

И.К. Беляев**ЗАЩИТА СПЕРМАТОГЕНЕЗА β -КАРОТИНОМ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ.
СООБЩЕНИЕ 2: ОБОГАЩЕНИЕ КАРОТИНОИДОМ РАЦИОНА
ПРИ ОДНОКРАТНОМ ОСТРОМ ВНЕШНЕМ γ -ОБЛУЧЕНИИ**

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: 9424159@bk.ru

И.К. Беляев – зав. лаб., с.н.с., к.б.н.

Цель: Экспериментальная оценка эффективности коррекции β -каротином радиационно-индуцированных однократным острым γ -облучением нарушений сперматогенеза самцов (σ) крыс линии Вистар при длительном обогащении каротиноидом рациона.

Материал и методы: Однократное внешнее γ -облучение σ осуществлено на установке ИГУР (^{137}Cs , мощность дозы 0,029 Гр/с). Каротиноид скармливался σ в смеси с творогом в течение 2 мес до облучения, далее – в течение всего периода исследований три раза в неделю. В дни нахождения σ в клетках с интактными самками (ϕ) β -каротин вводился σ перорально зондом в виде суспензии в растительном масле. О поражении и эффективности защиты сперматогенеза облученных σ судили по состоянию их репродуктивной функции.

Результаты: β -каротин у интактных σ крыс снизил общую, до- и постимплантационную эмбриональную смертность соответственно с 29 до 14, с 22 до 9, и с 10 до 5 %. На стадии зрелых спермиев после облучения σ в дозе 3 Гр – общую и доимплантационную смертность с 45 до 29 и с 23 до 9 %. После облучения в дозе 5 Гр – общую, до- и индуцированную постимплантационную эмбриональную гибель соответственно с 67 до 56, с 23 до 13 и с 56 до 43 %. На стадии сперматид после облучения в дозе 1 Гр – доимплантационную смертность с 23 до 9 %; в дозе 3 Гр – число погибших эмбрионов у беременных ϕ с 12 до 3; в дозе 5 Гр – общую эмбриональную смертность с 57 до 49 %. Обогащение каротиноидом рациона σ , облученных в дозах 3 и 5 Гр, не оказало корректирующего влияния на состояние показателей их репродуктивной функции, оцененной при оплодотворении ϕ спермиями, облученными на стадии сперматоцит. На стадии сперматогоний после облучения в дозе 3 Гр β -каротин увеличил плодовитость σ с 7 до 12 живых эмбрионов и снизил общую, до- индуцированную постимплантационную смертность соответственно с 63 до 43, с 42 до 25 и с 35 до 19 %. Статистически значимого влияния β -каротин на потерю массы гонад облученных σ не выявлено. По сравнению с краткосрочной схемой назначения, длительное обогащение рациона облученных σ β -каротином более эффективно снижало эмбриональную смертность их потомства.

Выводы: Установлены эффекты коррекции обогащения β -каротином рациона при радиационно-индуцированных однократным острым внешним γ -облучением в дозах 3 и 5 Гр нарушениях сперматогенеза крыс линии Вистар на стадиях зрелых спермиев, сперматид и сперматогоний.

Ключевые слова: внешнее острое γ -облучение, сперматогенез, β -каротин, введение в рацион, крысы

Поступила: 04.07.2018. Принята к публикации: 29.11.2018

Введение

Результаты экспериментальной оценки эффективности краткосрочного назначения β -каротина (БК) с целью коррекции радиационно-индуцированных однократным острым γ -облучением нарушений сперматогенеза самцов (σ) мышей линии F_1 СВАхС₉₇В1 и нелинейных крыс представлены в сообщении 1 [1]. Несомненный интерес представляло оценить радиозащитную эффективность длительной схемы назначения БК.

Материал и методы

Исследования по изучению модификации БК последствий радиационных воздействий выполнены на 104 σ и 312 ϕ линии Вистар крысах, с массой тела 167–196 г, (по 5–8 σ и 15–24 ϕ в экспериментальной группе). Животные содержались на стандартном рационе вивария [2]. Однократное внешнее γ -облучение σ осуществлено на установке ИГУР (^{137}Cs , мощность дозы 0,029 Гр/с) в дозах 1, 3 или 5 Гр.

БК был ранее синтезирован в лаборатории химии и технологии полиеновых соединений НПО «Витамины» Министерства медицинской и микробиологической промышленности СССР [3]. Исследованы ресуспендированные в растительном масле пасты с 10 и 30 % -ным содержанием БК с добавлением 5 % пальмитиновой кислоты, 0,056 % бутилокситолуола (БОТ) – (2,6-ди-третбутил-4-метилфенол) и 0,028 % бутилоксианизо-

ла (БОА) – (4,4-х-тиобис-6-третбутил-3-метилфенил) из расчета соответственно 5,6 и 2,8 мг на 1 г БК. БК скармливался σ в смеси с творогом в течение 2 мес до облучения, далее – в течение всего периода исследований три раза в нед по 10 мг. В дни нахождения σ в клетках с ϕ , БК вводился σ перорально зондом в виде суспензии в масле.

О поражении и эффективности защиты сперматогенеза облученных σ судили по состоянию их репродуктивной функции, оцениваемой путем помещения в отдельные клетки одного σ и трех ϕ сроком на 7 сут. Оценка критериев радиозащитной эффективности БК на разных стадиях сперматогенеза и достоверность наблюдаемых различий осуществлена с использованием параметрических и непараметрических критериев достоверности: Стьюдента, Вилкоксона–Манна–Уитни, Х Ван-дер-Вардена, теста Шеллинга–Вольфейля, критерия знаков Z, как описано ранее [1].

Среднее арифметическое значение количества желтых тел у беременных ϕ в сравниваемых экспериментальных группах варьировало от 12 до 17 и статистически значимо не отличалось друг от друга.

Результаты и обсуждение

Установлено, что обогащение рациона БК оказало благоприятное влияние на состояние репродуктивной функции интактных (необлученных) σ . В биоконтроле (виварный рацион), число погибших эмбрионов в

пересчёте на спариваемого ♂ или беременную ♀ составило соответственно 3 или 1,2, при обогащении рациона БК достоверно ($p = 0,05$) снизилось до 1 или 0,4 (табл. 1). Общая, до- и постимплантационная эмбриональная смертность (табл. 2) потомства ♂, рацион которых обогащался БК, снизилась соответственно с 29 до 14, с 22 до 9 и с 10 до 5 % ($p = 0,05$). При сравнении состояния показателей сперматогенеза одновозрастных ♂ биоконтроля и ♂, рацион которых обогащался БК в течение 4 мес, установлено, что БК снижал количество погибших эмбрионов в расчёте на спариваемого ♂ или беременную ♀ соответственно с 3 до 1 или с 0,7 до 0,3 ($p = 0,05$).

Через 0–7 сут после радиационного воздействия с увеличением дозы облучения с 1 до 3 и 5 Гр фертильность ♂, оценённая по эффективности скрещивания, снижалась с 92 до 83 и 58 % соответственно. Плодовитость ♂ снижалась с 28 до 19 и 8 живых эмбрионов, число погибших эмбрионов возрастало с 5 до 8 и 11. Количество мест имплантации и число живых эмбрионов у беременных ♀ уменьшалось соответственно с 12 до 11 и 10, и с 10 до 8 и 4, количество погибших – возрастало с 2 до 3 и 6. Общая эмбриональная смертность потомства ♂, облучённого в дозах 1, 3 и 5 Гр, возрастала соответственно с 30 до 45 и 67 %, доимплантационная – с 17 до 22 или 23 %. Гибель по-

томства после имплантации увеличивалась с 9,5 % в биоконтроле до 17, 29 и 60 % при облучении в дозах 1, 3 и 5 Гр соответственно. Индуцированная облучением постимплантационная гибель в виде выхода доминантных летальных мутаций (ДЛМ) увеличивалась с 8 до 22 и 59 % соответственно.

При облучении ♂ в дозе 1 Гр показатели состояния их репродуктивной функции через 0–7 сут статистически значимо не отличались от биоконтроля (в том числе и по постимплантационной гибели – 10 и 17 % в биоконтроле и при облучении соответственно). Обогащение БК рациона ♂, облучённых в дозе 3 Гр, снизило общую и доимплантационную эмбриональную смертность соответственно с 45 до 29 % ($p = 0,01$) и с 23 до 9 % ($p = 0,05$). Включение БК в рацион ♂, облучённых в дозе 5 Гр увеличило эффективность их скрещивания с 58 до 79 %, а плодовитость ♂ – с 8 до 16 живых эмбрионов ($p = 0,05$). Общая, до- и индуцированная постимплантационная смертность снизилась соответственно с 67 до 56 % ($p = 0,01$), с 23 до 13 % ($p = 0,05$), и с 56 до 43 % ($p = 0,01$).

При тестировании состояния сперматогенеза через 13–20 сут после радиационного воздействия в дозах 1, 3 и 5 Гр выявлена тенденция снижения эффективности скрещивания ♂ при увеличении дозы облучения с 92 до 83 и 79 % соответственно. Плодовитость ♂ снижа-

Таблица 1

**Влияние обогащения рациона БК на плодовитость ♂ крыс
(средние арифметические величины $\pm$ среднеквадратическая погрешность)**

Срок после облучения, сут	Стадия сперматогенеза	Экспериментальная группа	Стерильность, %	Эффективность скрещивания, %	Плодовитость, эмбрионов				
					на ♂		на беременную ♀		
					Живых	Погибших	Мест имплантации	Живых	Погибших
0–7	Сперма Тозоиды	Биоконтроль	0	84	27 $\pm$ 2	3 $\pm$ 0,4	12 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	1,2 $\pm$ 0,2
		+БК	0	75	22 $\pm$ 2	1 $\pm$ 0,4*	10 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1	0,4 $\pm$ 0,2
		1 Гр	0	92	28 $\pm$ 2	5 $\pm$ 1°	12 $\pm$ 0,3	10 $\pm$ 1	2 $\pm$ 0,4°
		1 Гр+БК	12,5	79	21 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	2 $\pm$ 0,3
		3 Гр	0	83	19 $\pm$ 2°	8 $\pm$ 1°	11 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1°	3 $\pm$ 0,4°
		3 Гр+БК	12,5	71	20 $\pm$ 2	5 $\pm$ 1	13 $\pm$ 0,4	10 $\pm$ 1	3 $\pm$ 0,4
		5 Гр	12,5	58°	8 $\pm$ 1°	11 $\pm$ 1°	11 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1°	6 $\pm$ 1
		5 Гр+БК	12,5	79	16 $\pm$ 1*	15 $\pm$ 1	13 $\pm$ 0,4	7 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1
13–20	Сперма Тиды	1 Гр	0	92	26 $\pm$ 2	3 $\pm$ 0,4	10 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0,2
		1 Гр+БК	12,5	79	23 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1	1,6 $\pm$ 0,3
		3 Гр	12,5	83	21 $\pm$ 2°	9 $\pm$ 1°	12 $\pm$ 0,4	8 $\pm$ 1°	12 $\pm$ 0,4°
		3 Гр+БК	0	71	16 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1	3 $\pm$ 0,5*
		5 Гр	0	79	13 $\pm$ 1°	10 $\pm$ 1°	10 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1°	4 $\pm$ 1°
		5 Гр+БК	0	71	15 $\pm$ 2	9 $\pm$ 1	11 $\pm$ 0,4	7 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1
28–35	Сперма Тоциты	1 Гр	0	88	31 $\pm$ 2	3 $\pm$ 0,4	13 $\pm$ 1	12 $\pm$ 0,4	1,2 $\pm$ 0,2
		1 Гр+БК	12,5	79	26 $\pm$ 2	3 $\pm$ 0,5	13 $\pm$ 1	12 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,3
		3 Гр	0	75	19 $\pm$ 2°	8 $\pm$ 1°	12 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1°	3 $\pm$ 0,3°
		3 Гр+БК	0	92	20 $\pm$ 2	9 $\pm$ 2	11 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1
		5 Гр	12,5	71	9 $\pm$ 1°	13 $\pm$ 2°	10 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1°	6 $\pm$ 1°
		5 Гр+БК	0	75	7 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	3 $\pm$ 0,3	6 $\pm$ 1
49–56	Спермато- гонии	Биоконтроль	0	92	26 $\pm$ 3	3 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0,2
		+ БК	0	94	20 $\pm$ 3	1 $\pm$ 0,4*	10 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	0,3 $\pm$ 0,1*
		1 Гр	0	83	20 $\pm$ 2°	4 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1°	2 $\pm$ 0,4°
		1 Гр+БК	12,5	58	16 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	2 $\pm$ 0,4
		3 Гр	0	58°	7 $\pm$ 1°	4 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1°	5 $\pm$ 1°	3 $\pm$ 1°
		3 Гр+БК	12,5	58	12 $\pm$ 2	4 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	7 $\pm$ 1	2 $\pm$ 0,5
		5 Гр	100	0°	0°	0°	0°	0°	0°
		5 Гр+БК	100	0	0	0	0	0	0

Примечание: * и ° – различия с соответствующим возрастным облучённым контролем и биоконтролем достоверны при $p = 0,05$ и $0,01$ соответственно (критерии Стьюдента, X Ван-дер-Вардена, инверсии Вилкоксона–Манна–Уитни, Шеллинга–Вольфеля)

Таблица 2

Влияние обогащения рациона БК на эмбриональную смертность потомства ♂ крыс (средние арифметические величины ± среднеквадратическая погрешность)

Срок после облучения, сут (стадия сперматогенеза)	Экспериментальная группа	Эмбриональная смертность, %			
		общая	до имплантации	после имплантации	ДЛМ
0–7 (сперматозоиды)	Биоконтроль	29±4	22±4	10±2	–
	+ БК	14±2*	9±2*	5±2*	–5±2
	1 Гр	30±4	17±3	17±4*	8±4*
	1 Гр+БК	38±6	26±6	20±3	12±4
	3 Гр	45±5*	23±3	29±5*	22±5*
	3 Гр+БК	29±4**	9±3*	22±3	13±4
	5 Гр	67±4*	23±7	60±3*	56±4*
13–20 (сперматиды)	5 Гр+БК	56±3**	13±4*	48±4	43±4**
	1 Гр	30±4	23±5	9±2	1±2
	1 Гр+БК	21±3	9±2**	16±3	8±4
	3 Гр	41±4*	17±3	28±4*	22±5*
	3 Гр+БК	41±3	20±3	24±3	16±4
	5 Гр	57±5*	24±5	45±5*	40±6*
28–35 (сперматоциты)	5 Гр+БК	49±4	19±3	38±4	33±4
	1 Гр	25±3	17±3	9±1	0,3±2
	1 Гр+БК	22±3	14±3	10±2	1±2
	3 Гр	42±3*	18±4	28±3*	22±3*
	3 Гр+БК	48±4	24±4	28±4	22±4
	5 Гр	75±2*	33±6*	58±4*	54±4*
49–56 (сперматогонии)	5 Гр+БК	79±3	34±6	67±3	64±4
	Биоконтроль	21±5	16±5	5±2	–
	+ БК	28±8	28±9	5±2	–6±2
	1 Гр	40±6*	21±4	22±6*	18±7*
	1 Гр+БК	34±6	20±5	15±4	11±4
	3 Гр	63±9*	42±10*	38±10*	35±10*
	3 Гр+БК	43±7*	25±6*	23±4	19±4
	5 Гр	–	–	–	–
	5 Гр+БК	–	–	–	–

Примечания: * и ** – различия с соответствующим возрастным облучённым контролем достоверны (критерии Стьюдента, Х Ван-дер-Вардена, инверсии Вилкоксона–Манна–Уитни) при уровнях значимости соответственно 0,05 и 0,01;

– различия с соответствующим возрастным биоконтролем достоверны при $p = 0,05$ и $0,01$ (критерии Стьюдента, Х Ван-дер-Вардена, инверсии Вилкоксона–Манна–Уитни, Шеллинга–Вольфелля);

ДЛМ – доминантные летальные мутации (индуцированная постимплантационная смертность)

лась с 26 до 21 и 13 живых эмбрионов соответственно. Число погибших эмбрионов возрастало с 3 до 9 и 10. Количество живых эмбрионов в расчёте на беременную ♀ снижалось с 10 до 8 и до 5 соответственно. Общая эмбриональная смертность потомства облучённых ♂ возрастала с 30 до 41 и до 57 % соответственно, гибель эмбрионов после имплантации – с 9 до 28 и до 45 %, ДЛМ – с 1 до 22 и 40 %.

Назначение БК ♂, облучённым в дозе 1 Гр, статистически значимо ($p = 0,01$) снизило с 23 до 9 % доимплантационную смертность потомства, полученного в результате оплодотворения интактных ♀ спермиями, облучёнными на стадии сперматид. При облучении ♂ в дозе 3 Гр, рацион которых обогащался БК, чис-

ло погибших эмбрионов у беременных ♀ достоверно ($p = 0,01$) ниже (3), чем у спаренных с только облучёнными ♂ (12). Введение БК в рацион ♂, облучённых в дозе 5 Гр, статистически значимо ($p = 0,01$) снижало с 57 до 49 % общую эмбриональную смертность потомства, полученного при оплодотворении ♀ спермиями, облучёнными на стадии сперматид.

При сравнении показателей состояния сперматогенеза крыс через 28–35 сут после облучения также прослеживается дозовая зависимость их изменения. При облучении ♂ в дозах 1, 3 и 5 Гр, эффективность их скрещивания снижается с 88 до 75 и до 71 %. Их плодовитость уменьшается с 31 живого эмбриона до 19 и 9, число погибших эмбрионов увеличивается с 3 до 8 и 13. Число мест имплантации у беременных ♀ снижается с 13 до 12 и 10; живых эмбрионов – с 12 до 8 и 4, количество погибших возрастает с 1 до 3 и 6. Общая, до-, пост- и индуцированная постимплантационная смертность потомства ♂, облучённых в дозах 1, 3 или 5 Гр, возрастает с 25 до 42 и до 75 соответственно, с 17 до 18 и 33, с 9 до 28 и 58, с 0,3 до 22 или 54 %.

Показатели сперматогенеза крыс, облучённых в дозе 1 Гр, через 28–35 сут после радиационного воздействия количественно не отличались от показателей состояния репродуктивной функции самцов биоконтроля. Поэтому не представлялось возможным, как и через 0–7 сут после облучения, оценить возможную радиозащитную функцию БК на стадии сперматоцит. Обогащение БК рациона ♂, облучённых в дозах 3 и 5 Гр, не оказало корректирующего влияния на состояние показателей их репродуктивной функции, оцененной при оплодотворении самок спермиями, облучёнными на стадии сперматоцит.

При спаривании ♂ с интактными ♀ через 49–56 сут после облучения в дозе 5 Гр установлена их 100 %-ая стерильность. Эффективность скрещивания ♂ при увеличении дозы с 1 до 3 Гр в этот срок обследования снизилась с 92 в возрастном биоконтроле до 83 и 58 % соответственно (0 % при дозе 5 Гр). Плодовитость ♂ снижалась с 26 живых эмбрионов в биоконтроле до 20 и 7 соответственно. Число мест имплантации у беременных ♀, спаренных с ♂, облучёнными в дозах 1 и 3 Гр, составила соответственно 11 или 7. Число живых эмбрионов у беременных ♀ – 8 и 5, погибших – соответственно 1,6 и 2,6. При возрастании дозы облучения ♂ с 1 до 3 Гр общая, до-, пост- и индуцированная постэмбриональная смертность увеличилась соответственно с 40 до 63, с 21 до 42, с 22 до 38 и с 18 до 35 %.

Включение БК в рацион ♂, облучённых в дозе 1 Гр, снизило пост- и индуцированную постимплантационную смертность их потомства соответственно с 22 до 15 и с 18 до 11 % (при отсутствии статистически значимых различий). БК увеличил плодовитость ♂, облучённых в дозе 3 Гр, с 7 до 12 живых эмбрионов. Назначение БК позволило достоверно ($p = 0,05$) снизить общую (с 63 до 43 %) и доимплантационную смертность (с 42 до 25 %). Индуцированная постимплантационная гибель уменьшилась с 35 до 19 % (при отсутствии статистически значимых различий).

Таблица 3
Абсолютная и относительная масса гонад ♂ после
γ-облучения в возрасте 3 мес
(средние арифметические величины ±
среднеквадратическая погрешность)

Возраст, мес	Экспериментальная группа	Масса, г		Относительная масса гонад, % от массы тела
		Тела	Семенников	
5–5,5	Биоконтроль	330±15	2,8±0,2	0,9±0,1
	+ БК	374±27	2,8±0,2	0,8±0,1
	1 Гр	333±30	2,5±0,1	0,8±0,1
	1 Гр + БК	342±26	2,5±0,1	0,8±0,1
	3 Гр	392±19	1,3±0,1*	0,33±0,03*
	3 Гр+ БК	345±12	1,5±0,1*	0,44±0,03*
	5 Гр	355±8	0,78±0,04*	0,22±0,02*
	5 Гр+ БК	366±14	0,76±0,04*	0,21±0,02*
7	Биоконтроль	546±11	3,7±0,1	0,69±0,02
	+ БК	563±17	3,6±0,1	0,64±0,02
	1 Гр	572±11	3,7±0,1	0,64±0,15
	1 Гр+БК	543±15	3,6±0,1	0,67±0,01
	3 Гр+БК	486±19	3,0±0,2	0,62±0,05
	5 Гр	570	1	0,17
	5 Гр+БК	522±27	1,6±0,2*	0,35±0,05*

Примечание: * – различия с одновозрастным биологическим контролем достоверны при $p = 0,01$ (критерий Стьюдента)

Установлено (табл. 3), что через 2–2,5 мес после радиационного воздействия в дозах 3 или 5 Гр абсолютная и относительная масс гонад ♂ ниже, чем в одновозрастном биоконтроле, соответственно в 3 или 4 раза ($p = 0,05$). В течение последующих 2 мес происходит возрастание массы органа. Однако к 4 мес после облучения в дозе 5 Гр абсолютная и относительная масса семенников остается в 4 раза более низкой, чем у одновозрастных интактных животных. Масса семенников крыс, облучённых в дозе 1 Гр в исследованные сроки не отличалась от массы гонад необлучённых ♂. Статистически значимого влияния БК на потерю массы гонад облучённых ♂ не выявлено. Обогащение ра-

циона интактных и облучённых ♂ БК не повлияло на возрастное нарастание массы их тел.

Несомненный интерес представляло оценить сравнительную радиозащитную эффективность краткосрочной и длительной схем назначения БК, выполненных на разных линиях крыс. Предварительно сопоставлены показатели состояния сперматогенеза у интактных и облучённых крыс этих линий. У интактных нелинейных и линии Вистар ♂ не выявлено различий общей (27 ± 7 и 25 ± 5 %), до- (19 и 19 %) и постимплантационной (9 ± 4 и 8 ± 2 %) эмбриональной смертности их потомства.

После облучения ♂ в дозе 3 Гр на стадии зрелых спермиев – доимплантационная, на стадии сперматозита – общая, пост- и индуцированная постимплантационная, на стадии сперматогоний – общая и доимплантационная смертность потомства ♂ линии Вистар оказалась в 1,3–1,8 раза ниже, чем у нелинейных ♂. На стадии зрелых спермиев и сперматогоний пост- и индуцированная постимплантационная гибель потомства ♂ линии Вистар была в 1,7–3,5 раза выше, чем у нелинейных ♂. При облучении ♂ в дозе 5 Гр на стадии зрелых спермиев и сперматид пост- и индуцированная постимплантационная эмбриональная смертность потомства ♂ линии Вистар в 1,5–1,8 раза превышала гибель потомства нелинейных ♂ (табл. 4). Выявленные на разных стадиях сперматогенеза разнонаправленные межлинейные различия радиочувствительности гонад ♂ крыс обусловили необходимость с целью корректной оценки сравнительной радиозащитной эффективности схем назначения БК облучённым нелинейным и линии Вистар ♂, принять за 100 % значения эмбриональной гибели соответствующего облучённого контроля.

Выявлены преимущества длительной схемы назначения БК (табл. 5). Так, на стадии зрелых спермиев после облучения в дозах 3 и 5 Гр, общая эмбриональная смертность снижалась соответственно с 80 до 64 и с 92 до 84 % от контроля; доимплантационная – с 66 до 39

Таблица 4
Сравнительная эмбриональная смертность потомства облучённых нелинейных и линии Вистар ♂, %
(средние арифметические величины ± среднеквадратическая погрешность)

Оплодотворение сперматозоидами, облучёнными на стадии	Эмбриональная смертность	3 Гр		5 Гр	
		Нелинейные	Вистар	Нелинейные	Вистар
Зрелых спермиев	Общая	49±9	45±5	62±4	67±4
	Доимплантационная	41±9	23±3*	34±6	23±7
	Постимплантационная	13±5	29±5*	41±6	60±3*
	ДЛМ	8±6	22±5*	38±7	56±4*
Сперматид	Общая	41±3	41±4	49±7	57±5
	Доимплантационная	16±4	17±3	27±6	24±5
	Постимплантационная	25±4	28±4	30±5	45±5*
	ДЛМ	17±4	22±5	22±5	40±6*
Сперматозит	Общая	58±5	42±3*	73±5	75±2
	Доимплантационная	23±4	18±4	28±7	33±6
	Постимплантационная	39±7	28±3*	61±6	58±4
	ДЛМ	34±7	22±3*	57±6	54±4
Сперматогоний	Общая	81±6	63±9*	–	–
	Доимплантационная	69±12	42±10*	–	–
	Постимплантационная	23±12	38±10*	–	–
	ДЛМ	10±14	35±10*	–	–

Примечания: * – различия между нелинейными и линии Вистар достоверны $p = 0,05$ (критерий Стьюдента)

Таблица 5

Сравнительная эффективность краткосрочной (нелинейные ♂) и длительной (Вистар ♂) схем назначения БК в разовой дозе 10 мг, % от контроля (средние арифметические величины ± среднеквадратическая погрешность)

Оплодотворение сперматозоидами, облучёнными на стадии	Эмбриональная смертность:	3 Гр+БК		5 Гр+БК	
		Нелинейные	Вистар	Нелинейные	Вистар
Зрелых спермиев	Общая	80±14	64±9*	92±5	84±4*
	Доимплантационная	66±15	39±13*	106±15	57±17*
	Постимплантационная	131±38	76±10*	78±10	80±7
	ДЛМ	163±63	59±18*	74±11	76±7
Сперматид	Общая	95±12	100±7	88±10	86±7
	Доимплантационная	118±25	118±18	81±15	79±13
	Постимплантационная	80±12	86±11	87±13	84±9
	ДЛМ	71±24	73±18	82±23	83±10
Сперматоцит	Общая	91±10	114±10	110±5	105±4
	Доимплантационная	91±35	133±22	164±25	103±18*
	Постимплантационная	103±13	100±14	102±11	116±5
	ДЛМ	103±18	100±18	102±14	119±7
Сперматогонии	Общая	69±33	68±11	–	–
	Доимплантационная	61±49	60±14	–	–
	Постимплантационная	113±107	61±11*	–	–
	ДЛМ	140±290	54±11*	–	–

Примечания: * – различия между схемами назначения достоверны $p = 0,05$ (критерий Стьюдента)

и со 106 до 57 %; пост- и индуцированная постимплантационная после облучения в дозе 3 Гр – со 131 до 76 % и со 163 до 59 %. На стадии сперматоцит: доимплантационная смертность после облучения в дозе 5 Гр снижалась – со 164 до 103 %, на стадии сперматогоний после облучения в дозе 3 Гр пост- и индуцированная постимплантационная смертность – со 113 до 61 и со 140 до 54 %.

Выводы

1. БК у интактных ♂ крыс линии Вистар позволил снизить число погибших эмбрионов в пересчёте на спариваемого ♂ или беременную ♀ с 3 до 1 или с 1,2 до 0,4; общую, до- и постимплантационную эмбриональную смертность соответственно с 29 до 14, с 22 до 9, и с 10 до 5 %.

2. На стадии зрелых спермиев (через 0–7 сут после облучения ♂ в дозе 3 Гр) каротиноид снизил общую и доимплантационную смертность их потомства с 45 до 29 и с 23 до 9 %. После облучения в дозе 5 Гр – увеличил эффективность скрещивания с 58 до 79 %, плодовитость ♂ – с 8 до 16 живых эмбрионов, снизил общую, до- и индуцированную постимплантационную эмбриональную гибель соответственно с 67 до 56 %, с 23 до 13 % и с 56 до 43 %.

3. На стадии сперматид (через 13–20 сут после облучения в дозе 1 Гр) БК снизил доимплантационную смертность с 23 до 9 %; в дозе 3 Гр – число погибших эмбрионов у беременных ♀ с 12 до 3; в дозе 5 Гр – общую эмбриональную смертность с 57 до 49 %.

4. Обогащение БК рациона ♂, облучённых в дозах 3 и 5 Гр, не оказало корректирующего влияния на

состояние показателей их репродуктивной функции, оцененной при оплодотворении ♀ спермиями, облучёнными на стадии сперматоцит.

5. На стадии сперматогоний (через 49–56 сут после облучения в дозе 3 Гр) БК увеличил плодовитость ♂ с 7 до 12 живых эмбрионов и снизил общую, до- индуцированную постимплантационную смертность соответственно с 63 до 43, с 42 до 25 и с 35 до 19 %.

6. Статистически значимого влияния БК на потерю массы гонад облучённых ♂ не выявлено.

7. По сравнению с краткосрочной схемой назначения, длительное обогащение рациона облучённых ♂ БК более эффективно снижало эмбриональную смертность их потомства.

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. Беляев И.К. Защита сперматогенеза β-каротином при радиационных воздействиях. Сообщение 1: Однократное острое внешнее γ-облучение // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2018. Т. 63. № 4. С. 5–14.
2. Лоскутова З.Ф. Виварий. – М. 1980. 94 с.
3. Вакулова Л.А., Жидкова Т.А., Самохвалов Г.И., Христофоров В.Л. Способ получения бета-каротина. 1995. Патент РФ № 2032667.

Для цитирования: Беляев И.К. Защита сперматогенеза β-каротином при радиационных воздействиях. Сообщение 2: Обогащение каротиноидом рациона при однократном остром внешнем γ-облучении // Мед. радиология и радиационная безопасность. 2019. Т. 64. № 1. С. 15–20.

DOI: 10.12737/article_5c55fb18bed8d6.85887139

**Protection of Spermatogenesis with β -Carothin in Radiation Exposure.
Message 2: Carotenoid Enrichment of Diet with Single Acute External γ -Irradiation**

I.K. Belyaev

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

I.K. Belyaev – Head of Lab., Senior Researcher, PhD Biol.

Abstract

Purpose: Experimental evaluation of the efficiency of β -carotene by single acute γ -irradiation of spermatogenesis correction radiation-induced disorders in males (σ) of Wistar rats during prolonged carotenoid enrichment of a diet.

Material and methods: Single external gamma irradiation σ was performed at the IGUR facility (^{137}Cs , dose rate 0.029 Gy/s). The carotenoid used up on feeding σ in a mixture with cottage cheese for 2 months before irradiation, then – throughout the study period three times a week. During the days that σ were in cells with intact σ β -carotene was administered σ orally by a probe in the form of a suspension in vegetable oil. The damage and effectiveness of protection of spermatogenesis of irradiated σ were judged by the state of their reproductive function.

Results: β -carotene in intact σ rats reduced the overall, pre- and postimplantation embryonic mortality, respectively, from 29 to 14, from 22 to 9, and from 10 to 5 %. At the stage of mature sperm following irradiation σ dose of 3 Gy – total and pre-implantation mortality from 45 to 29, and from 23 to 9 %. After irradiation at a dose of 5 Gy – total, an pre- and postimplantation induced embryonic death, respectively, from 67 to 56, from 23 to 13 % and from 56 to 43 %. At the stage of spermatids after irradiation in dose 1 Gy – pre-implantation mortality from 23 to 9 %; in the dose of 3 Gy – the number of dead embryos in pregnant σ from 12 to 3; at a dose of 5 Gy total embryonic mortality from 57 to 49 %. Carotenoid enrichment of a diet of σ irradiated at doses of 3 and 5 Gy, has not corrective impact on the state indicators of their reproductive function, evaluated at fertilization of σ sperm irradiated at the stage of spermatocyte. At the stage of spermatogonia after irradiation at a dose of 3 Gy β -carotene increased fertility of σ 7 to 12 living embryos and reduced the overall, before – induced postimplantation mortality, respectively, with 63 and 43, from 42 to 25 and from 35 to 19 %. No statistically significant effect of β -carotene on the weight loss of the gonads irradiated σ was revealed. Compared to short-term regimen, long-term enrichment of a diet of irradiated σ β -carotene more effectively reduced embryonic mortality of their offspring.

Conclusions: Correction effects of β -carotene enrichment of the diet in radiation-induced disturbances by single acute external γ -irradiation at doses of 3 and 5 Gy of spermatogenesis in Wistar rats at stages of mature spermatozoa, spermatids and spermatogonia have been established.

Key words: external acute γ -irradiation, spermatogenesis, β -carotene, introduction to the diet, rats

REFERENCES

1. Belyaev IK. Protection of spermatogenesis with β -carotene during radiation exposure. Message 1: Single acute external γ -irradiation. Med. Radiology and Radiation Safety. 2018;63(2):5-14. (Russian).
2. Loskutova ZF. Vivarium. Moscow. 1980. 94 p. (Russian).
3. Vakulova LA, Zhidkova TA, Samokhvalov GI, Khristoforov VL. Method for obtaining beta-carotene. 1995. Patent number 2032667. (Russian).

For citation: Belyaev IK. Protection of Spermatogenesis with β -Carothin in Radiation Exposure. Message 2: Carotenoid Enrichment of Diet with Single Acute External γ -Irradiation. Medical Radiology and Radiation Safety. 2019;64(1):15-20. (Russian).

DOI: 10.12737/article_5c55fb18bed8d6.85887139