6 Гр 6-Gy irradiation							
Сперматозоиды Spermatozoa	9,6±0,75	5,0±0,38	4,0±0,35*	58,3±4,8*	47,9±3,9*	20,0±2,0*	6,4±0,5
Сперматиды Spermatis	0	0	0	0	0	0	0
Сперматоциты Spermatoocytes	0	0	0	0	0	0	0
Сперматогонии Spermatoγονia	10,0±0,9	4,7±0,39*	3,5 ± 0,28*	65,0±6,1*	53,0±5,0*	29,7±2,8*	18,0±1,52
Стволовые клетки Stem cells	8,6±0,75	6,3±0,54	4,0 ± 0,30*	53,4±4,8*	38,4±3,2*	26,7±2,5*	14,0±1,25

* статистически значимые отличия опытной группы от группы контроля (p<0,05), ОЭС – общая эмбриональная смертность, ДС – доимплантационная смертность, ПС – постимплантационная смертность | statistically significant differences between the experimental group and the control group (p<0,05), TES – total embryonic mortality, DS – pre-implantation mortality, PS – post-implantation mortality

Обсуждение

В данной экспериментальной работе впервые проведено комплексное исследование влияния острого однократного облучения в сублетальной и летальной дозах на морфофункциональное состояние семенников, сперматозоидов и фертильность самцов, находящихся на разных стадиях сперматогенеза. Выявление степени риска для репродуктивного здоровья при воздействии радиации и прогнозирование последствий его влияния на фертильность входят в число актуальных направлений современной репродуктологии.

В представленной работе животных подвергали острому однократному γ -облучению в дозах 1 и 6 Гр. Изучена динамика изменений морфологических показателей семенников, сперматозоидов и фертильности на разных стадиях сперматогенеза. Результаты исследования показали увеличение числа семенных канальцев со слущиванием половых клеток в просвет канальцев, десквамацией эпителиосперматогенного слоя, запуском семенных канальцев, уменьшение индекса сперматогенеза, снижение числа живых спермиев, их подвижности, увеличение количества патологических форм спермиев. Выявленные нарушения, соответственно, привели к увеличению общей эмбриональной и индуцированной постимплантационной смертности у самок, оплодотворенных облученными самцами на всех стадиях сперматогенеза. Наиболее выраженные изменения по изученным показателям наблюдали при воздействии облучения в летальной дозе.

Из анализа данных литературы следует, что даже низкодозовое излучение вызывает деструктивные изменения в семенниках, которые приводят к нарушению сперматогенеза [12–14]. Следует отметить, что в экспериментальных работах, как правило, отсутствует комплексный подход к изучению влияния облучения на репродуктивную функцию – нет анализа изменения фертильного потенциала при разной степени морфологических нарушений семенников и сперматозоидов. Важным шагом в данном направлении является выявление степени нарушения сперматогенеза, которое может привести к снижению оплодотворяющей способности сперматозоидов, временной или полной стерильности.

Процесс сперматогенеза в норме протекает при определенном балансе пролиферативной активности клеток, их дифференцировки и апоптоза [15, 16]. Падение индекса сперматогенеза может быть обусловлено торможением деления клеток, нарушением их дифференцировки, а также их гибелью. Наличие клеток с пикнотическими и апоптозоподобными ядрами обусловлено уплотнением хроматина, деформацией мембран ядер [17]. Образование многоядерных клеток свидетельствует о нарушении дифференцировки половых клеток и, соответственно, повреждении механизмов гистогенеза эпителиосперматогенного слоя. Многочисленные исследования показали, что основной причиной дегенерации герминативных клеток при воздействии ионизирующего излучения является апоп-

тоз [18]. Многоядерные клетки с проявлениями апоптоза, как правило, подлежат элиминации. Сперматиды с микроядрами и клетки с аномальными митозами, которые встречаются в семенных канальцах, свидетельствуют о мутагенном эффекте ионизирующего излучения. Причины снижения подвижности сперматозоидов у облученных животных в дозе 1 Гр (32–62-е сутки) и отсутствие подвижности при дозе 6 Гр могут быть разными: снижение андрогенной функции, неполное созревание клеток, патология головки и хвоста. Выявленные нами патоморфологические изменения в семенниках и сперматозоидах отразились на фертильном потенциале. В результате спаривания с самцами, облученными на всех стадиях сперматогенеза, у самок возрастает общая эмбриональная и индуцированная постимплантационная смертность. Следует отметить, что облучение в дозе 6 Гр вызывает временную стерильность на стадиях сперматид и сперматоцитов. Наблюдаемая стерильность вызвана не отсутствием сперматозоидов, а их неспособностью к оплодотворению. У самок, спаренных с облученными самцами, постимплантационная смертность эмбрионов, как правило, обусловлена мутагенным эффектом излучения на сперматогенез, доимплантационные потери в большинстве случаев связаны с морфофункциональными изменениями сперматогенных клеток негенетического характера, которые приводят к снижению оплодотворяющей способности сперматозоидов.

Заключение

Результаты проведенного исследования показали, что степень и глубина поражения эпителиосперматогенного слоя, сперматозоидов и, соответственно, фертильного потенциала являются дозозависимыми. Наблюдаемая временная стерильность у самцов, облученных в дозе 6 Гр, когда половые клетки находились на стадии сперматоцитов и сперматид, в большей степени связана с высоким уровнем патологических форм сперматозоидов и отсутствием подвижности, чем с их количеством. У облученных животных проявляется компенсаторно-восстановительная реакция со стороны сперматогенеза, однако следует отметить, что на 120-е сутки после облучения в дозе 1 Гр изучаемые показатели приходят к норме, а при дозе 6 Гр не достигают контрольных значений, что, соответственно, отразилось на достаточно высоком уровне общей эмбриональной смертности у самок. Таким образом, выявленные наиболее выраженные показатели морфофункционального состояния семенников и сперматозоидов у мышей, подвергнутых воздействию γ -облучения в летальной и сублетальной дозах, позволяют оценить фертильность и дают возможность разработки лечебно-профилактических мер.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The author declares no conflict of interest.

Литература/References

1. Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, Cho CL, Henkel R, Vij S et al. Male infertility. *Lancet*. 2021;397(10271):319–33. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32667-2.
2. Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update*. 2015;21(4):411–26. DOI: 10.1093/humupd/dmv016.
3. Choy JT, Eisenberg ML. Male infertility as a window to health. *Fertil Steril*. 2018;110(5):810–4. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2018.08.015.
4. Grewenig A, Schuler N, Rube CE. Persistent DNA damage in spermatogonial stem cells after fractionated low-dose irradiation of testicular tissue. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015;92(5):1123–31. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2015.04.033.
5. Григорьев Ю.Г. Значимость адекватной информации по оценке опасности ЭМП сотовой связи для здоровья населения (первая четверть XXI века). *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2020;60(5):532–540. DOI: 10.31857/S0869803120050045.
Grigoriev YuG. Significance of adequate information about the danger of cellular connection for health of population in the XXI century. *Radiation biology. Radioecology*. 2020;60(5):532–540 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0869803120050045.
6. Верещачко Г.Г., Чуешова Н.В., Цуканова Е.В., Бакиаева М.А. Радиационное поражение сперматогенных клеток и эпидидимальных сперматозоидов крыс линии Вистар после внешнего облучения. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук*. 2017;2:40–45. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29185745> (получено 14.10.2022).
Vereschako GG, Chueshova NV, Tsukanova EV, Bakshayeva MA. Radiation injury spermatogenic cells and spermatozoa Wistar after external exposure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Biological Series*. 2017;2:40–45 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29185745> (accessed 14.10.2022).
7. Кульченко Н.Г., Демьяшкин Г.А. Морфологические изменения ткани яичек при бесплодии. *Андрология и генитальная хирургия*. 2016;17(3):38–42. DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-3-38-42.
Kulchenko NG, Demyashkin GA. Morphological changes in testicular tissue in infertility. *Andrology and genital surgery*. 2016;17(3):38–42 (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2016-17-3-38-42.
8. Первова Ю.В., Русакова Н.В., Старикова Т.В. Морфофункциональная характеристика сперматозоидов у субфертильных мужчин. *Морфологические ведомости*. 2021;29(2):80–83. DOI: 10.20340/mv-mn.2021.29(2).500.
Pervova YV, Rusakova NV, Starikova TV. The morphological and functional characteristics of spermatozoa in subfertile men. *Morphological newsletter*. 2021;29(2):80–83 (In Russ.). DOI: 10.20340/mv-mn.2021.29(2).500.
9. Мамина В.П. Радиационный риск эмбриональной гибели в различных стадиях развития половых клеток мышшей-самцов после низкодозного радиационного облучения. *Радиация и риск*. 2019;28(3):54–62. DOI: 10.21870/0131-3878-2019-28-3-54-62.
Mamina VP. Radiation risk of embryonic death at different stages of sex cells development following acute exposure of male mice to low dose ionizing radiation. *Radiation and risk*. 2019;28(3):54–62 (In Russ.). DOI: 10.21870/0131-3878-2019-28-3-54-62.
10. Ухов Ю.И., Астраханцев А.Ф. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. 1983;3(84):66–72. Доступно по адресу: <https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=vshosv> (получено 14.10.2022).
Ukhov YuI, Astrakhansev AF. Morphometric methods in assessing the functional state of testes. *Archives of Anatomy, Histology and Embryology*. 1983;3(84):66–72 (In Russ.). Available from: <https://www.elibrary.ru/item.asp?edn=vshosv> (accessed 14.10.2022).
11. Методические указания по изучению эмбриотоксического действия химических веществ при гигиеническом обосновании их ПДК в воде водных объектов. МУ 2926-83. Москва, 2021. Доступно по адресу: <https://meganorm.ru/Index2/1/4293750/4293750219.html> (получено 14.10.2022).
Methodological guidelines for studying the embryotoxic effect of chemical substances in the hygienic justification of their MPC in water bodies. MU 2926-83. Moscow, 2021 (In Russ.). Available from: <https://meganorm.ru/Index2/1/4293750/4293750219.html> (accessed 14.10.2022).
12. Меселмани М.Аль, Бакуев М.М., Шахбанов Р.К., Дибиров Т.М. Влияние однократного γ -облучения на морфологию семенников крыс. *Проблемы репродукции*. 2017;23(6):12–17. DOI: 10.17116/repro201723612-17.
Meselmani MAI, Bakuev MM, Shakhbanov RK, Dibirov TM. The impact of single external γ -irradiation on morphology of rat testis. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2017;23(6):12–17 (In Russ.). DOI: 10.17116/repro201723612-17.
13. Узбеков Д.Е., Хоши М., Чайжунусова Н.Ж., Шабдарбаева Д.М., Саякенов Н.Б. Гистоморфологические процессы в ткани семенников при воздействии ионизирующего излучения (обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017;1(часть 2):258–263. DOI: 10.17513/mjpf.11180.
Uzbekov DE, Hoshi M, Chaizhumusova NG, Shabdarbaeva DM, Sayakenov NB. Histomorphological processes in the testicular tissue at ionizing radiation exposure (literature review). *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2017;1(part 2):258–263 (In Russ.). DOI: 10.17513/mjpf.11180.
14. Демьяшкин Г.А. Апоптоз в семенных канальцах человека в норме и при идиопатическом бесплодии. *Цитология*. 2018;60(3):208–218. DOI: 10.31116/tsitol.2018.03.07.
Demyashkin GA. Apoptosis in seminiferous tubules of human in normal and in idiopathic infertility. *Tsitologiya*. 2018;60(3):208–218 (In Russ.). DOI: 10.31116/tsitol.2018.03.07.
15. Amanpour P, Khodarahmi P, Salehipour M. Protective effects of vitamin E on cadmium-induced apoptosis in rat testes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2020;393(3):349–58. DOI: 10.1007/s00210-019-01736-w.
16. Silva AM, Correia S, Casalta-Lopes JE, Mamede AC, Cavaco JE, Botelho MF et al. The protective effect of regucalcin against

- radiation-induced damage in testicular cells. *Life Sci.* 2016;164:31–41. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.09.003.
17. Ma HR, Cao XH, Ma XL, Chen JJ, Chen JW, Yang H et al. Protective effect of Liuweidihuang Pills against cellphone electromagnetic radiation-induced histomorphological abnormality, oxidative injury, and cell apoptosis in rat testes. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2015;21(8):737–41. PMID: 26442304.
18. Демьякин Г.А. Морфологическая характеристика сперматогенеза у крыс после прицельного облучения разными дозами электронов. *Клиническая и экспериментальная морфология.* 2021;10(2):40–49. DOI: 10.1088/CEM2021.10.2.40-49.
- Demyashkin GA.* Morphological features of spermatogenesis in rats after targeted irradiation with electrons of variable doses. *Clinical and experimental morphology.* 2021;10(2):40–49 (In Russ.). DOI: 10.1088/CEM2021.10.2.40-49.

Информация об авторе

Вера Павловна Мамина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института экологии растений и животных УрО РАН.

Author information

Vera P. Mamina – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Institute of Plant and Animal Ecology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

<https://orcid.org/0000-0001-7579-5440>