

УДК 591.46:613.163

КОРРЕКЦИЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КВЧ-ДИАПАЗОНА

Логинов П.В., Николаев А.А.

ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

Целью работы явилось изучение корректирующих эффектов селенсодержащего биокомплекса, состоящего из селенена и аскорбиновой кислоты, на морфофункциональное состояние семенников животных в условиях воздействия низкоинтенсивного микроволнового излучения. Самцов белых крыс массой 210 ± 10 г подвергали воздействию микроволнового излучения с частотой 42 ГГц ($\lambda = 7,1$ мм) в течение 30 дней по 30 минут ежедневно на фоне введения биокомплекса. Корректирующие свойства биокомплекса оценивали по уровню липопероксидации в ткани семенников, а также по морфокинетическим показателям эпидидимальных сперматозоидов. Под влиянием микроволнового излучения возрастал уровень малонового диальдегида и кинетические показатели ПОЛ в ткани семенников. Селенсодержащий биокомплекс способствовал общему приросту сперматогенных клеток и снижению деструктивных последствий микроволнового излучения. Наблюдалось улучшение сперматогенеза на начальных и конечных этапах сперматогенного цикла. Количество эпидидимальных сперматозоидов у животных, подвергавшихся воздействию микроволнового излучения и получавших биокомплекс, не отличалось достоверно от контрольных значений. Наблюдалось некоторое улучшение морфокинетических характеристик сперматозоидов, в сравнении с группой животных, подвергавшихся воздействию только излучения. Таким образом, коррекция сперматогенеза осуществлялась как за счет снижения интенсивности процессов свободнорадикального окисления в ткани семенников, так и за счет внедрения атомов селена в структуру пептидов, образующих хвостовую часть сперматозоидов.

Ключевые слова: эпидидимальные сперматозоиды, сперматогенные клетки, малоновый диальдегид, сперматогенный эпителий, антиоксиданты, селен

SPERMATOGENESIS CORRECTION UNDER CONDITIONS OF EHF MICROWAVE RADIATION EXPOSURE

Loginov P.V., Nikolaev A.A.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

The purpose of the paper was to study the correcting effects of the selenium-containing biocomplex, consisting of selenen and ascorbic acid, on morphofunctional state of testes in animals exposed by the low intensity microwave radiation. White male rats weighing 210 ± 10 g were subjected with the microwave radiation of 42 GHz ($\lambda = 7,1$ mm) during 30 days for 30 min daily on the background of the biocomplex intake. The correcting properties of the biocomplex were estimated by the lipoperoxidation level in testicular tissue and morphokinetic indexes of epididymal spermatozoa. Under conditions of low intensity electromagnetic radiation, peroxide haemolysis of erythrocytes has been found to increase that testifies to oxidative stress development. The malonic dialdehyde level and kinetic indexes of LPO increased in testicular tissue. The selenium biocomplex helped increase the total number of spermatogenic cells and reduce the destructive effects of microwave radiation. Spermatogenesis improvement at the initial and final stages of spermatogenic cycle took place. The total number of epididymal spermatozoa in the animals exposed by the microwave radiation on the background of selenium rich diet did not differ trustworthily from that of the control group. The certain improvement in morphokinetic characteristics of spermatozoa was observed in comparison with the group of animals exposed by the radiation only. Thus, the spermatogenesis correction was realized due to decreasing the intensity of free radical oxidation and introduction of selenium in the structure of the peptides composing the tail part of spermatozoa. The ascorbic acid showed the antioxidant properties and participated in regulation of selenium level in tissues.

Keywords: epididymal spermatozoa, spermatogenic cells, malonic dialdehyde, spermatogenic epithelium, antioxidants, selenium

Воздействие неблагоприятных факторов вызывает серьёзные эндокринные сдвиги в живом организме, в том числе на разных уровнях репродуктивного аппарата [1, 7]. К числу таких факторов можно отнести выбросы химических предприятий, многие физические факторы, эмоциональные стрессы, неполноценное питание и, конечно же, постоянно действующее на нас электромагнитное излучение различных диапазонов [3]. Сегодня низкоинтенсивное

электромагнитное (микроволновое) излучение используется в активно развиваемых телекоммуникационных системах: сотовых телефонах, устройствах Bluetooth, WiFi и WiMAX, поэтому изучение его влияния на биосистемы различного уровня организации является актуальной задачей [11]. Проблема, распределение и использование электроэнергии сопровождается воздействием на организм низкочастотных электромагнитных полей. Изучению влияния электро-

магнитных полей как высоких, так и низких частотных диапазонов на живые организмы посвящено достаточно работ [14]. Постоянное воздействие электромагнитного излучения на организм отрицательно сказывается на мужской репродуктивной функции [4]. Вместе с тем в литературе приводится мало сведений, касающихся профилактики нарушений репродуктивной функции в условиях стресса, вызванного электромагнитным излучением. В исследованиях последних лет говорится о протекторных свойствах антиоксидантов в условиях развития окислительного стресса. Это касается, прежде всего, функциональных возможностей такого классического антиоксиданта, как витамин Е [15]. Однако об альтернативных корректорах репродуктивной функции в условиях интенсификации процессов свободнорадикального окисления (СРО) говорится мало.

Целью настоящей работы является изучение корректирующих эффектов селенсодержащего биокомплекса, состоящего из селексена и аскорбиновой кислоты, на морфофункциональное состояние семенников экспериментальных животных в условиях воздействия низкоинтенсивного микроволнового излучения.

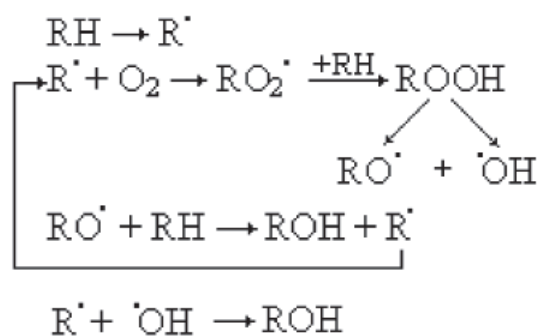
Материалы и методы исследования

Для исследования взяли 40 половозрелых самцов белых крыс массой 210 ± 10 г. Эксперименты на животных осуществлялись в соответствии с требованиями Женевской конвенции (1985). Животные были разделены на 4 группы: одна контрольная (К) и три опытные. В первую опытную группу (О-1) вошли животные, получавшие перорально селексен в сочетании с аскорбиновой кислотой в дозах соответственно 1,5 и 500 мг/кг массы тела животного в сутки в течение 50 дней. Группу О-2 составили животные, подвергавшиеся воздействию микроволнового излучения (МВИ) с частотой 42 ГГц («Явь-1-7,1»; $\lambda = 7,1$ мм) в течение 30 дней по 30 минут ежедневно. В группу О-3 вошли животные, получавшие селексен в сочетании с аскорбиновой кислотой в указанных дозах в течение 50 дней, а параллельно с третьей недели введения указанных препаратов подвергавшиеся воздействию МВИ указанного частотного диапазона в течение 30 дней по 30 минут ежедневно. По окончании экспериментальных воздействий в крови определяли уровень перекисного гемолиза эритроцитов [8]. В ткани семенников определяли исходный уровень малонового диальдегида (МДА) и кинетические показатели ПОЛ [12]. Состояние сперматогенеза у животных оценивали по методу, предложенному В.П. Маминой и Д.И. Семеновым [5]. Эпидидимальные сперматозоиды извлекали из хвостовой части эпидидимисов, разрезая их вдоль, семенную жидкость вымывали дозированным количеством физиологического раствора (эмпирически для крыс это количество 2–4 мл) и получали суспензию [10]. Подсчёт общего числа эпидидимальных сперматозоидов в суспензии производили в камере Горяева под окуляром светового микроскопа при увеличении 600х. Число

спермиев подсчитывали в 5 больших квадратах камеры Горяева по диагонали. Кроме того, определяли процентное соотношение между различными морфологическими формами сперматозоидов (дефективные, подвижные и мёртвые). Для общей оценки морфофункционального состояния тестикулярной ткани изготавливали срезы семенников толщиной 7 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием критерия Стьюдента (t), различия считали достоверными при $p < 0,05$ [2].

Результаты исследования и их обсуждение

Под действием электромагнитного излучения указанной частоты зафиксировано достоверное усиление перекисного гемолиза эритроцитов, в сравнении с контролем ($50,2 \pm 2,21$ и $42,2 \pm 3,49\%$ соответственно), что свидетельствует об усилении свободнорадикальных окислительных процессов в крови и развитии окислительного стресса. Развитие окислительного стресса, сопряжённого с радикальным окислением ненасыщенного фосфолипида RH, можно выразить следующей схемой [6]:



В условиях воздействия МВИ в ткани семенников отмечалось усиление динамики процессов СРО. Исходный уровень МДА возрос почти на 38,5%, по сравнению с контрольными значениями (табл. 1). Кинетические показатели ПОЛ в условиях стресса также возрастали, однако достоверное усиление липопероксидации наблюдалось в случае аСПОЛ. Вместе с тем селенсодержащий биокомплекс (селексен + аскорбиновая кислота) способствовал снижению исходного уровня МДА при воздействии МВИ, что указывает на проявление указанным биокомплексом антиоксидантных свойств (рис. 1).

В условиях воздействия микроволнового излучения наблюдалось полнокровие сосудов семенников и общее снижение половых клеток. Наблюдалось хаотичное расположение клеток сперматогенного эпителия на фоне в ряде случаев отслоения базальной мембраны. В отдельных случаях наблюдались множественные разрывы

базальной мембраны, запустевание семенных канальцев, либо неравномерная высота сперматогенного эпителия (рис. 2). Под влиянием ЭМИ указанной частоты отмечался прирост общего количества клеток Лейдига на 42%, в сравнении с контролем ($P < 0,001$), причем пролиферация происходила за счет главным образом средних клеток. Предварительное введение биоком-

плекса способствовало заметному снижению деструктивных эффектов, вызываемых одним только микроволновым излучением. Семенные канальцы были заполнены разными типами сперматогенных клеток. Ближе к просвету семенных канальцев можно видеть сперматозоиды. Высота сперматогенного эпителия оказалась визуально заметно выше (рис. 3).

Таблица 1

Изменение показателей ПОЛ в ткани семенников в условиях воздействия микроволнового излучения

Условия опыта	n	МДА _{исх.} , нмоль/0,05 г	Кинетические показатели, нмоль МДА/ч	
			спПОЛ	асПОЛ
Контроль	10	4,89 ± 0,151	45,97 ± 0,840	48,74 ± 0,702
МВИ	10	6,77 ± 0,272	48,32 ± 2,003	55,21 ± 0,894
P		P < 0,001	P > 0,05	P < 0,001

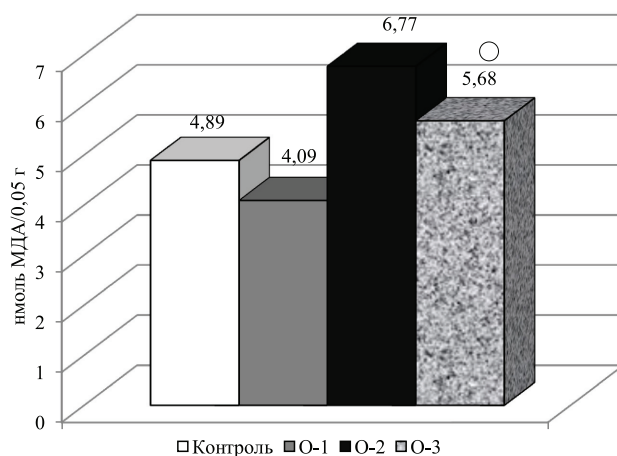


Рис. 1. Исходный уровень МДА под действием МВИ, селенсодержащего биокомплекса и их сочетания. ○ P = 0,01 – в сравнении с группой животных, подвергнутых воздействию МВИ

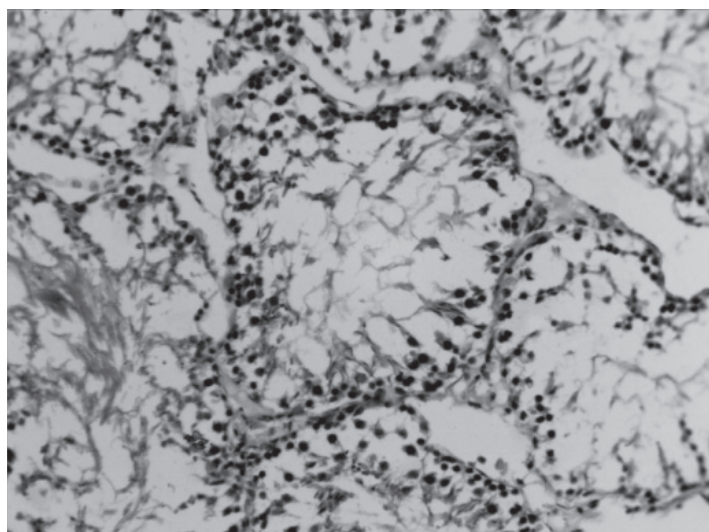


Рис. 2. Структура извитых канальцев семенников животных, подвергнутых воздействию микроволнового излучения. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 200x

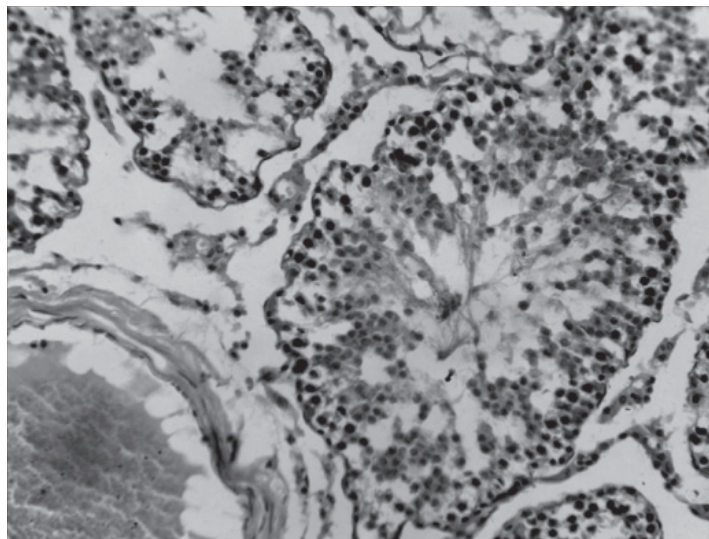


Рис. 3. Структура извитых канальцев семенников крыс, подвергавшихся воздействию микроволнового излучения и получавших селенсодержащий биокомплекс. Окраска гематоксилин-эозином. Увел. 200х

Под влиянием микроволнового излучения (опытная группа О-2) отмечалось уменьшение общего количества сперматогенных клеток. Наблюдалась пролиферация незрелых форм (сперматогонии и сперматоциты), в то время как относительное и абсолютное количество зрелых форм (сперматозоиды) резко сократилось. Предварительное введение селенсодержащего биокомплекса с последующим воздействием микроволнового излучения вызывает улучшение сперматогенеза на стадии превращения сперматид в сперматозоиды, в сравнении с группой животных, подвергавшихся воздействию только микроволнового излучения. При этом следует отметить выраженный прирост исходных клеток сперматогенного цикла – сперматогоний, по сравнению с контрольной группой. Кроме

того, абсолютное количество сперматозоидов в группе животных, подвергавшихся воздействию микроволнового излучения на фоне потребляемого селенсодержащего биокомплекса, оказалось даже выше по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Из полученных данных видно, что селенсодержащий биокомплекс в сочетании с микроволновым излучением крайне высоких частот (КВЧ) способствует нормализации сперматогенеза на начальных и конечных этапах сперматогенного цикла, что должно положительно сказаться на дальнейших этапах созревания спермы в эпидидимальной области семенника. Количество и морфофункциональное состояние эпидидимальных сперматозоидов у белых крыс в норме и в условиях экспериментальных воздействий отражено в табл. 3.

Таблица 2

Состояние сперматогенеза у крыс после воздействия микроволнового излучения

Тестикулярные показатели сперматогенеза	Контроль (n = 10)	Опытная группа О-2 (n = 10)	Опытная группа О-3 (n = 10)
Общее количество сперматогенных клеток, млн	5236 ± 270,0	4353 ± 154,0	5695 ± 304,0
Сперматогонии, %	22,5 ± 1,52	26,1 ± 1,22	27,0 ± 1,35
Сперматоциты, %	20,7 ± 1,67	27,2 ± 1,43	22,5 ± 1,09
Сперматиды, %	21,6 ± 1,76	20,8 ± 1,11	14,8 ± 0,72
Сперматозоиды, %	35,2 ± 2,66	25,9 ± 1,74	35,7 ± 1,77

Таблица 3

Состояние эпидидимальных сперматозоидов у крыс под действием микроволнового излучения, селенсодержащего биокомплекса и их сочетания

Показатели эпидидимальных сперматозоидов	Контроль (n = 10)	O-1 (n = 10)	O-2 (n = 10)	O-3 (n = 10)
Общее количество, млн	50,0 ± 6,51	54,3 ± 6,00	* 34,1 ± 1,38	ΔΔ 53,2 ± 4,83
Дефективные, %	18,2 ± 2,22	** 13,1 ± 0,62	** 30,5 ± 2,45	ΔΔ 21,2 ± 1,23
Подвижные, %	81,0 ± 6,20	88,0 ± 6,11	** 60,1 ± 2,65	66,4 ± 2,77
Мёртвые, %	9,8 ± 0,82	*** 4,7 ± 0,72	*** 30,2 ± 1,21	ΔΔΔ 17,4 ± 0,98

Примечания: * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001 – в сравнении с контролем; ΔΔ P < 0,01; ΔΔΔ P < 0,001 – в сравнении с группой животных, подвергавшихся воздействию микроволнового излучения.

Под влиянием МВИ количество дефективных сперматозоидов (30,5%) возросло в 1,7 раз, в сравнении с контролем (18,2%). Количество мёртвых сперматозоидов возросло в 3 раза (30,2%) по сравнению с контролем (9,8%) (P < 0,001). Отсутствие подвижности сперматозоидов в основном связано с таким дефектом, как облом хвоста, что можно объяснить усилением процесса липопероксидации в условиях воздействия микроволнового излучения. Предварительное потребление животными селенсодержащего биокомплекса способствовало снижению деструктивных последствий микроволнового излучения. Отмечалась тенденция к увеличению общего количества эпидидимальных сперматозоидов. Количество дефективных сперматозоидов в группе животных, подвергавшихся воздействию микроволнового излучения на фоне приёма селенсодержащего биокомплекса, не отличалось достоверно от такового контрольной группы. Селенсодержащий биокомплекс способствовал некоторому улучшению подвижности сперматозоидов в условиях воздействия микроволнового излучения, по сравнению с группой животных, подвергавшихся только воздействию излучения.

В дополнительном исследовании оценивали по разработанной нами методике средний коэффициент качества сперматозоидов (СККС) в%. Данный коэффициент учитывал морфологические и двигательные характеристики эпидидимальных сперматозоидов. Контроль принимали за 100%. В группе O-1 относительно контроля этот коэффициент составил 110%; в группе

O-2 – 65%, а в группе O-3 – 85%. Таким образом, селенсодержащий биокомплекс способствует улучшению морфокинетических показателей эпидидимальных сперматозоидов в условиях воздействия микроволнового излучения. Учитывая тот факт, что в сборке хвоста сперматозоидов участвует селенопептид, можно заключить, что морфофункциональное состояние сперматозоидов определяется возможностью поступления селена в организм [9].

Таким образом, селенсодержащий биокомплекс, включающий в себя аскорбиновую кислоту и селенсен, оказывает корректирующий эффект в отношении сперматогенной функции в условиях воздействия МВИ. Коррекция сперматогенеза достигается двумя путями:

- 1) за счет снижения интенсивности процессов СРО в ткани семенников;
- 2) за счет внедрения атомов селена в структуру пептидов, образующих хвостовую часть сперматозоидов.

Аскорбиновая кислота, будучи звеном ферментативной цепи антиоксидантной системы, способствует снижению уровня липопероксидации в тестикулярной ткани, что в целом благотворно сказывается на общем функциональном состоянии. Вместе с тем аскорбиновая кислота способна регулировать уровень селена в организме и выводить его избыток из организма [13]. Кроме того, селен является необходимым компонентом селенсодержащей глутатионпероксидазы, выступающей в качестве звена ферментативной цепи антиоксидантной системы.

Список литературы

1. Волков В.П. Функциональная морфология клеток Лейдига при антипсихотической терапии в зависимости от возраста // *Инновации в науке*. – 2015. – № 41. – С. 146–154.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
3. Логинов П.В., Николаев А.А. Молекулярно-физиологические аспекты токсического воздействия сероводородсодержащего газа на мужскую репродуктивную систему // *Астраханский медицинский журнал*. – 2009. – Т. 4, № 1. – С. 7–15.
4. Логинов П.В., Николаев А.А. Морфофункциональное состояние репродуктивной системы самцов белых крыс в условиях воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения // *Современные проблемы науки и образования*. – 2014. – № 6; URL: <http://www.science-education.ru/120-16903> (дата обращения: 16.01.2015).
5. Мамина В.П., Семенов Д.И. Метод определения количества сперматогенных клеток семенника в клеточной суспензии // *Цитология*. – 1976. – Т. 18, № 7. – С. 913–914.
6. Николаев А.А., Логинов П.В., Ветошкин Р.В. Участие свободных радикалов в функции сперматозоидов // *Астраханский медицинский журнал*. – Астрахань: Изд-во Астраханского ГМУ, 2014. – Т. 9, № 1. – С. 23–29.
7. Плосконос М.В. Значение полиаминов в репродуктивной функции мужчин // *Успехи современного естествознания*. – 2004. – № 11. – С. 97–98.
8. Покровский А.А., Абраров А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов // *Вопросы питания*. – 1964. – Т. 23, № 6. – С. 44–49.
9. Полуниин А.И., Луцкий Д.Л., Мирошников В.М. и др. Селен и цинк в коррекции мужской субфертильности. – Астрахань: Изд-во АГМА, 2002. – 42 с.
10. Саноцкий И.В., Фоменко В.Н. Отдалённые последствия влияния химических соединений на организм. – М.: Медицина, 1979. – 232 с.
11. Скамрова Г.Б., Евстигнеев М.П., Лантушенко А.О. и др. Влияние микроволнового излучения на частотах мобильной связи и сети WiMAX на проницаемость мембран клеток буккального эпителия человека // *Учёные записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. – 2011. – Т. 24(63), № 4. – С. 282–291.
12. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // *Современные методы в биохимии / под ред. акад. В.Н. Ореховича*. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
13. Behne D., Weiss-Nowak C., Kalcklösch M. et al. Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium-containing proteins // *Analyst*. – 1995. – Vol. 120, № 3. – P. 823–825.
14. Kwee S. Changes in cell proliferation due to environmental non-ionizing radiation: 2. Microwave radiation // *Bioelectrochemistry*. – 1997. – Vol. 44, № 2. – P. 251–255.
15. Loginov P.V., Teply D.L. Morphofunctional state of reproductive system in male rats under conditions of immobilization stress // *Естественные науки*. – 2014. – № 4(49). – С. 47–54.
3. Loginov P.V., Nikolaev A.A. *Astrahanskij medicinskij zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2009, vol. 4, no. 1, pp. 7–15.
4. Loginov P.V., Nikolaev A.A. Morfofunkcionalnoe sostojanie reproduktivnoj sistemy samcov belyh krysv v usloviyah vozdejstvija nizkointensivnogo jelektromagnitnogo izluchenija [Morphofunctional state of reproductive system in white male rats under conditions of influence of low intensity electromagnetic radiation]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija* [Modern Problems of Science and Education], 2014, no. 6, available at: <http://www.science-education.ru/120-16903> (accessed 16 January 2015).
5. Mamina V.P., Semenov D.I. *Citologija* [Cytology], 1976, vol. 18, no. 7, pp. 913–914.
6. Nikolaev A.A., Loginov P.V., Vetoshkin R.V. Uchastie svobodnyh radikalov v funkcii spermatozoidov [Free radical participation in spermatozoid function]. *Astrahanskij medicinskij zhurnal* [Astrakhan Medical Journal], 2014, vol. 9, no. 1, pp. 23–29.
7. Ploskonos M.V. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya* [Advances in Current Natural Sciences], 2004, no. 11, pp. 97–98.
8. Pokrovskiy A.A., Abrarov A.A. K voprosu o perekisnoy rezistentnosti eritrotsitov [On the peroxide resistance of erythrocytes]. *Voprosy pitaniya* [Nutrition Issues], 1964, vol. 23, no. 6, pp. 44–49.
9. Polunin A.I., Lutskiy D.L., Miroshnikov V.M., Nikolaev A. A. *Selen i tsink v korrektsii muzhskoy subfertilitnosti* [Selenium and zinc in male subfertility correction]. Astrakhan, ASMA Publ., 2002. 42 p.
10. Sanotskiy I.V., Fomenko V.N. *Otdalennye posledstviya vliyaniya khimicheskikh soedineniy na organism* [The long-term effects of exposure to chemicals on the body]. Moscow, Meditsina Publ., 1979. 232 p.
11. Skamrova G.B., Evstigneev M.P., Lantushenko A.O. i dr. *Uchjonye zapiski Tavricheskogo nacionalnogo universiteta im. V.I. Vernadskogo* [Scientific notes of Tauride National University named after V.I. Vernadsky], 2011, vol. 24(63), no. 4, pp. 282–291.
12. Stalnaya I.D., Garishvili T.G. Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoschyu tiobarbiturovoj kisloty [Method for determining malonic dialdehyde using the thiobarbituric acid]. *Sovremennye metody v biokhimii* [Modern methods in biochemistry]. Moscow, Meditsina Publ., 1977, pp. 66–68.
13. Behne D., Weiss-Nowak C., Kalcklösch M. et al. *Analyst*, 1995, vol. 120, no. 3, pp. 823–825.
14. Kwee S. *Bioelectrochemistry*, 1997, vol. 44, no. 2, pp. 251–255.
15. Loginov P.V., Teply D.L. Morphofunctional state of reproductive system in male rats under conditions of immobilization stress. *Yestestvennye nauki* [Natural Sciences], 2014, no. 4(49), pp. 47–54.

References

1. Volkov V.P. *Innovacii v nauke* [Innovations in science], 2015, no. 41, pp. 146–154.
2. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika* [Biomedical Statistics]. Moscow, Practice Publ., 1999. 459 p.

Рецензенты:

Великородов А.В., д.х.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии Астраханского государственного университета, г. Астрахань;

Бойко О.В., д.м.н., профессор кафедры биохимии с курсом лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 10.04.2015.