

И.К. Беляев, А.С. Самойлов**ЗАЩИТА СПЕРМАТОГЕНЕЗА β -КАРОТИНОМ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ.
СООБЩЕНИЕ 1: ОДНОКРАТНОЕ ОСТРОЕ ВНЕШНЕЕ γ -ОБЛУЧЕНИЕ.
КРАТКОСРОЧНОЕ НАЗНАЧЕНИЕ КАРОТИНОИДА**

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: 9424159@bk.ru
И.К. Беляев – зав. лаб., к.б.н., с.н.с.; А.С. Самойлов – генеральный директор, д.м.н., проф. РАН

Реферат

Цель: Экспериментальная оценка эффективности коррекции β -каротином (БК) радиационно-индуцированных однократным острым γ -облучением нарушений сперматогенеза самцов (σ) мышей линии F₁ СВАхС₉₇В1 и нелинейных крыс при краткосрочном назначении каротиноида.

Материал и методы: Однократное внешнее γ -облучение σ осуществлено на установке ИГУР (¹³⁷Cs, мощность дозы 0,029 Гр/с). Суспензия β -каротина вводилась σ перорально за 19 и 4 ч до, через 4 и 24 ч после облучения. О поражении и эффективности защиты сперматогенеза облученных σ судили по состоянию их репродуктивной функции.

Результаты: Установлены эффекты коррекции краткосрочного назначения β -каротина радиационно-индуцированных однократным острым внешним γ -облучением в дозах 3 и 5 Гр нарушений сперматогенеза мышей и крыс на стадиях зрелых спермиев, сперматид и сперматогониев.

β -каротин у σ мышей позволил снизить общую эмбриональную смертность через 8–14 и 77–84 сут после облучения в дозе 3 Гр с 46 до 36 и с 41 до 28 %, доимплантационную – через 8–14 и 15–21 сут – с 24 до 13 и с 31 до 22 %, постимплантационную – через 0–7 и 77–84 сут – с 24 до 15 и с 25 до 7 % соответственно.

У σ крыс через 0–7 сут после облучения в дозе 5 Гр снизилась общая, до-, пост- и индуцированная постимплантационная эмбриональная смертность с 62 до 41, с 34 до 17, с 41 до 30 и с 38 до 26 %, через 13–20 сут – доимплантационная смертность – с 27 до 11 %.

На стадии сперматозоидов после облучения в дозе 3 Гр увеличилась эффективность скрещивания с 70 до 100 %, плодовитость – на 23–31 %; снизилась общая и доимплантационная смертность с 49 до 39 % и с 41 до 27 % соответственно.

На стадии сперматид была предотвращена стерилизация и нормализовалась эффективность скрещивания, снизилась пост- и индуцированная постимплантационная смертность с 25 до 20 и с 17 до 12 % соответственно. Лечебно-профилактических эффектов β -каротина на стадии сперматид не выявлено.

На стадии сперматогониев каротиноид позволил увеличить общее количество и число живых эмбрионов у беременных самок (σ) с 36 до 55 и с 20 до 50 %, а также снизить общую и доимплантационную смертность с 81 до 56 и с 69 до 42 % соответственно.

Заключение: Изложенные факты свидетельствуют о перспективности использования краткосрочного назначения β -каротина с целью коррекции радиационных поражений гонад в группах риска воздействия ионизирующего облучения и включения β -каротина в схему медикаментозной профилактики острых лучевых поражений сперматогенеза.

Ключевые слова: внешнее острое γ -облучение, сперматогенез, β -каротин, краткосрочное назначение, мыши, крысы

Поступила: 20.12.2017. Принята к публикации: 14.06.2018

Введение

Радиационное загрязнение среды оказывает негативное влияние на состояние репродуктивной функции человека, домашних и диких млекопитающих животных, вызывая различные формы нарушения сперматогенеза [1]. Высокая чувствительность гонад к воздействию ионизирующих излучений и важность вклада их поражений в комплекс радиационных синдромов у человека обуславливает актуальность профилактики радиационных нарушений (поражений) репродуктивной функции организма. Для защиты гонад от поражающего действия ионизирующего облучения экспериментально апробированы известные радиопротекторы (меркамин, цистамин, мексамин, индралин), применяемые для защиты организма в условиях острого общего облучения от внешних источников [2–6]. Ограничения использования радиопротекторов в качестве радиозащитных средств при поражении гонад обусловлены эмбриотоксическими эффектами [7].

В настоящее время в арсенале медицины отсутствуют эффективные средства профилактики радиационных поражений репродуктивной системы.

Для β -каротина (БК) при однократном остром внешнем облучении установлены радиопротекторные (по отношению к целостному организму) свойства [8–17]. Однако это неоднозначно соответствует защите и репродуктивной системы. Так, «...облучение мышей в дозе 9–10 Гр через 5 мин после введения 2,2,5-тетра-метилазолидона в дозе 500 мг/г увеличило выживаемость до 80–90 %, но у облученных самок в условиях химической защиты обнаружена необратимая стерильность» [18].

Предположение о перспективности коррекции радиационных поражений репродуктивной системы БК основывалось на несомненном участии каротиноидов в процессах размножения. На это обстоятельство указывают их высокие концентрации в репродуктивных органах грибов, водорослей, высших растений и животных [19]. Обширная литература свидетельствует о том, что БК оказывает специфическое влияние на воспроизводительный цикл сельскохозяйственных животных, в котором он не может быть заменён витамином А. Уровень внутриклеточных протекторов и антиоксидантов относят к одному из факторов, определяющих радиорезистентность клеток к облучению [20]. БК (3,7,12,16-тетраметил-1,18-бис-2,6,6-триметилциклогексен-1-ил-октадека-

ноен-1,3,5,7,9,11,13,15,17) относится к классу тетраперенов, углеродный скелет которых построен из четырех C₅-изопреновых фрагментов [21, 22], являясь биологическим антиоксидантом, который особенно эффективен при низких парциальных значениях давления кислорода, физиологически присущих тканям живого организма. Показано, что БК является эффективным тушителем синглетного кислорода и может поглощать свободные радикалы до того, как они прореагируют с нуклеиновыми кислотами. Предполагается, что защитное действие БК опосредуется через изменения стабильности мембран путем увеличения радиорезистентности к поражению перекисями и одновременного возрастания содержания токоферола в мембранах клетки. Формы витамина А, являясь метаболитами БК, могут защищать репродуктивную систему через индукцию клеточной дифференцировки [23].

По материалам экспериментальных исследований синтетического БК получена приоритетная справка Государственного комитета по делам изобретений и открытий СССР № 511704/3694 «Средство профилактики радиационного поражения гонад» [24] и аргументирована перспективность дальнейших исследований эффективности коррекции БК радиационных поражений репродуктивной системы [25]. Выраженные эффекты защиты гонад ♂ БК выявлены при инкорпорации ⁹⁰Sr. Введение БК в рацион ♂ крыс позволило практически в течение всего репродуктивного периода купировать стерилизующий эффект инкорпорированного излучателя, в 6–10 раз предотвратить снижение эффективности скрещивания и плодовитости ♂ и фактически исключить индуцированную постимплантационную смертность их потомства [26].

У ♂ линии Вистар установлены гонадо- и генопротекторные свойства препарата «Каротин микробиологический (провитамин А) в масле» при хроническом воздействии дихромата калия K₂Cr₂O₇ [27]. Пероральное (три раза в неделю по 2,8 мг) введение животным микробиологического БК нормализовало сперматогенез и снизило эмбриональные потери. Препарат получен экстракцией из биомассы мукорового гриба *Blakeslae trispora* на химико-фармацевтическом объединении «Уралсинтез» (г. Екатеринбург) и кроме каротина содержит токоферол, ненасыщенные жирные кислоты, 17 аминокислот, витамины группы В и другие биологически активные соединения [28].

Применение БК для защиты сперматогенеза при однократном остром внешнем радиационном поражении ранее не было описано.

Материал и методы

Исследования по изучению модификации БК последствий радиационных воздействий выполнены на 40 самцах (♂) и 384 самках (♀) мышей линии F₁ СВАхС₉₇В1, достигших половой зрелости и на 126 ♂ и 408 ♀ нелинейных крыс с массой тела 171–271 (по 5–8 ♂ и 15–24 ♀ в экспериментальной группе). Животные содержались на стандартном виварном рационе [29]. Однократное внешнее γ-облучение ♂ осуществлено

на установке ИГУР (¹³⁷Cs, мощность дозы 0,029 Гр/с). БК синтезирован в лаборатории химии и технологии полиеновых соединений НПО «Витамины» [30]. Микробиологический БК получен методом микробиологического синтеза из культуры гриба *Blakeslae trispora* [31].

Исследованы ресуспендированные в растительном масле пасты с 10 и 30 %-ным содержанием БК при добавлении 5 % пальмитиновой кислоты, 0,056 % бутилокситолуола (БОТ) – (2,6-ди-третбутил-4-метилфенол) и 0,028 % бутилоксианизола (БОА) – (4,4'-тиобис-6-третбутил-3-метилфенил) из расчета соответственно 5,6 и 2,8 мг на 1 г каротиноида. Суспензия пасты вводилась ♂ перорально (по 0,1, 1 или 10 мг БК) за 19 и 4 ч до, через 4 и 24 ч после облучения в дозах 1,5,3 или 5 Гр.

О поражении и эффективности защиты сперматогенеза облученных ♂ судили по состоянию их репродуктивной функции, оцениваемой путем помещения в отдельные клетки одного ♂ и трех ♀ сроком на 7 сут. Оценка радиозащитной эффективности БК на разных стадиях сперматогенеза осуществлена в соответствии с литературными данными о цикле сперматогенного эпителия у крыс [32] и мышей [33]. Сроки подсадки интактных ♀ к облученным ♂ и соответствующие им стадии сперматогенеза крыс и (мышей): 0–7 (1–7), 13–20 (8–21), 28–35 (22–35) и 41–48 (36–42) сут, что соответствует оплодотворению сперматозоидами, облученными на стадии зрелых спермиев, сперматид, сперматоцит и сперматогониев соответственно.

Эвтаназия ♀ осуществлялась методом эфирной наркотизации через 10–11 сут после их удаления от ♂, т.е. на 18–11 сут беременности. У беременных ♀ подсчитывали количество желтых тел беременности в яичниках, число живых и погибших эмбрионов, количество мест имплантации. Далее рассчитывали:

- индекс плодовитости (фертильности) ♂ (эффективность скрещивания) = число покрытых (беременных) ♀ / число спариваемых ♀, %;
- общую эмбриональную смертность = (В – А) / В × 100 %;
- предимплантационную эмбриональную смертность = [В – (А+Б)] / В × 100 % от В;
- постимплантационную эмбриональную смертность = Б / (А+Б) × 100 %,

где: А – число живых, Б – число мертвых эмбрионов, А+Б – число мест имплантации, В – число желтых тел беременности. Среднее число желтых тел варьировало от 14 до 18 при отсутствии статистически значимых различий между сравниваемыми экспериментальными группами.

Рассчитывали общее среднее число эмбрионов, количество живых и погибших эмбрионов на спариваемых ♂, ♀ и на беременную ♀. Индуцированная постимплантационная смертность как процент доминантных летальных мутаций (ДЛМ) рассчитана согласно формуле, приведенной в публикациях [34, 35]:

$$\text{ДЛМ} = [(\text{ПГ}_{\text{опыт}} - \text{ПГ}_{\text{контроль}}) / 100 - \text{ПГ}_{\text{контроль}}] \times 100 \%,$$

где: ПГ – постимплантационная гибель, т.е. % эмбрионов, прекративших развитие после имплантации. Контроль – интактные животные. Достоверность на-

Таблица 1

Эмбриональная смертность потомства ♂ мышей при облучении в дозе 3 Гр (средняя арифметическая ± среднеквадратическая погрешность средней)

Эмбриональная смертность	Экспериментальная группа	Срок обследования после облучения, сут					
		0–7	8–14	15–21	22–29	36–43	77–84
Общая	Биоконтроль	18±4	–	–	–	–	23±2
	3 Гр	33±4	46±3	55±3	61±6	71±13	41±7
	3 Гр + БК	29±3	36±3 ^{а)}	53±4	60±6	73±5	28±3 ^{б)}
Доимплантационная	Биоконтроль	14±4	–	–	–	–	20±3
	3 Гр	11±3	24±3	31±4	42±6	65±14	23±3
	3 Гр + 0,1 мг БК	15±3	13±2 ^{в)}	22±3 ^{г)}	42±8	65±6	20±3
Постимплантационная	Биоконтроль	4±1	–	–	–	–	3±1
	3 Гр	24±5	30±3	37±4	34±10	24±17	25±9
	3 Гр + БК	15±3 ^{а)}	24±3	38±4	23±6	21±8	7±1 ^{е)}

Примечание: Различия с контролем достоверны ^{а), б)} – при $p = 0,04$ и $0,02$ (критерий Вилкоксона–Манна–Уитни); ^{в), г)} – при $p = 0,01$ и $0,05$ (критерий Стьюдента и Вилкоксона–Манна–Уитни); ^{д), е)} – при $p = 0,05$ и $0,02$ (критерий Стьюдента и Вилкоксона–Манна–Уитни). Достоверность различий между группами 3 Гр и 3 Гр+БК по совокупности показателей эмбриональной смертности $p = 0,05$ (критерий знаков Z)

блюдаемых различий оценена с использованием критериев Стьюдента, Вилкоксона–Манна–Уитни, X Вандер-Вардена, теста Шеллинга–Вольфейля, критерия знаков Z [36, 37].

Результаты и обсуждение

При оценке возможности коррекции БК радиационно-индуцированных нарушений сперматогенеза мышей выявлены статистически значимые радиозащитные эффекты БК. Суспензия каротиноида вводилась ♂ мышей перорально зондом по 0,1 мг БК: за 19 и 4 ч до, через 4 и 24 ч после облучения. Облучение ♂ мышей в дозе 1,5 Гр по сравнению с интактными животными статистически значимо не повлияло на общую, до- и постимплантационную гибель их потомства, оцененную при спаривании через 77–84 сут после радиационного воздействия.

Облучение ♂ мышей в дозе 3 Гр (табл. 1) обусловило увеличение общей эмбриональной смертности их потомства при оплодотворении интактных ♀ сперматозоидами, облученными на стадии зрелых спермиев (спаривание через 0–7 сут после облучения) с 18 до 33 %, облученными на стадии сперматогониев (спаривание через 77–84 сут после облучения) с 23 до 41 %. БК достоверно ($p = 0,04$ и $0,02$) снижал общую эмбриональную смертность потомства облученных ♂ при спаривании через 8–14 и 77–84 сут после радиационного воздействия с 46 до 36 и с 41 до 28 % соответственно (табл. 1). Достоверно ($p = 0,01$ и $0,05$) снижалась БК доимплантационная эмбриональная смертность потомства облученных ♂ при их спаривании с интактными ♀ через 8–14 (поздние сперматиды) и 15–21 сут (ранние сперматиды) после радиационного воздействия с 24 до 13 и с 31 до 22 % соответственно. Уменьшалась ($p = 0,05$ и $0,02$) и постимплантационная эмбриональная смертность потомства облученных ♂ при спаривании через 0–7 и 77–84 сут после радиационного воздействия в дозе 3 Гр с 24 до 15 и с 25 до 7 % соответственно.

Через 0–7 сут после облучения нелинейных крыс ♂ в дозе 5 Гр (рис. 1 и табл. 2) снижения эффективности скрещивания по отношению к возрастному био-

логическому контролю и стерилизации ♂ не выявлено. Число эмбрионов на спариваемого облученного ♂, спаренную и беременную ♀ снизилось на 9–15 %, живых – на ~40 %. БК позволил увеличивать плодовитость облученных ♂ на 6–20 %. Количество погибших эмбрионов при облучении ♂ возросло в 4–5,5 раза. БК снизил этот показатель с 400–550 до 300–500 % от биоконтроля. Различия совокупности эмбриональных показателей плодовитости между облученными и защищенными БК животными достоверны при $p = 0,02$ (критерий знаков Z). Общая, до- и постимплантационная эмбриональная смертность потомства облученных ♂ увеличилась с 27 до 62, с 22 до 34 и с 5 до 41 % соответственно. Индуцированная постимплантационная смертность потомства составила 38 %. БК позволил снизить общую, до-, пост- и индуцированную постимплантационную смертность на 11–21 %.

При спаривании облученных ♂ с интактными ♀ через 13–20 сут после радиационного воздействия в дозе 5 Гр (рис. 2, табл. 2) установлена 33 %-стерилизация ♂ в группе плацебо. Эффективность скрещивания ♂ в облученном контроле и группе плацебо, по сравнению с интактными животными снизилась до 81 и 69 %. БК позволил увеличить эффективность скрещивания до 87–106 %. Число эмбрионов на спариваемого облученного ♂, спаренную и беременную ♀ снизилось до 62–92 %, живых – до 41–64 %. БК увеличивал плодовитость облученных ♂ на 7–45 %. Количество погибших эмбрионов при облучении ♂ возросло в 3–4 раза, БК не повлиял на этот показатель. Достоверность различий совокупности эмбриональных показателей плодовитости между облученными и защищенными БК животными достигает $p = 0,01$ (критерий знаков Z). Общая, до-, постимплантационная эмбриональная смертность потомства облученных ♂ увеличилась с 24 до 49 и 42, с 16 до 27 и 18, с 10 до 30 и 34 % соответственно, а индуцированная постимплантационная смертность потомства – 22 и 29 %. БК снизил общую, до-, пост- и индуцированную постимплантационную смертность на 11–21 %.

При спаривании облученных ♂ с интактными ♀ через 28–35 сут после облучения в дозе 5 Гр выяв-

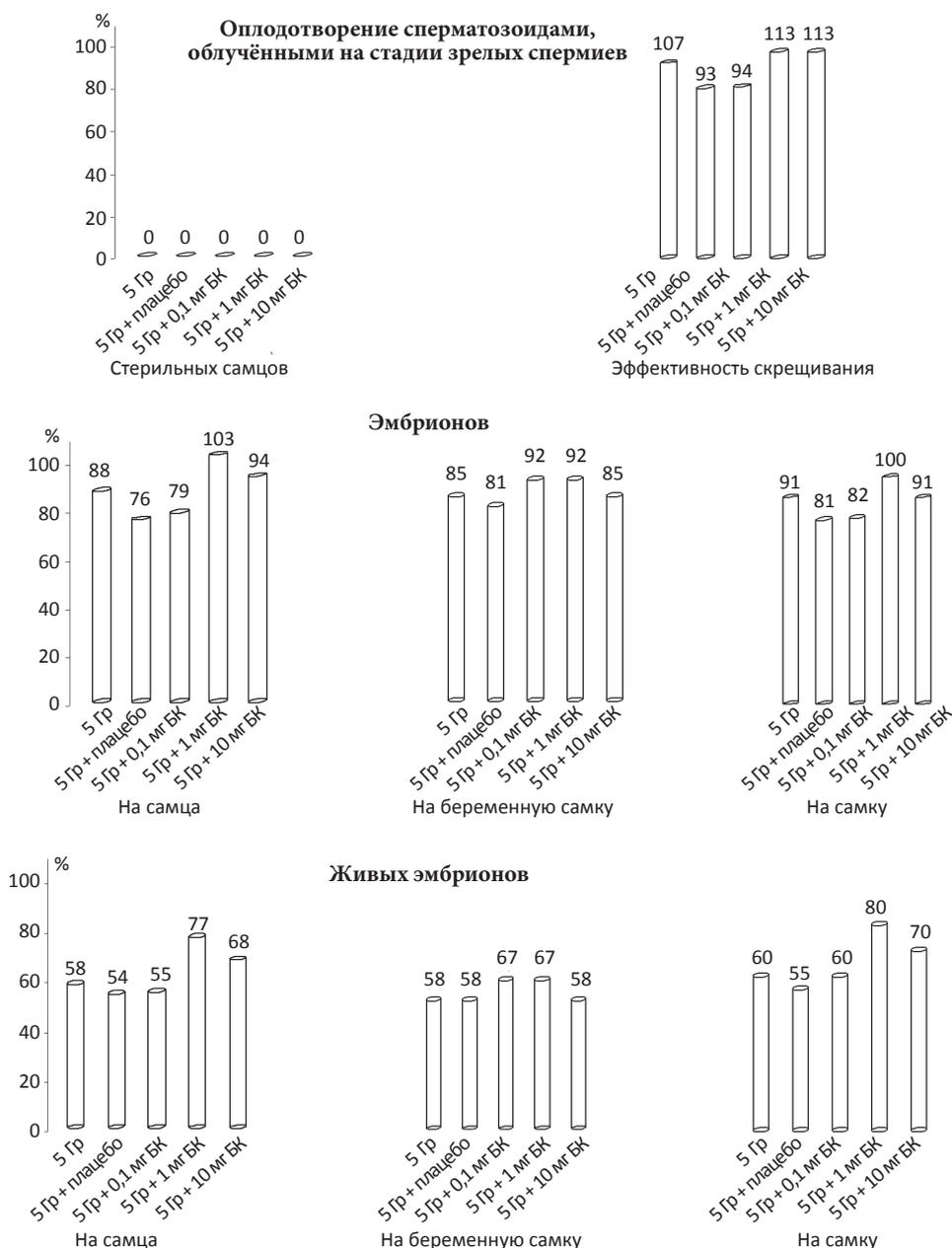


Рис. 1. Плодовитость нелинейных крыс ♂ при облучении в дозе 5 Гр (спермии). По оси ординат – % от биоконтроля. Достоверность различий совокупности показателей между облучёнными и защищёнными БК животными $p = 0,02$ (критерий знаков Z)

лена 17 и 20 %-стерилизация ♂ в группах плацебо и 5 Гр+1 мг БК. Эффективность скрещивания ♂ в группе плацебо по сравнению с интактными животными снизилась до 71 %. БК позволил увеличить эффективность скрещивания до 87–106 %. Число эмбрионов на спариваемого облученного ♂, спаренную и беременную ♀ снизилось до 90–92 %, живых – до 36–37 %. В группе плацебо – до 64–91 и 22–31 % соответственно. БК не увеличил плодовитость облучённых ♂. Количество погибших эмбрионов при облучении ♂ возросло в 7 раз, причем БК не повлиял на этот показатель. Общая, до-, постимплантационная эмбриональная смертность потомства облучённых ♂ увеличились с 28 до 73 и 78, с 19 до 28 и 34, с 8 до 61 и 73 % соответственно (табл. 2). Индуцированная постимплантационная смертность потомства составила 57 и 71 %. БК не повлиял на об-

щую, до-, пост- и индуцированную постимплантационную смертность. Более того, для дозы 10 мг БК доимплантационная смертность потомства возросла с 28 до 46 %.

100 %-ная стерилизация ♂ через 41–48 сут после облучения в дозе 5 Гр не позволила оценить эффективность скрещивания, плодовитость и эмбриональную смертность их потомства. При назначении БК в количестве 0,1 или 10 мг тенденция снижения стерилизующего действия облучения составила 17 %, повышения эффективности скрещивания – 6 %.

Через 0–7 сут после облучения нелинейных крыс ♂ в дозе 3 Гр (рис. 3, табл. 3) эффективность их скрещивания по отношению к биоконтролю снизилась со 100 до 70 %. БК в количестве 10 мг позволил восстановить её до 100 %. Плодовитость облученных ♂, оцененная

Таблица 2

Эмбриональная смертность потомства ♂ крыс при облучении в дозе 5 Гр (средняя арифметическая ± среднеквадратическая погрешность средней)

Оплодотворение сперматозоидами, облучёнными на стадии	Эмбриональная смертность	Биоконтроль	5 Гр	5 Гр + плацебо	5 Гр + БК, мг		
					0,1	1	10
Зрелых спермиев	Общая	27±4	62±4*	59±5*	55±3	41±5 ^a	57±3
	Доимплантационная	22±4	34±6*	36±6*	26±4	17±4 ^a	36±5
	Постимплантационная	5±2	41±6*	32±7*	38±6	30±4	32±4
	Индукцированная постимплантационная	–	38±7	29±7	34±6	26±4	28±4
Сперматид	Общая	24±5	49±7	42±8	47±6	41±4 (44±5)	43±5
	Доимплантационная	16±2	27±6*	16±5	24±7	11±5 ^a (14±4) ^a	22±4
	Постимплантационная	10±3	30±5*	34±9	28±6	33±5 (33±6)	26±4
	Индукцированная постимплантационная	–	22±5	29±10	21±6	26±6 (26±6)	18±5
Сперматоцит	Общая	28±6	73±5*	78±5*	81±4	68±5 (77±6)	80±4
	Доимплантационная	19±6	28±7	34±10	36±7	25±4 (33±9)	46±7
	Постимплантационная	8±2	61±6*	73±6	58±7	62±6 (66±7)	62±7
	Индукцированная постимплантационная	–	57±6	71±6	54±8	58±8 (63±8)	58±8
Сперматогоний	Общая	30±7	–	–	100	– (71)	91
	Доимплантационная	20±7	–	–	90	– (59)	19
	Постимплантационная	14±4	–	–	100	– (29)	50
	Индукцированная постимплантационная	–	–	–	100	– (17)	42

Примечание: * – различия с биоконтролем и ^a – с облучённым контролем достоверны. В скобках – микробиологический БК

по общему числу эмбрионов на облученного ♂, спаренную и беременную ♀ по сравнению с биоконтролем, снизилась со 100 до 53–69, живых – до 45–67 % соответственно. БК увеличил её на 23–31 %.

Количество погибших эмбрионов при облучении ♂ возросло на 20–60 %. Облучение ♂ увеличило общую, до- и постимплантационную эмбриональную смертность их потомства 26 до 49, с 22 до 41 и с 5 до 13 % соответственно. БК снизил общую эмбриональную смертность с 49 до 39 %, доимплантационную гибель – с 41 до 27 %.

При спаривании облученных ♂ с интактными ♀ через 13–20 сут после радиационного воздействия в дозе 3 Гр (рис. 3, табл. 3) установлена 20 %-ная стерилизация ♂. Эффективность скрещивания снизилась со 100 до 82 %. БК предотвратил стерилизацию и нормализовал эффективность скрещивания облученных ♂. Их плодовитость, оцененная по общему числу эмбрионов на облученного ♂, спаренную и беременную ♀ по сравнению с биоконтролем снизилась со 100 до 80–92, живых – до 67–73 %. БК увеличил её на 5–10 %. Количество погибших эмбрионов при облучении ♂ возросло в 2,3–2,8 раза. БК снизил этот показатель с 230–280 до 220–230 % от биоконтроля. Общая и постимплантационная эмбриональная смертность потомства ♂, облученных в дозе 3 Гр, по сравнению с биоконтролем возросла соответственно, с 24 до 41 и с 10 до 25 %. БК снизил пост- и индуцированную постимплантационную гибель с 25 до 20 % и с 17 до 12 %.

Достоверность различий совокупности показателей эмбриональной смертности между облучёнными и защищёнными БК животными составила $p = 0,01$ (критерий знаков Z).

При спаривании облучённых ♂ с интактными ♀ через 28–35 сут после облучения в дозе 3 Гр (табл. 3) снижения эффективности скрещивания и плодовитости ♂, оценённой по общему числу эмбрионов на спариваемых ♂, ♀ и на беременную ♀ не наблюдалось. Число живых эмбрионов – снижалось со 100 до 63–70 %. Количество погибших – возрастало в 4,6–5 раз. Облучение ♂ увеличило общую, до- и постимплантационную эмбриональную смертность с 28 до 58, с 19 до 23 и с 8 до 39 % соответственно. Индуцированная постимплантационная смертность составила 34 % (табл. 3). Лечебно-профилактических эффектов БК при оплодотворении интактных ♀ сперматозоидами, облучёнными на стадии сперматоцит, не выявлено.

При оценке состояния репродуктивной функции ♂ нелинейных крыс, облучённых в дозе 3 Гр, через 41–48 сут (табл. 3) количество стерильных ♂ достигло 40 %. Эффективность скрещивания ♂ по сравнению с биоконтролем уменьшилась со 100 до 35 %. Плодовитость ♂, оценённая по общему числу эмбрионов и по количеству живых эмбрионов на спариваемых ♂, ♀ и беременную ♀, снизилась со 100 до 11–36 % и до 7–20 %. БК позволил увеличить общее количество и число живых эмбрионов у беременных самок с 36 до 55 и с 20 до 50 %. Общая эмбриональная смертность

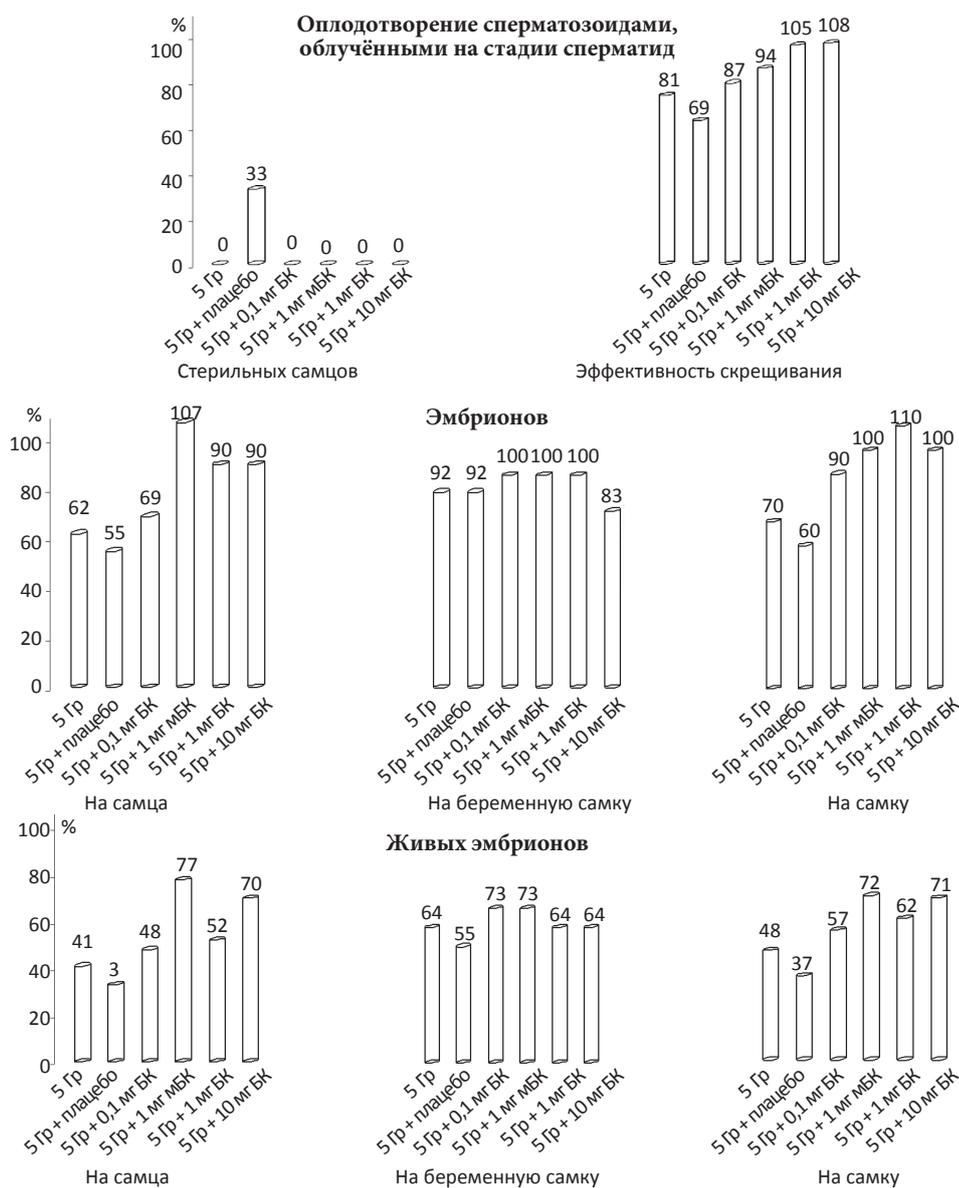


Рис. 2. Плодовитость нелинейных крыс ♂ при облучении в дозе 5 Гр (сперматиды). По оси ординат – % от биоконтроля. Достоверность различий совокупности показателей между облучёнными и защищёнными БК животными $p = 0,01$ (критерий знаков Z)

Таблица 3

Эмбриональная смертность потомства ♂ крыс при облучении в дозе 3 Гр (средняя арифметическая ± среднеквадратическая погрешность средней)

Оплодотворение сперматозоидами, облучёнными на стадии	Эмбриональная смертность	Биоконтроль	3 Гр	3 Гр + 10 мг БК
Зрелых спермиев	Общая	26±4	49±9*	39±7
	Доимплантационная	22±4	41±9*	27±6
	Постимплантационная	5±2	13±5	17±5
	Индукцированная постимплантационная	–	8±6	13±5
Сперматид	Общая	24±5	41±3*	39±5
	Доимплантационная	16±2	16±4	19±4
	Постимплантационная	10±3	25±4	20±3
	Индукцированная постимплантационная	–	17±4	12±4
Сперматоцит	Общая	28±6	58±5*	53±6
	Доимплантационная	19±6	23±4	21±8
	Постимплантационная	8±2	39±7*	40±6
	Индукцированная постимплантационная	–	34±7	35±6
Сперматогоний	Общая	30±7	81±6*	56±27
	Доимплантационная	20±7	69±12*	42±34
	Постимплантационная	14±4	23±12	26±25
	Индукцированная постимплантационная	–	10±14	14±29

Примечание: * – различия с биоконтролем достоверны

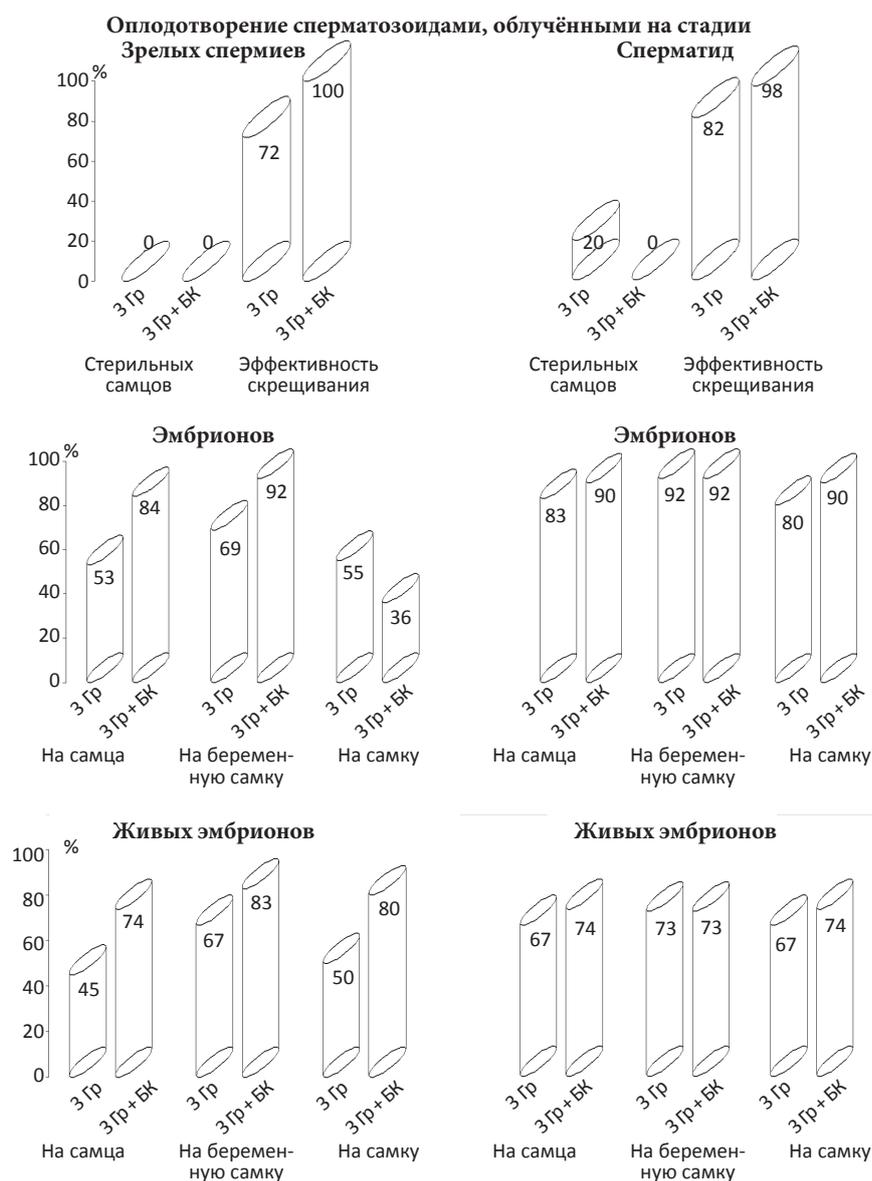


Рис. 3. Плодовитость нелинейных крыс ♂ при назначении БК (по 10 мг) и облучении в дозе 3 Гр. По оси ординат – % от биоконтроля. Достоверность различий совокупности эмбриональных показателей плодовитости между облучёнными и защищенными БК животными $p = 0,01$ (критерия знаком Z)

потомства облученных ♂ возросла с 30 до 81, до- и постимплантационная гибель – с 20 до 69 %, и с 14 до 23 %. Индуцированная постимплантационная смертность составила 10 %. БК позволил снизить общую и доимплантационную смертность с 81 до 56 % и с 69 до 42 % соответственно.

Заключение

Изложенные факты свидетельствуют о перспективности использования краткосрочного назначения β-каротина с целью коррекции радиационных поражений гонад в группах риска воздействия ионизирующего облучения и включения β-каротина в схему медикаментозной профилактики острых лучевых поражений сперматогенеза.

Автор выражает искреннюю признательность Л.А. Ильину за конструктивные консультации при

подготовке настоящей публикации и благодарит А.В. Зарайского, А.К. Кабанову и Т.А. Ильину за участие в проведении экспериментальных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Писаренко С.С. Состояние мужской репродуктивной функции человека и млекопитающих в зоне радиоактивного загрязнения: По материалам Калужской области. Дисс. докт. биол. наук. 2003. 250 с.
2. Мамина В.П., Трегубенко И.П. Влияние гамма-облучения и меркамина на сперматозоиды мышей // Радиобиология. 1973. Т. 13. № 4. С. 630–633.
3. Померанцева М.Д., Вилкина Г.А. Влияние цистамина на выход доминантных летальных мутаций и реципрокных транслокаций в половых клетках мышей, подвергшихся гамма-облучению в разных дозах // Генетика. 1974. Т. 10. № 7. С. 55–61.
4. Лепехин Н.П. Противолучевая эффективность мексамина и газовой гипоксии на разных стадиях сперматогенеза у крыс Вистар // Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы радиационной гигиены». Обнинск, 15–16 окт. 1987. – М. 1987. С. 68–69.

5. Померанцева М.Д., Рамайя Л.К., Васин М.В., Антипов В.В. Влияние индралина на генетические нарушения, индуцированные радиацией у мышей // Генетика. 2003. Т. 39. № 9. С. 1293–1296.
6. Померанцева, М.Д., Рамайя, Л.К., Васин, М.В., Антипов В.В. Радиозащитный эффект индралина от генетических нарушений у мышей // В сб.: «Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты». – СПб. 2004. С. 255–256.
7. Палыга Г.Ф., Ладога Т.С., Лепехин Н.П., Шахдинаров Л.В. Противолучевая защита зародышевых клеток и плодов крыс Вистар при низких дозах радиационного воздействия // Всесоюз. конф. «Актуальные вопросы радиационной гигиены». Обнинск. 15–16 окт. 1987. – М. 1987. С. 86–87.
8. Seifter E., Rettura G, Padawer J. et al. Mobility and mortality reduction by supplemental vitamin A or beta-carotene in CBA mice given total-body gamma-radiation // J. Natl. Cancer Inst. 1984. Vol. 73. № 5. P. 1167–1177.
9. Виленчик М.М., Гигошвили, Т.И., Кузин А.М. и соавт. Радиозащитное действие природных каротинсодержащих препаратов: исследование каротинила на белых крысах // Радиобиология. 1988. Т. 28. № 4. С. 542–544.
10. Беляев И.К., Жорова Е.С., Журавлев В.Ф. и соавт. Радиозащитные и противоопухолевые эффекты отечественных субстанций бета-каротина // Тезисы докладов IV всесоюз. конф. «Химия, фармакология и механизмы действия противолучевых средств». 23–25 окт. 1990. – М. 1990. С. 8–10.
11. Казарян Р.В., Кудинова С.П., Беляев И.К. и соавт. Перспективы создания продуктов питания с радиопротекторными свойствами // Мат-лы науч. конф. с междунар. участием «Питание: здоровье и болезнь». 20–22 нояб. 1990. – М. 1990. С. 82.
12. Лемберг В.К., Рогачева С.А., Лузанов В.М. и соавт. Влияние обогащения рациона мышей СВА синтетическим β-каротином на их выживаемость при γ-облучении // Радиобиология. 1990. Т. 30. № 6. С. 843–844.
13. Беляев И.К., Журавлев В.Ф., Степанов С.В., Зарайский А.В. Радиозащитная эффективность каротинила при внешнем и внутреннем остром облучении // Радиобиология. 1992. Т. 32. № 1. С. 121–125.
14. Беляев И.К., Казарян Р.В., Зарайский А.В. Перспективы использования обогащенных бета-каротином пищевых продуктов в профилактике и терапии лучевых поражений // Вопросы питания. 1992. № 2. С. 58–61.
15. Беляев И.К., Зарайский А.В., Лемберг В.К., Вакулова Л.А. Модификация синтетическим β-каротином резистентности организма к острым ионизирующим воздействиям // Вопросы мед. химии. 1992. Т. 38. № 6. С. 39–42.
16. Калистратова В.С., Беляев И.К., Нисимов П.Г. Профилактика отдаленных последствий, вызванных инкорпорированными радионуклидами, при помощи витаминов, их синтетических производных и провитаминов // Второй междунар. симп. «Питание и здоровье: Биологически активные добавки к пище». Сб. тезисов. 25–27 апр. 1996. – М. 1996. С. 57–59.
17. Калистратова В.С., Беляев И.К., Жорова Е.С. и соавт. Профилактика радиационного и химического канцерогенеза при помощи витамина А и его предшественника бета-каротина (экспериментальные и клинические исследования) // Мед. радиол. и радиац. безопасность. 2015. Т. 60. № 3. С. 65–78.
18. Пучков С.М., Корытный В.С. Лучевое поражение и его модификация // Материалы 2-й школы-семинара по радиобиологии. Пермь. 1981. – М.: Наука. 1983. С. 83–86.
19. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир. 1986.
20. Жестяников В.Д. Актуальные вопросы радиобиологии // Инф. бюлл. науч. совета АН СССР по проблемам радиобиологии. 1986. № 2. С. 5–8.
21. Сергеев А.В. Создание лечебно-профилактических средств на основе каротиноидов // Вопр. мед. химии. 1992. Т. 38. № 6. С. 4–5.
22. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. В 2 ч. Учебное пособие. – М.: МЕДпресс-информ. 2007. 624 с.
23. Поздняков В.Д. Современные представления о роли витамина А в развитии сперматогенных клеток у млекопитающих // Успехи современной биологии. 1985. Т. 100. № 2. С. 287–301.
24. Беляев И.К., Зарайский А.В., Вакулова Л.А. и соавт. Средство профилактики радиационного поражения гонад. Государственный комитет по делам изобретений и открытий СССР. Приоритетная справка № 511704/3694 от 25.04.1988 и 4443955/14 от 20.06.88. 10 с.
25. Беляев И.К., Зарайский А.В., Вакулова Л.А. Перспективы профилактики бета-каротином радиационных поражений гонад // I Всесоюз. радиобиол. Съезд. Москва. 21–27 авг. 1989. – Пушкино. 1989. С. 689–690.
26. Беляев И.К., Зарайский А.В., Вакулова Л.А. и соавт. Профилактика β-каротином радиационных поражений ⁹⁰Sr гонад. Проблемы нормирования ионизирующих излучений в условиях воздействия модифицирующих факторов // Сб. науч. трудов под ред. Л.А. Булдакова и В.С. Калистратовой. – М. 1991. С. 151–159.
27. Мамина В.П., Жигальский О.А. Влияние бета-каротина на состояние сперматогенного эпителия и выход доминантных летальных мутаций при экспериментальном воздействии шестивалентного хрома // Гигиена и санитария. 2016. № 7. С. 682–685.
28. Муравьева И.А., Ковальская Г.И. Физико-химические свойства и биологически активные вещества препарата «Каротин микробиологический в масле» // Фармация. 1988. № 3. С. 32–35.
29. Лоскутова З.Ф. Виварий. – М. 1980. 94 с.
30. Вакулова Л.А., Жидкова Т.А., Самохвалов Г.И., Христофоров В.Л. Способ получения бета-каротина. 1995. Патент РФ № 2032667.
31. Казарян Р.В. Исследование процесса и разработка технологии рафинации масляных растворов каротина с целью улучшения их качества. Автореф. дисс. канд. техн. наук. – Краснодар. 1978. 29 с.
32. Рузен-Ранге Э. Сперматогенез у животных. – М., Мир. 1980.
33. Фазиллов У.Т. Сравнительное изучение генетической радиочувствительности половых клеток самцов мыши в пре- и постнатальном периодах. Дисс. канд. биол. наук. – М. 1985. 138 с.
34. Кудрицкая О.Ю., Баллонов М.И. Динамика выхода ДЛМ у мышей под действием трития // Радиобиология. 1980. Т. 20. С. 881–885.
35. Ионизирующие излучения: источники и биологические эффекты. Национальный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР ООН). Докл. за 1982 год Генеральной Ассамблее (с приложением). В 2 т. Т. 2. – ООН, Нью-Йорк. 1982. С. 90–91.
36. Малета Ю.С., Тарасов В.В. Математические методы статистического анализа в биологии и медицине. – М.: Изд-во Моск. ун-та. 1981. 176 с.
37. Малета Ю.С., Тарасов В.В. Непараметрические методы статистического анализа в биологии и медицине. – М.: Изд-во Моск. ун-та. 1982. 178 с.

Для цитирования: Беляев И.К., Самойлов А.С. Защита сперматогенеза β-каротином при радиационных воздействиях. Сообщение 1: Однократное острое внешнее γ-облучение. Краткосрочное назначение каротиноида // Мед. радиол. и радиац. безопасность. 2018. Т. 63. № 4. С. 5–14.

DOI: 10.12737/article_5b83ae4ad13770.01262087

Protection of Spermatogenesis with β -Carotene in Radiation Exposure. Message 1: Single Acute External γ -Irradiation. Short-Term Application of Carotenoid

I.K. Belyaev, A.S. Samoylov

A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia. E-mail: 9424159@bk.ru

I.K. Belyaev – Head of Lab., PhD Biol., Senior Researcher; A.S. Samoylov – Director General, Dr. Sci. Med., Prof. RAS

Abstract

Purpose: Experimental evaluation of β -carotene correction of radiation induced by single acute γ -irradiation of spermatogenesis disorders in male (σ) F₁ CBAx C97Bl mice and non-linear rats with short-term carotenoid prescription.

Material and methods: Single external gamma irradiation σ was performed at the IGUR facility (¹³⁷Cs, dose rate 0.029 Gy/s). The β -carotene suspension was administered σ orally 19 and 4 hours before, 4 and 24 hours after irradiation. The damage and effectiveness of protection of spermatogenesis of irradiated σ were judged by the state of their reproductive function.

Results: The effects of correction of the short-term prescription of β -carotene radiation-induced by a single acute external gamma irradiation at doses of 3 and 5 Gy of spermatogenesis disorders in mice and rats at stages of mature spermatozoa, spermatids and spermatogonium have been established.

β -carotene in σ mice reduced total embryonic mortality in 8–14 and 77–84 days after irradiation at a dose of 3 Gy from 46 to 36 and from 41 to 28 %, preimplantation – after 8–14 and 15–21 days – from 24 up to 13 and from 31 to 22 %, postimplantation – after 0–7 and 77–84 days – from 24 to 15 and from 25 to 7 %. In σ rats 0–7 days after irradiation at a dose of 5 Gy β -carotene reduced total, pre-, post- and induced postimplantation embryonic mortality from 62 to 41, from 34 to 17, from 41 to 30 and from 38 to 26 %, respectively. After 13–20 days – preimplantation mortality from 27 to 11 %. At the stage of spermatozoa after irradiation at a dose of 3 Gy increased the breeding efficiency from 70 to 100 %, fecundity – by 23–31 %; reduced total and preimplantation mortality from 49 to 39 % and from 41 to 27 %, respectively. At the stage of spermatids – sterilization was prevented and the efficiency of breeding was normalized, reduced post- and induced postimplantation mortality from 25 to 20 and from 17 to 12 %, respectively. The therapeutic and prophylactic effects of β -carotene at the spermatocyte stage are not revealed. In the spermatogonium stage, the carotenoid increased the total number and number of live embryos in pregnant female (φ) from 36 to 55 and from 20 to 50 %, reduced total and pre-implantation mortality from 81 to 56 and from 69 to 42 %, respectively.

Conclusions: The prospects of β -carotene use for correction of gonadal radiation injuries in the risk groups of exposure to ionizing radiation and the inclusion of β -carotene in the scheme of drug prevention of acute radiation injuries of spermatogenesis are shown.

Key words: external acute γ -irradiation, spermatogenesis, β -carotene, short-term prescription, mice, rats

REFERENCES

- Pisarenko SS. State of male reproductive function of humans and mammals in the zone of radioactive contamination: Based on the materials of the Kaluga region. Diss. Doct. Biol. Sci.; 2003. 250 p. Russian.
- Mamina VP, Tregubenko IP. Effect of gamma irradiation and mercamine on spermatozoa of mice. Radiobiology. 1973;13(4):630-3. Russian.
- Pomerantseva MD, Wilkina GA. The effect of cystamine on the yield of dominant lethal mutations and reciprocal translocations in the reproductive cells of mice exposed to gamma irradiation in different doses. Genetics. 1974;10(7):55-61. Russian.
- Lepekhn NP. Anti-radiation effectiveness of mexamine and gas hypoxia at different stages of spermatogenesis in Wistar rats. Conf. «Topical Issues of Radiation Hygiene»; 1987 Oct 15-16; Obninsk. Moscow; 1987. p. 68-9. Russian.
- Pomerantseva MD, Ramaia LK, Vasin MV, Antipov VV. The effect of indralin on genetic disorders induced by radiation in mice. Genetics. 2003;39(9):1293-6. Russian.
- Pomerantseva MD, Ramaia LK, Vasin MV, Antipov VV. The radioprotective effect of indralin against genetic disorders in mice. Medico-biological Problems of Anti-Radiation and Anti-Chemical Protection. St. Petersburg; 2004. p. 255-6. Russian.
- Palyga GF, Ladoga TS, Lepekhn NP, Shakhdinarov LV. Anti-ray protection of embryonic cells and fetus of Wistar rats at low doses of radiation exposure. Conf. Topical Issues of Radiation Hygiene; 1987 Oct 15-16; Obninsk. Moscow; 1987. p. 86-7. Russian.
- Seifter E, Rettura G, Padawer J, et al. Mobility and training reduction by supplemental vitamin A or beta-carotene in CBA mice given total-body gamma-radiation. J Natl Cancer Inst. 1984;73(5):1167-77.
- Vilenchik MM, Gigoshvili TI, Kuzin AM, et al. The radioprotective action of natural carotene-containing preparations: a study of carotinilum on white rats. Radiobiology. 1988;28(4):542-4. Russian.
- Belyaev IK, Zhorova ES, Zhuravlev VF, et al. Radioprotective and antitumor effects of domestic beta-carotene substances. Abstracts IV All-Union Conference Chemistry, Pharmacology and Mechanisms of Action of Non-Radiopaedics; 1990 Oct 23-25; Moscow; 1990. p. 8-10. Russian.
- Kazaryan RV, Kudina SP, Belyaev IK, et al. Prospects for creating food products with radioprotective properties. Proceedings of a scientific conference with international participation. Nutrition: Health and Disease; 1990 Nov 20-22; Moscow; 1990. p. 82. Russian.
- Lemberg VK, Rogacheva SA, Luzanov VM, et al. The effect of enriching the diet of CBA mice with synthetic β -carotene on their survival in γ -irradiation. Radiobiology. 1990;30(6):843-4. Russian.
- Belyaev IK, Zhuravlev VF, Stepanov SV, Zaisky AV. Radioprotective effectiveness of carotinil with external and internal acute irradiation. Radiobiology. 1992;32(1):121-5. Russian.
- Belyaev IK, Kazaryan RV, Zaisky AV. Prospects for the use of beta-carotene-enriched foods in the prevention and therapy of radiation injuries. Nutrition issues. 1992;(2):58-61. Russian.
- Belyaev IK, Zaisky AV, Lemberg VK, Vakulova LA. Modification of the resistance of the organism to acute ionizing effects by synthetic β -carotene. Questions of medical chemistry. 1992;38(6):39-42. Russian.
- Kalistratova VS, Belyaev IK, Nisimov PG. Prevention of long-term consequences caused by incorporated radionuclides, with the help of vitamins, their synthetic derivatives and provitamins. Second International Symposium Food and health: Biologically Active Food Additives. Moscow. 1996 Apr 25-27; 1996. p. 57-9. Russian.
- Kalistratova VS, Belyaev IK, Zhorova ES, et al. Prophylaxis of radiation and chemical carcinogenesis with the help of vitamin A and its precursor beta-carotene (Expert and clinical research). Medical Radiology and Radiation Safety. 2015;60(3):65-78. Russian.

18. Puchkov SM, Korytny VS. Radiation damage and its modification. Materials of the 2nd School-Seminar on Radiobiology. Perm. 1981. Moscow: Mir; 1983. p. 83-6. Russian.
 19. Britton G. Biochemistry of Natural Pigments. Moscow; 1986. Russian.
 20. Zhestyanikov VD. Actual questions of radiobiology. Inf. bull. scientific council of the USSR Academy of Sciences on the Problems of Radiobiology. 1986;(2):5-8. Russian.
 21. Sergeev AV. Creation of therapeutic and prophylactic agents based on carotenoids. Quest Med Chemistry. 1992;38(6):4-5. Russian.
 22. Belikov VG. Pharmaceutical chemistry. Moscow: MEDpress-inform; 2007. 624 p. Russian.
 23. Pozdnyakov VD. Modern ideas about the role of vitamin A in the development of spermatogenic cells in mammals. Advances in Modern Biology. 1985;100(2):287-301. Russian.
 24. Belyaev IK, Zaraisky AV, Vakulova LA, et al. A means of preventing radiation damage to gonads. State Committee for Inventions and Discoveries of the USSR. Priority reference No. 511704/3694 of 1988 Apr 25 and No. 4443955/14 of 1988 June 20; 1988. 10 p. Russian.
 25. Belyaev IK, Zaraisky AV, Vakulova LA. Prospects of beta-carotene prevention of radiation damage to gonads. I All-Union Radiobiological Congress; 1989 Aug 21-27; Moscow. Pushchino; 1989. p. 689-90. Russian.
 26. Belyaev IK, Zaraisky AV, Vakulova LA, et al. Prevention of β -carotene radiation damage ^{90}Sr gonad. Problems of rationing of ionizing radiation under the influence of modifying factors. Moscow; 1991. p. 151-9. Russian.
 27. Mamina VP, Zhigalsky OA. Influence of beta-carotene on the state of spermatogenic epithelium and the yield of dominant lethal mutations under the experimental action of hexavalent chromium. Hygiene and Sanitation. 2016;(7):682-5. Russian.
 28. Muravieva IA, Kovalskaya GI. Physicochemical properties and biologically active substances of the preparation "Carotene microbiological in oil". Pharmacy. 1988;(3):32-5. Russian.
 29. Loskutova ZF. Vivarium. Moscow; 1980. 94 p. Russian.
 30. Vakulova LA, Zhidkova TA, Samokhvalov GI, Khristoforov VL. Method for obtaining beta-carotene. Russian Federation patent RF 2032667. 1995. Russian.
 31. Kazaryan RV. Research of the process and development of technology for refining oil solutions of carotene with the aim of improving their quality. Author's abstract. PhD Tech. Krasnodar; 1978. 29 p. Russian.
 32. Ruzen-Range E. Spermatogenesis in animals. Moscow: Mir; 1980. Russian.
 33. Fazilov UT. Comparative study of genetic radiosensitivity of germ cells of male mice in pre- and postnatal periods. PhD Biol. Moscow; 1985. 138 p.
 34. Kudritskaya OYu. Dynamics of DLM yield in mice under the influence of tritium. Radiobiology. 1980;(20):881-5. Russian.
 35. Ionizing radiation: sources and biological effects. UNSCEAR. Dokl. 1982. Vol. 2. UN, New York; 1982. p. 90-91. Russian.
 36. Maleta YuS, Tarasov VV. Mathematical methods of statistical analysis in biology and medicine. Moscow; 1981. 176 p. Russian.
 37. Maleta YuS, Tarasov VV. Nonparametric methods of statistical analysis in biology and medicine. Moscow; 1982. 178 p. Russian.
- For citation:** Belyaev IK, Samoylov AS. Protection of Spermatogenesis with β -Carotene in Radiation Exposure. Message 1: Single Acute External γ -Irradiation. Short-Term Application of Carothynoid. Medical Radiology and Radiation Safety. 2018;63(4):5-14. Russian.

DOI: 10.12737/article_5b83ae4ad13770.01262087