

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

Вера Павловна МАММАНА

ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ И РАДИОПРОТЕКТОРОВ
НА СПЕРМАТОГЕННЫЙ ЭПИТЕЛИЙ У МЫШЕЙ

03.00.01 – радиобиология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических
наук

г. Свердловск, 1975

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

Вера Павловна МАМЧИНА

ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ И РАДИОПРОТЕКТОРОВ
НА СПЕРМАТОГЕННЫЙ ЭПИТЕЛИЙ У МЫШЕЙ

03.00.01 – радиобиология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических
наук

г. Свердловск, 1975

Работа выполнена в Институте экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР.

Научные руководители :

кандидат биологических наук Д.И.СЕМЕНОВ

кандидат медицинских наук И.П.ТРЕГУБЕНКО

Официальные оппоненты :

доктор биологических наук П.Ф.СОЛДАТЕНКО

доктор медицинских наук А.И.МЕЗЕЩЕВ

Ведущее учреждение - Филиал № 4 Института биофизики
Минздрав СССР.

Автореферат разослан "22" ноябрь 1975 г.

Защита диссертации состоится "23" декабрь 1975 г.

в "14" час. на заседании Ученого Совета Института экологии
растений и животных Уральского научного центра АН СССР.

Отзывы в 2-х экземплярах просям направлять по адресу
620008, г. Свердловск, Л-8, ул. 3 Марта, 202. Институт экологии
растений и животных УНЦ АН СССР.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
экологии растений и животных УНЦ АН СССР

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ УЧЕНОГО СОВЕТА
кандидат биологических наук

М.Г.НИФОНТОВА

В В Е Д Е Н И Е

Сперматогенный эпителий является одной из наиболее радиочувствительных тканей организма. Известно, что ионизирующие излучения тормозят размножение и развитие половых клеток, вызывают в них структурные и функциональные нарушения, хромосомные перестройки, гибель. Этому вопросу посвящено большое число исследований. Торможение размножения, развития и гибель сперматогенного эпителия ведет к уменьшению числа сперматозоидов и, как результат, к частичной или полной стерилизации.

Существуют разные гистологические методы изучения количественных изменений сперматогенного эпителия под воздействием облучения. Чаще всего пользуются учетом процента канальцев на срезе семенника, содержащих тот или иной тип половых клеток. Этот метод наиболее прост. Имеются и его модификации, в которых отмечается либо степень насыщенности канальцев разными клетками по четырехбалльной системе, либо наличие определенных наборов последовательно развивающихся сперматогенных клеток, что дает представление о степени регенерации в семенниках. Более трудоемким является подсчет в срезе семенных канальцев количества разных типов половых клеток, который дает представление об абсолютном числе отдельных типов клеток, хотя, правда, не во всем семеннике^{x)}, а в отдельном его элементе. Мы попытались сопоставить оба используемых метода.

Мало работ и по морфологическим, а также функциональным изменениям зрелых сперматозоидов, вызванных ионизирующей радиацией. Следует подчеркнуть, что в литературе вообще отсутствуют подобные данные у мышей, являющихся наиболее массовым объектом экспериментального исследования. Хотя морфо-функциональное состояние спермиев (активность, резистентность, появление атипичных форм) сказываются на их оплодотворяющей способности. Особую ценность приобретают такие исследования, если они проводятся с учетом стадий развития сперматозоида, на которой воздействовал патогенный фактор. Это позволяет оценить относительную

^{x)} Уже в конце этих исследований нами была изучена возможность определения абсолютного числа отдельных типов клеток во всем семеннике путем подсчета их в окрашенной клеточной суспензии семенника. Материалы находятся в печати (журнал "Цитология").

ответственность отдельных стадий гаметогенеза за морфо-функциональную неполноценность спермиев.

Возможности предотвращения или ослабления лучевой реакции сводятся к применению радиопротекторов. Известные своей высокой эффективностью в защите организма или отдельных жизненно важных тканей протекторы оказались значительно менее действенными в отношении половых желез.

Имеющиеся по этому вопросу работы, посвященные в основном защите от генетических повреждений, сводятся к тому, что эффект протекторов проявляется, хотя и слабо, лишь на отдельных стадиях сперматогенеза. Работы, которые приводятся в литературе, посвящены изучению отдельных реакций на разных объектах при неодинаковых условиях эксперимента. Поэтому сопоставление литературных данных не позволяет с достаточной объективностью оценить чувствительность каждого теста на воздействие как ионизирующего излучения, так и радиопротектора. А такая сравнительная оценка крайне необходима, как раз ввиду едва заметного влияния химической защиты на сперматогенный эпителий и на репродуктивную способность зрелых сперматозоидов. Возможно, даже, что в такой ситуации не так важен отбор наиболее чувствительных тестов, как охват по возможности широкого спектра их, так как зачастую мы не знаем механизмов, приводящих к тому или иному проявлению лучевой реакции, а потому не исключено, что кажущийся маловажным и не столь выраженным тест даст ключ к более направлению поискам защитных, а может быть восстанавливающих мероприятий.

Помимо какой-либо иной специфики, слабое влияние радиопротекторов на герминативную ткань обусловлено ограниченным проникновением большинства протекторов в семенник, а тем более в клетки. Это обстоятельство заставляет в первую очередь искать пути к повышению проницаемости соответствующих барьеров для создания в герминативной ткани действенной концентрации испытываемого вещества.

Использованная нами доза 610 р была предварительно подобрана с тем, чтобы при максимально выраженному изменении отдельных типов половых клеток все же происходило восстановление продукции сперматозоидов. Другим обоснованием этой дозы служило то, что она использовалась в нашей лаборатории для изучения реакции на облучение кроветворных тканей, периферической крови

и кишечного эпителия; поэтому мы можем сравнивать относительную эффективность как облучения, так и радиопротекторов на тканевом уровне.

В процессе сперматогенеза можно выделить десять последовательных переходов одного типа клеток в другой, причем девять из них происходит путем деления. На одном из этапов (пока еще идет спор на каком именно) происходит воспроизведение стволовой клетки, дающей новую генерацию сперматозоидов. Трудно себе представить какие количественные изменения произойдут в этом четко отрегулированном самовоспроизводящемся процессе, если хотя бы одно из звеньев будет выбито или заторможено каким-либо воздействием. Здесь существенную помощь может оказать математическое моделирование процесса сперматогенеза. Такое моделирование кроме того вскроет, с одной стороны, узловые моменты, на которые следует обратить особое внимание в эксперименте, с другой – подтвердит или поколеблет имеющиеся представления о радиочувствительности отдельных типов половых клеток и, наконец, подскажет, какой из этапов ответственен за наблюданную нами картину.

Учитывая вышесказанное, стоявшие перед нами задачи можно сформулировать следующим образом:

I. Проведить в течение достаточно длительного времени за вызываемыми тотальным гамма-облучением изменениями

а) количества отдельных типов сперматогенных клеток,
б) морфологии и функции зрелых сперматозоидов,

в) fertильности самцов и жизнеспособности эмбрионов.

2. Изучить влияние радиопротектора на эти показатели.

3. Испытать эффективность комбинации протекторов, принадлежащих к разным классам и предполагаемым механизмам действия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Мышей-самцов линии БАЛБ, 3-х месячного возраста, весом 20-24 г разделили на группы:

1. Интактные (контроль) - 35 мышей,

2. Облученные дозой 610 р - 270 мышей (из них исследовано 78, остальные погибли, так как доза облучения составляла ДД 65/30).

3. Облученные, с предварительной (за 20 мин) внутрибрюшинной инъекцией меркаптина (150 мг/кг) - 90 (77) мышей.

4. Облученные, с предварительной (за 5 мин) инъекцией цистеина (900 мг/кг) - 42 (30) мышей.

5. Облученные, с предварительной (за 15 мин) инъекцией диметилсульфоксида (4,5 г/кг) - 30 (20) мышей.

6. Облученные, с предварительной (за 15 мин) инъекцией диметилсульфоксида в сочетании с меркамином (4,5 г/кг и 150 мг/кг соотв.) - 30 (25) мышей.

7. Необлученные, получившие инъекцию цистеина - 19 мышей.

8. Необлученные, получившие инъекцию меркамина - 51 мышь.

9. Необлученные, получившие инъекцию диметилсульфоксида - 14 мышей.

10. Необлученные, получившие инъекцию диметилсульфоксида и меркамина - 14 мышей.

Всего в опытах исследовано 363 самца из 595 и 526 самок.

Облучение производили однократно на установке ГУТ-Со-400 по 3 мыши одновременно в коробке из оргстекла, разделенной перегородками с перфорированной крышкой для доступа воздуха. Температура во время облучения 15-18⁰С. Расстояние от источника - 38 см, фильтр: 0,5 мм латуни, 15 мм гетинакса. Мощность облучения в течение опытов 32-28 р/мин. Доза облучения - 610 р, что составляет ЛД 65/30 для мышей БАЛБ.

Мышей I, 2, 3, 8 группы забивали через 1, 4, 8, 16, 24, 32, 48, 62, 90, 120 суток и изучали следующие показатели:

1) вес семенников,

2) количество отдельных типов половых клеток семенника (сперматогонии, сперматоциты без дифференцировки на типы, сперматиды, сперматозоиды) в 25 поперечных срезах канальцев у каждой мыши,

3) процент канальцев, содержащих тот или иной тип половых клеток (т.е. частоту встречаемости отдельных типов клеток),

4) число сперматозоидов в придатке семенника,

5) число живых сперматозоидов в придатке семенника,

6) подвижность спермиев (мк/сек),

7) активность сукцинатдегидрогеназы в спермиях,

8) морфологически измененные зрелые половые клетки, %,

9) fertильность самцов (% забеременевших самок, общее число эмбрионов, постиплантационную гибель эмбрионов).

Мышей 4 группы забивали через 1, 4, 8, 16, 24, 32 суток, а мышей 7 группы - через 1, 8, 16, 32 суток; изучали показатели (2) и (3).

Мышей 5,6,9,10 групп забивали через 8,32,48,62 суток; изучали показатели (4),(5),(6) и (8).

На точку использовано 6-12 подопытных и 3-4 контрольных мыши. Мышей декапитировали, вскрывали, извлекали семенники, взвешивали, фиксировали в жидкости Буэна, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 6-8 мк и после необходимой обработки окрашивали гематоксилином по Майеру. Просчитывали отдельные типы половых клеток (сперматогонии и сперматозиды по типам не дифференцировали) в 25-ти поперечных срезах канальцев семенника от каждой мыши, результаты выражали в средних числах на один поперечный срез. Кроме того, определяли процент канальцев, содержащих те или иные типы сперматогенных клеток.

Сперму выдавливали из придатков семенников (количество ее составляло 5-8 мг), разбавляли физиологическим раствором в отношении 1:20, подсчитывали число сперматозоидов в 1 мм³ с помощью камеры Горяева. Дифференцию клеток на живые и мертвые проводили по методу В.К.Милованова [1940] каплю неразведенной спермы смешивали с каплей 0,5% раствора зозина, готовили обычным образом мазок. На этом же мазке учитывали процент сперматозоидов с деформированной и макроголовкой. Подвижности сперматозоидов (мк/сек) определяли по методу Г.В.Бегиашвили [1967], используя рисовальный аппарат Аббе и секундомер; пересчет в истинные величины скорости проводили с помощью объект-микрометра.

Активность фермента сукцинатдегидрогеназы определяли с помощью хлорида 2,3,5 -трифенилтетразолия (TTX), приготовленного на фосфатном буфере с pH = 7,4. Метод, описанный для более крупных животных, оказался не применим в опытах на мышах, ввиду малого количества спермы. Поэтому нами были предварительно подобраны оптимальные условия определения активности СДГ сперматозоидов мышей: а) концентрацию TTX увеличили до 0,5%, объем его снизили до 0,1 мл, б) сперму разводили физиологическим раствором 1:20. К 0,05 мл разбавленной спермы добавляли 0,1 мл 0,5% раствора TTX и 0,1 мл 0,23 М сукцината натрия; контролем служила смесь 0,05 мл разбавленной спермы с 0,1 мл 0,5% TTX. Обе смеси помещали на 24 часа в термостат при температуре 38°С. После экстракции формазана (восстановленного TTX) спиртом, раствор центрифугировали и колориметрировали на спектрофотометре при длине волны 490 мкм. Активность фермента выражали в относительных единицах (экстинкции), характеризующих количество восстановленного TTX.

С целью изучения стерилизующего действия облучения и влияния протекторов проводили спаривание. Самцов из каждой группы спаривали с необлученными девственными самками; к каждому самцу на 3 дня подсаживали 2-х самок в состоянии эструса или проэструса. Подсадку производили в такие сроки от начала опыта, чтобы в оплодотворении принимали участие мужские гаметы, находящиеся в момент облучения на стадиях: сперматозоидов (7-10-й день от начала опыта), ранних сперматид (19-21 день), поздних сперматоцитов (22-25 день), сперматогоний типа А_д. Учитывали процент забеременевших самок. Самок вскрывали на 15-17 день беременности, учитывали постимплантационную гибель, которая отражает частоту доминантных леталей в половых клетках на разных стадиях гаметогенеза.

Результаты обрабатывали элементарными статистическими методами.

На основании известной схемы сперматогенеза была сделана попытка построения математической модели процесса, которая соответствовала бы экспериментальным соотношениям разных типов клеток, а также их изменениями под воздействием облучения. связанным абсолютные количества.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде всего мы наблюдали уже описанное в литературе соответствие последовательности изменения количества разных типов клеток после облучения и фаз их созревания. Естественно, что сроки и степень этих изменений зависят от дозы. При использованной нами дозе в 610 р уже к 4-м суткам падало число сперматогоний, а к 8-м суткам они почти исчезали; восстановление шло довольно быстро — норма достигалась между 16 и 24 сутками. Сперматоциты падали почти до нуля к 16-м суткам, а восстановление шло очень медленно. Лишь к 24-м суткам столь же выраженным было падение числа сперматид, но восстановление протекало несколько быстрее. Полное исчезновение сперматозоидов наступало к 32-м суткам; восстановление шло медленнее, чем у сперматид.

Меркаптан и цистеин у контактных животных не изменили количества сперматогенных клеток в течение всего срока наблюдения. Однако, характерным у беспородных моржиков облученных мышей явился достоверный людской на 1-е сутки сперматогоний, сперматоцитов и сперматид. Вероятнее всего этот эффект сочетанного

воздействия протектора и облучения обусловлен стрессовой реакцией, проявлением которой в данном случае явилось скатис по длине канальцев, из-за чего в гистологический срез попадало большее число клеток.

Если более высокую клеточность считать положительным эффектом, то у меркамина он проявляется далеко не во все сроки. Легче всего было бы сослаться на обычное объяснение этого явления неодинаковой степенью защиты разных стадий сперматогенеза. Однако, если проследить во времени за отражением на последующих типах клеток, замеченного на сперматогониях ^кэффекта, то мы придем к интересному, хотя и неутешительному выводу. Так, на прозреле (I6 с), где у облученных мышей насчитывается 4 сперматогония на срезе семенного канальца, меркаминоказал достоверное защитное действие, сдержав падение на 7-ми клетках (табл. I). Ввиду того, что к I6-м суткам в семеннике уже не должно быть облученных сперматогоний (см.табл.2), надо принять, что их защита мерканином проявилась во второй генерации сперматогоний. Правда, действие препарата могло оказаться и раньше, в промежутке между 8 и I6-м днями исследования, то есть на самой облученной генерации. Это, очевидно, способствовало более быстрому восстановлению числа сперматогоний к 24-м суткам (табл. 1), причем второй и третьей генераций, согласно табл.2.

Защита сперматогоний, естественно, должна была сказаться на численности сперматоцитов первой и второй генераций к 32-м суткам, а далее (к 48-м суткам, табл.2) и сперматид. Этого, однако, мы не наблюдали: на 48-е сутки сперматид было у облученных 35, а у защищенных 37, сперматоцитов же к 32-м суткам было даже меньше у защищенных (17 против 25 у облученных; $p = 0,05$). Отсюда мы можем сделать неутешительный вывод, что защита мерканином сперматогоний была лишь кажущейся.

Некоторое предотвращение падения числа живых спермиев в придатке семенника на 32 и 48 сутки (табл.3) далее переходит в более резкое опустошение у защищенных мерканином мышей.

Кстати, в опытах по спариванию через 48 суток после облучения оплодотворения не наступало как в группе с облученными, так и защищенными самцами.

Интересно, что эффект цистеина на сперматогониях (II клеток против 4-х у незащищенных, см.табл.1) также проявился лишь на I6-е сутки, (то есть у второй генерации) с таким же, как у

Таблица 2

Продолжительность развития сперматогенных клеток в
семеннике, в днях

Генера- ции	Спермато- гении	Спермато- циты I и II порядка	Сперматиды	Спермато- зоиды
I	0 - 15 ^{x)}	15,0 - 28,4	28,4 - 42,0	42,0 - 50,0
II	8,6 - 23,7	23,7 - 37,0	37,0 - 50,5	50,5 - 58,0
III	17,2 - 32,3	32,3 - 45,6	45,6 - 59,2	59,2 - 67,0

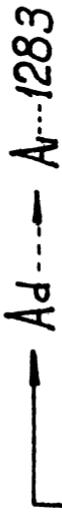
^{x)} Допускаем, что некоторая доля A_1 может оставаться в неактивном состоянии, т.е. не трансформироваться в A_2 , более длительное время, чем принимаемое в среднем (177 час).

меркамина, дальнейшим повышением клеточности к 24-м суткам. Но зато здесь действительно имело место достоверное повышение числа происходящих от них сперматоцитов к 32-м суткам опыта (36 клеток против 25 незащищенных цистеином). Кстати, этот протектор повысил к 16-му и 32-му дням также количество сперматид; если последний срок соответствует сперматидам, проявившимся от облученных и защищенных сперматогоний первой генерации (см.табл.2), то эффект на 16-е сутки опыта мог быть следствием защиты сперматоцитов I порядка. Это убеждает нас в том, что цистеин в отличие от меркамина действительно оказывает реальное защитное действие. К сожалению, мы не включили этот протектор в опыты по спариванию.

Сперматогенный эпителий представляет собой хорошо сбалансированную, постоянно регенерирующую стационарную систему. Известна средняя продолжительность этапа развития половых клеток и коэффициенты их перехода из одной стадии в другую (*Оахверд* 1955; Сурикова К.К., Гущин В.А., 1969).

Схематически этот процесс можно представить следующим образом (схема I): "дремлющая сперматогония (A_1) в среднем через 177 час. переходит в сперматогонию типа A_2 , которая со своей стороны, примерно через 30 час. делится на две клетки, одна из которых становится родоначальной "дремлющей" клеткой новой генерации, а другая (A_2) еще через 33 часа путем митотического деления дает две сперматогонии типа A_3 . Такое удвоение последующих типов клеток продолжается вплоть до сперматид, которые, созревая, превращаются в сперматозоиды.

Схема № 1



II

$$I \quad Ad \frac{(1.77)}{a_0} \quad A_1 \frac{(30.2)}{a_1} \quad A_2 \frac{(32.7)}{a_2} 2A_3 \frac{(34.2)}{a_3} 4A_4 \frac{(30.4)}{a_4} 8J_n$$

$$\frac{(26.7)}{a_5} 16B \frac{(29.7)}{a_6} 32C_I \frac{(309.8)}{a_7} 64C_{II} \frac{(10.4)}{a_8} 128T \frac{(325)}{a_9} 1283$$

Ad - "Дремлющие" сперматогонии;

Jn - промежуточные сперматогонии;

C_I - сперматоциты I и II порядков;

T - сперматиды; З - сперматозоиды;

I; II - последовательные генерации

сперматогенных клеток.

Следовательно, коэффициент перехода из A_d в A_1 , из A_1 в A_2 и сперматид (T) в сперматозоиды (3) равен I, а между остальными стадиями 2.

Теоретически из одной A_d может произойти 128 сперматозоидов. (Имеются, правда, разновидности этой схемы, по которым количество сперматозоидов получается еще большим).

Поскольку отдельные типы сперматогоний практически не удается визуально отличить друг от друга, а слишком короткая продолжительность стадии сперматоцитов II порядка, по сравнению со сперматоцитами I порядка (см.схему) может внести значительную ошибку, в экспериментальной работе указанные типы клеток объединяют в две группы, к которым добавляются еще группа сперматид и группа сперматозоидов.

Экспериментальные данные по количеству клеток каждой из указанных групп на поперечных срезах семенных канальцев мыши дает следующее соотношение: на I сперматогонию приходится 1 сперматоцит, 1,9 сперматиды и 0,6 сперматозоида.

В дальнейшем, при составлении модели кинетики сперматогенеза мы не включали в рассмотрение спермию, т.к. постоянный их отток из канальцев вносит некоторую неопределенность в фиксируемую нами величину их содержания в семеннике.

Принимая, что переход клеток из одного типа в другой является вероятностным процессом (при рассмотрении неограниченной популяции такой переход можно рассматривать как статистически случайное событие), допустимо использовать линейные дифференциальные уравнения для математического описания процесса сперматогенеза.

Если в основу такой модели положить указанные выше коэффициенты переходов (это означало бы, что мы пренебрегаем естественной гибелью клеток) мы приходим к соотношению 1:7,8:30,5, что нас явно не устраивает.

Гистологическими работами, в ряде случаев с использованием метода меченых атомов, показано, что на разных этапах сперматогенеза происходит отсев части клеток. В отношении мышей известно лишь, что 25% сперматогоний типа А погибает во время деления, об остальных этапах можем судить только косвенно на основании данных, полученных на других животных. У крыс дегенерация сперматид, которая составляет 10%, в совокупности с гибелюю клеток на более ранних этапах сперматогенеза, приводит к тому, что

только 52% ожидаемого числа сперматозоидов образуется от одной сперматогонии типа А (*Rosen-Runge*, 1955).

Вместе с тем Монези (1962) принимает примерно 3-процентную гибель для каждого типа сперматогоний.

Отсюда видно, что имеющиеся сведения по естественному отсеву половых клеток фрагментарны, а потому мы имеем достаточное число степеней свободы при задании условий решения математической модели.

Значит, прежде всего моделирование было необходимым для подбора таких условий естественного отсева клеток на разных этапах сперматогенеза, которые привели бы эту модель в соответствие с экспериментальными данными по соотношению, связывающему абсолютные количества отдельных типов половых клеток.

Другая причина, по которой мы обратились к математической модели заключалась в следующем. Из радиобиологической литературы известно, что наиболее чувствительными к ионизирующему излучению являются промежуточные и В-сперматогонии. Этот вывод делается на основании данных о наиболее значительном падении их числа после облучения. Однако, в динамической системе с последовательным превращением и делением клеток, какая-то доля которых при этом отсеивается, трудно представить себе, сколь выражена должна быть гибель этих и только-ли этих типов клеток, чтобы мы могли наблюдать то или иное изменение, именно в указанных звеньях сложной цепи, тем более, что, как мы уже говорили, ряд типов сперматогоний визуально трудно дифференцируем.

Поэтому вторым требованием к математической модели является воспроизведение тех количественных изменений, которые мы наблюдали у облученных мышей.

Естественно, что при этом необходимо перебрать значительное количество вариантов гибели разных типов клеток или их сочетаний.

Для проведения расчетов была составлена программа на ЭММ М-220, количество кодов в программе около 1000 команд, время расчета одного варианта около одной минуты. Расчеты проводились в Институте математики и механики УНЦ АН СССР.

Обозначим через n - число видов клеток, через $Y_i(t)$ - количество клеток i -го вида в момент t , через σ_i - скорость превращения клетки i -го вида в клетку $i+1$ -го вида; эта величина является обратной к времени, затрачиваемому клеткой для превращения (см.схема I). Положим $\beta_i = 2\sigma_i$ ($i=2,\dots,8$),

Таблица I

Динамика изменения количества отдельных типов половых клеток
в срезе семенного канала у облученных и защищенных мышей

Время (сутки)	Вариант опыта	сперматогенез		сперматиды	сперматозоиды
		сперматогенез	сперматогонии		
0	Борна	45,7 ± 1,9	46,4 ± 2,0	87,3 ± 5,1	62,6 ± 5,1
	Цистеин	45,0 ± 4,0	52,5 ± 4,5	92,5 ± 5,5	64,7 ± 6,4
	Облучение	45,4 ± 1,8	44,3 ± 2,0	88,2 ± 2,8	59,8 ± 3,2
	Облучение+Меркаптн	65,5 ± 4,2	62,7 ± 1,6	109,7 ± 9,1	67,6 ± 2,9
4	Облучение+Цистеин	44,6 ± 5,3	45,2 ± 3,1	91,7 ± 10,1	62,6 ± 3,7
	Меркаптн	49,4 ± 2,5	51,5 ± 2,8	96,9 ± 1,1	56,2 ± 2,2
	Облучение	30,5 ± 2,0	33,2 ± 2,6	97,6 ± 6,8	95,4 ± 12,4
	Облучение+Меркаптн	18,3 ± 3,9	39,9 ± 3,4	91,6 ± 7,4	73,0 ± 4,6
8	Облучение+Цистеин	7,4 ± 1,4	47,8 ± 3,8	105,8 ± 5,2	96,1 ± 4,0
	Цистеин	54,2 ± 4,3	48,7 ± 1,9	113,2 ± 12,4	54,5 ± 3,8
	Меркаптн	41,3 ± 1,8	48,9 ± 0,6	90,2 ± 6,5	58,3 ± 1,1
	Облучение	0,51 ± 0,15	41,3 ± 2,9	63,7 ± 5,1	66,8 ± 7,2
16	Облучение+Меркаптн	0,58 ± 0,12	41,5 ± 1,0	79,6 ± 2,7	67,4 ± 4,3
	Облучение+Цистеин	0,66 ± 0,16	46,8 ± 2,8	79,3 ± 9,5	85,8 ± 6,0
	Цистеин	47,2 ± 2,6	50,2 ± 4,0	105,0 ± 4,8	62,3 ± 4,5
	Облучение	4,03 ± 0,4	0,55 ± 0,14	78,6 ± 11,3	69,5 ± 10,7
24	Облучение+Меркаптн	7,02 ± 1,1	0,8 ± 0,17	64,1 ± 4,4	66,7 ± 4,3
	Облучение+Цистеин	3,3 ± 1,4	2,0 ± 0,3	III,7 ± 9,1	74,6 ± 7,0
	Меркаптн	48,1 ± 1,5	47,8 ± 4,3	95,6 ± 8,3	51,4 ± 1,5
	Облучение	29,3 ± 3,4	4,1 ± 0,6	0,6 ± 0,15	28,3 ± 3,6
32	Облучение+Меркаптн	46,1 ± 6,5	4,5 ± 1,1	0,38 ± 0,11	61,2 ± 4,5
	Облучение+Цистеин	47,2 ± 5,1	3,5 ± 0,3	0,28 ± 0,51	58,1 ± 3,8
	Цистеин	51,0 ± 3,0	48,2 ± 2,5	110,1 ± 5,2	60,1 ± 3,2
	Меркаптн	46,3 ± 3,1	47,0 ± 0,5	III,3 ± 7,5	55,6 ± 1,6
48	Облучение	32,1 ± 0,9	25,3 ± 1,9	4,7 ± 0,8	0,23 ± 0,06
	Облучение+Меркаптн	26,8 ± 1,3	16,7 ± 3,3	3,86 ± 0,9	-
	Облучение+Цистеин	38,0 ± 1,9	32,6 ± 1,9	13,0 ± 1,9	0,12 ± 0,03
	Меркаптн	40,5 ± 1,7	48,9 ± 2,0	101,6 ± 2,3	53,4 ± 2,0
62	Облучение	37,6 ± 4,0	26,4 ± 0,5	34,7 ± 6,3	30,2 ± 1,5
	Облучение+Меркаптн	35,7 ± 3,6	22,7 ± 4,0	36,9 ± 3,9	25,6 ± 2,5
	Меркаптн	45,3 ± 2,8	48,3 ± 1,9	107,5 ± 3,8	56,8 ± 1,7
	Облучение	40,3 ± 1,5	33,4 ± 2,0	40,8 ± 6,5	33,4 ± 0,6
90	Облучение+Меркаптн	34,6 ± 2,6	25,2 ± 2,3	31,5 ± 3,7	28,5 ± 0,3
	Облучение	42,3 ± 1,6	41,2 ± 1,4	83,0 ± 4,8	51,8 ± 1,0
	Облучение+Меркаптн	47,4 ± 2,0	35,9 ± 7,4	59,1 ± 2,9	35,8 ± 3,9
	Ц20.	Облучение	48,6 ± 2,2	45,3 ± 2,0	93,6 ± 8,0
	Облучение+Меркаптн	38,1 ± 2,0	40,7 ± 3,0	79,7 ± 5,8	44,8 ± 2,4

Таблица 3

Динамика изменения числа сперматозоидов, живых сперматоз., их подвижности, активности СДГ, морфологии в придаче семенников.

Время (сут-ки)	Варианты опыта	Число спер-матозоидов в млн./мл.	Число живых спер-матозоидов в млн./мл.	Число живых спер-матозоидов в эякулятах тыс./мл.	Активность СДГ, в эяку-лятических	Подвижность, мк/сек	Сперматозы или с дебор-мированными головками, %	Безвоздуш-но-сперматозо-ид, %	
								0	1
0	Контроль.	1,58	150,0	0,0376	51,1	1,9	23,8		
1	Мерказин	1,40	112,5	0,0360	59,1	3,0	20,5		
	Одлучение	1,15	67,2	0,0333	50,0	2,4	23,6		
	Одлучение+Мерказин	1,65	98,7	0,1007	50,6	3,3	25,3		
4	Мерказин	1,49	159,2	0,0192	57,2	2,3	19,4		
	Облучение	1,12	96,8	0,0803	50,2	2,2	23,2		
	Облучение+Мерказин	1,68	118,9	0,0246	57,9	2,6	27,1		
8	Мерказин	1,61	135,1	0,0435	61,6	2,0	24,3		
	ДМСО	1,54	221,5	-	50,0	3,6	23,3		
	ДМСО+Мерказин	1,45	271,7	-	56,2	2,6	19,0		
	Облучение	1,51	160,6	0,0285	71,1	3,7	21,2		
	Облучение+Мерказин	1,45	167,3	0,0246	68,6	4,1	33,8		
	Облучение+ДМСО	2,10	135,5	-	60,0	1,8	28,0		
	Облучение+ДМСО+Мерка-зин	1,0	161,0	-	55,4	3,0	20,0		
16	Мерказин	1,56	143,9	0,0284	55,6	2,7	17,6		
	Облучение	1,39	133,6	0,0433	57,4	3,6	25,8		
	Облучение+Мерказин	1,43	129,3	0,0663	56,7	4,8	21,8		
	Облучение	1,45	159,2	0,0159	41,3	1,6	52,2		
	Облучение+Мерказин	1,42	130,2	0,0078	37,4	1,6	29,0		
	Облучение+ДМСО	1,43	74,7	-	50,0	4,5	27,0		
	Облучение+ДМСО+Мерка-зин	1,8	113,7	-	48,1	4,3	24,2		

	Мерганин	1,43	140,1	0,0355	56,3	2,5	21,8
32	ДСО	1,80	293,4	-	49,1	3,0	15,0
	Облучение	0,99	53,0	0,0143	0	3,9	59,7
	Облучение+Мерганин	0,91	128,6	0,0075	0	2,4	56,6
	Облучение+ДСО	1,3	54,2	-	0	4,3	40,7
	Облучение+ДСО+Мерганин	1,7	59,3	-	0	5,4	41,1
	Мерганин	1,75	150,3	0,0441	56,3	2,8	26,0
	ДСО	1,68	186,6	-	49,0	3,3	20,0
	ДСО+Мерганин	1,70	235,3	-	49,7	3,0	18,0
48	Облучение	1,06	64,6	0,0123	0	3,5	96,6
	Облучение+Мерганин	0,93	97,4	0,0082	0	2,9	90,0
	Облучение+ДСО	1,5	22,0	-	0	6,2	76,0
	Облучение+ДСО+Мерганин	0,7	23,0	-	0	10,5	88,7
	Мерганин	1,19	121,8	0,0645	58,8	2,2	21,0
	ДСО	1,19	191,6	-	50,0	4,0	19,3
	ДСО+Мерганин	1,5	240,6	-	60,0	2,5	22,0
52	Облучение	0,69	28,6	0,0190	0	8,5	94,6
	Облучение+Мерганин	0,87	18,6	0,0173	0	10,2	91,4
	Облучение+ДСО	0,25	5,8	-	0	6,0	70,0
	Облучение+ДСО+Мерганин	0,17	4,7	-	0	5,9	64,8
	Мерганин	1,65	108,1	0,0274	60,0	3,7	22,8
90	Облучение	0,79	98,8	0,0077	58,8	1,7	22,3
	Облучение+Мерганин	0,79	67,2	0,0146	55,2	3,4	22,6
	Мерганин	1,37	223,8	0,0488	61,9	2,6	18,3
120	Облучение	1,48	65,7	0,0132	38,3	3,7	19,6
	Облучение+Мерганин	1,47	67,0	0,0152	54,2	2,4	16,5

так как, за исключением $A_d = A_1 = A_2$ и $T = 3$, все остальные переходы из y_i в y_{i+1} происходят путем удвоения числа клеток (см. выше).

Через $\dot{y}(t) = [y_1(t), \dots, y_n(t)]$ обозначим вектор численности всех клеток в момент времени t . Тогда модель принимает вид

$$\dot{y}(t) = \beta A y(t) \quad (I)$$

где A — матрица, коэффициенты которой рассчитываются, исходя из значений

$$a_i (i = 1, \dots, n);$$

$$\dot{y}(t) = \frac{dy}{dt} / t = \gamma;$$

β — коэффициент, учитывающий активность гормональной системы, регулирующей уровень сперматогенеза ($0 \leq \beta \leq 1$). Дальнейшие расчеты проводились при $\beta = 1$.

Количество приведенных на схеме I типов клеток обозначим для удобства следующим образом (объединив A_d и A_1):

$$\begin{array}{lll} A_d + A_1 = y_1 & A_4 = y_4 & y_I = y_7 \\ A_2 = y_2 & J_7 = y_5 & y_{II} = y_8 \\ A_3 = y_3 & \beta = y_6 & T = y_9 \end{array}$$

при этом, как уже было сказано, сперматозоиды не входят в рассмотрение.

Таким образом, число n видов клеток равно 9 и матрица имеет вид:

$$A = \left(\begin{array}{ccccccccc} a_0 & & & & & & & & \\ a_1 - a_2 & & & & & & & & \\ & b_2 - a_3 & & & & & & & \\ & b_3 - a_4 & & & & & & & \\ & & b_4 - a_5 & & & & & & \\ & & & b_5 - a_6 & & & & & \\ & & & & b_6 - a_7 & & & & \\ & & & & & b_7 - a_8 & & & \\ & & & & & & b_8 - a_9 & & \end{array} \right)$$

В размернугом виде модель развития клеток такова:

$$\begin{cases} \dot{y}_1 = \alpha_0, \\ \dot{y}_2 = \alpha_1 y_1 - \alpha_2 y_2, \\ \dots \\ \dots \\ \dot{y}_9 = \alpha_8 y_8 - \alpha_9 y_9. \end{cases}$$

Начальное состояние системы клеток, $y(0) = [y_1(0), \dots, y_9(0)]$, предполагалось заданным.

На основе модели (I) была просчитана траектория развития системы

$$y(0), y(t_1), y(t_2), \dots, y(t_n)$$

в многомерном фазовом пространстве гипотетически возможных состояний $y(t)$. Эта траектория может быть выписана, исходя из найденного общего вида решения:

$$y(t) = M_0 q^{(0)} + M_1 e^{1st} q^{(1)} + \dots + M_9 e^{19t} q^{(9)}$$

λ_i — корни характеристического уравнения $|A - \lambda E| = 0$.

где E — единичная матрица, $|A - \lambda E|$ — определитель матрицы $A - \lambda E$. Конкретный вид общего решения зависит от начальных условий.

Траектория была рассчитана для достаточно большого числа вариантов задания матрицы A ; каждый вариант предполагал задание определенного процента гибели K_i клеток i -го вида ($i = 1, \dots, 9$) для каждого этапа превращения; в этом случае система принимает вид:

$$\begin{cases} \dot{y}_1 = K_0, \\ \dot{y}_2 = \frac{\kappa_1}{207.2} y_1 - \frac{1}{32.7} y_2, \\ \dot{y}_3 = \frac{2\kappa_2}{32.7} y_2 - \frac{1}{34.2} y_3, \\ \dot{y}_4 = \frac{2\kappa_3}{34.2} y_3 - \frac{1}{30.4} y_4, \\ \dots \\ \dots \\ \dot{y}_9 = \frac{2\kappa_8}{10.4} y_8 - \frac{1}{325} y_9 \end{cases}$$

Так как расчеты по теоретической схеме без учета возможной гибели клеток не совпадают с результатами опыта (соотношением отдельных типов спермат.клеток в семеннике в норме), мы ввели коэффициенты гибели, K_i .

Перебирая различные варианты задания величин K_0, \dots, K_8 , находим такой из них, при котором отношение

$$y_1 + \dots + y_6 / y_7 + y_8 + y_9$$

ближе всего к фактически наблюдаемому, т.е. I:I:I,9.

На коэффициенты отсева накладываем следующие ограничения:

$$0,52 \leq K_i \leq 1$$

Наилучшие соответствия (I:I,22:I,74; I:I,29:I,84; I:I,34: I,91) были получены при значениях K_i :

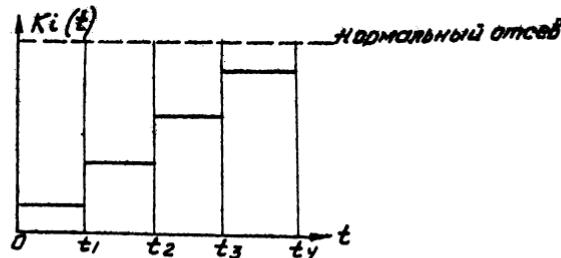
$K_0 = 0,995$; $K_2 - K_4 = 0,95$; $K_5 - K_6 = 0,9$; $K_7 = 0,52 - 0,55 - 0,57$ соответственно; $K_8 - K_9 = 1$; то есть при постуляции, что гибель сперматогоний не превышает 10%, а основной отсев (от 43 до 48%) приходится на сперматоциты I порядка.

Адаптация модели (I) к экспериментальным данным по облучению осуществлялась также путем варьирования коэффициентов гибели клеток K_0, \dots, K_8 .

Эти коэффициенты не предполагаются постоянными; считаем, что они зависят от времени:

$$K_i = K_i(t) \quad (i=0, \dots, 8) \quad (2)$$

Зависимости $K_i(t)$ с достаточной степенью точности можно считать кусочно-постоянными (см. рис. I).



Отыскывание зависимостей (2) осуществлялось по следующему алгоритму.

I. Весь рассмотренный интервал времени 0 - 120 суток разбиваем на подинтервалы:

$$[0, t_1] = \Delta_1, [t_1, t_2] = \Delta_2, \dots, [t_{s-1}, t_s] = \Delta_s$$

На каждом интервале Δ_j для любого i полагаем:

$$k_i(t) = c_{ij}, c_{ij} = \text{const.}$$

2. Проводим вариацию констант c_{ij} ($i = 1, \dots, 6; j = 1, 2, 3, 4$), подбирая такие их величины, чтобы значения $y_1 + \dots + y_6$, полученные для различных периодов времени соответствовали экспериментальным данным в течение всего периода $[0, 120]$ после облучения.

3. Подбираем константы c_{ij} ($i = 7, 8, 9; j = 1, \dots, 5$), чтобы выполнялись наблюдаемые пропорции

$$y_1 + \dots + y_6 / y_7 + y_8 / y_9 \quad (3)$$

Расчеты показали, что гибели только промежуточных и В-сперматогоний недостаточно, чтобы реализовались в эксперименте изменения клеточности сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов.

Возникает необходимость постулировать длительное подавление родоначальных клеток - Ad. Это как раз и являлось одним из основных требований предъявленных к математической модели.

Несомненный интерес представляют изменения числа сперматоцитов в придатке семенника. Существует ли параллелизм между количественными изменениями сперматогенных клеток в семеннике и числом сперматозоидов в придатке? В наших исследованиях во все сроки мы находили в придатке семенников сперматозоиды, несмотря на отсутствие их к 32-м суткам в семенных канальцах. Это может быть обусловлено тем, что в хвостовой части придатка (резервуаре для спермииев) задержались сперматозоиды, вышедшие из семенников до 32-х суток. Надо учесть, что прохождение спермииев из семенника в придаток длится 7-8 суток (Окберг (1955)). Кроме того, как мы уже отмечали, Гертвиг (1938) обнаружила отдельные сперматогонии в течение всего периода наблюдений (46 дней), несмотря на высокие дозы облучение (до 1500 р). Окберг (1955) также показал, что при дозе 600 р оперматогонии типа А выживают. По-видимому, незначительная часть сперматозоидов все же образуется даже в этих условиях и поступает в придаток.

Наблюдавшееся нами падение числа спермииев в придатке уже через сутки после облучения может быть вызвано состоянием стресса, так как в литературе описана даже азооспермия, понижение плодовитости при состоянии страха или стресса. Второе, более глубокое и длительное падение, которое мы наблюдали в период с 32 по 90-е сутки, можно отнести за счет описанной в литературе гибели и прекращения митозов сперматогоний типа В, промежуточных и частично типа А. К 120-м суткам, когда уже произошла репопуляция сперматогенного эпителия, количество сперматозоидов нормализуется.

Как известно, сперматозоиды в придатке делятся на живых и мертвых. После облучения падение живых спермииев было выражено более резко, чем их общего количества. Сроки максимального снижения тех и других совпадают (24-32 сутки). По-видимому, спермии, облученные на стадиях поздних сперматоцитов и сперматогоний (табл. 3), несут на себе глубокие повреждения, которые приводят к их значительной гибели, почему их число и не достигает нормы к концу опыта. Каково же состояние оставшихся в живых сперматозоидов? Для этого мы изучали их морфо-функциональное состояние.

В литературе мы не встретили сведений о скорости движения спермииев мыши. По нашим данным она составляет 51 мк/сек. У облученных животных мы наблюдали вместо поступательного манежное движение клеток, а в некоторые сроки даже потерю ими подвижности. Все сперматозоиды, образовавшиеся из облученных поздних сперматогоний (32-е сутки), ранних и средних сперматогоний А_Д (48 и 62

сутки) были неподвижными. Отсутствие подвижности может наблюдаться, как указывал *Jlyes* (1948), когда предстательная железа и семенные пузырьки в результате тяжелого воспаления полностью погибли или все семеноводящие протоки закрыты, так, что простато-везикуллярный секрет не в состоянии смешиваться со сперматозоидами. Другой причиной может быть тотальное отсутствие андрогенной функции яичек. Тестостерон регулирует деятельность добавочных половых желез, в том числе образование углевода. Мапп (1946) показал, что естественным сахаром семени является фруктоза, содержащаяся главным образом в семенных пузырьках и являющаяся основным источником энергии для сперматозоидов. Каган (1963), исследуя под электронным микроскопом потерявшее подвижность сперматозоиды, обнаружил явление неполного созревания в головке спермииев и признаки деструкции в хвостовом отрезке. Из оказанного следует, что причины нарушения подвижности спермииев могут быть разными и для их выяснения необходимо более тщательное изучение отдельных частей сперматозоида, установление количества фруктозы и состояния предстательной железы. Количество фруктозы служит индикатором андрогена (*Мапп*, 1947). Изучение данного показателя связано с определенной трудностью. У мышей, являющихся наиболее массовым лабораторным материалом, выделяется весьма незначительное количество спермы, которую можно получить лишь путем электроаккуляции. На характер движения влияет и форма головки. Поярков (1927) считал, что удары хвоста обеспечивают продвижение сперматозоидов вперед, а головка своей вогнутой ложкообразной формой обуславливает вращение сперматозоида вокруг его продольной оси. Большая изогнутая поверхность головки будет заставлять сперматозоид при движении отклоняться от прямой линии и двигаться по кругу с очень большим радиусом. Поступательное движение перейдет в манежное. Если при облучении ослабевает сила ударов хвоста, а головка сперматозоида становится массивной, то такие удары будут лишь слегка отклонять сперматозоид вправо или влево (колебательное движение). Колебательное движение можно наблюдать и у тех спермииев, у которых ослаблен процесс образования энергии. Для нормального сперматозоида характерным является правильность и пропорциональность, что особенно относится (как мы уже указывали выше) к форме головки и расположению хроматина. Мы наблюдали высокий процент сперматозоидов с деформированной головкой при облучении их на стадии зрелых сперматозоидов (8 сутки), спермитид (16), ранних сперматоцитов и сперматогоний (62). Деформация головки может привести к повреждению акросомы, в которой сосредоточен фер-

мент гиалуронидаза, растворяющая лучистый венец яйцеклетки для внедрения сперматозоида. При недостаточной концентрации фермента вокруг яйцеклетки оплодотворения может не наступить. Кроме того, при облучении сперматогоний у яко четко проявилась макрооспермия, которая в свою очередь может явиться одной из причин отсутствия подвижности. Примчны, приводящие к разрыву сперматозоида (хвост отделен от головки) пока не ясны.

Таким образом, наиболее выраженные морфологические изменения при полной потере подвижности наблюдаются у сперматозоидов, облученных на стадии сперматогоний и частично сперматоцитов.

Для определения функционального состояния зрелых половых клеток, кроме подвижности, мы исследовали фермент сукцинатдегидрогеназу (СДГ). В сперме найдено несколько дегидрогеназ, но для главной из них - СДГ многими исследователями (*Веск и Сэлбизиу 1943; Эзб и Эльтз 1950; Мерри и Сэлбизиу, 1946; Smith, Mayer, 1957*) показана связь между ее содержанием в сперме быка и оплодотворяющей способностью сперматозоидов. Согласно исследованиям *Nelson (1958, 1959)* у сперматозоидов СДГ и аденоцитрифосфатаза содержатся в самих фибрillaх осевой нити митохондрий. Благодаря этому средняя часть сперматозоида, где находятся митохондрии, и самий хвост богата ферментами, вырабатывающими энергию для движения. Нарушение сукцинатдегидрогеназной активности, которое совпадает со сезонными колебаниями плодовитости, показывает, что данный фермент имеет немаловажное значение в жизнедеятельности сперматозоидов *Smith, (1957)*. В настоящее время нет единого мнения об изменении активности данного фермента под воздействием ионизирующих излучений. Если по данным одних авторов активность СДГ падает после облучения, то по данным других, наоборот, повышается. Некоторые исследователи вообще не обнаруживают каких-либо нарушений в активности фермента в различных органах животных.

Данных, касающихся изменения СДГ в сперматозоидах, облученных на разных стадиях гаметогенеза, в литературе мы не встретили. Активация фермента на 1-4-е сутки после облучения может быть условлена, учитывая данные А.А.Рогова и В.Б.Розена по паренхиматозным органам крыс, первой фазой синдрома адаптации Селье. Резко сниженная вплоть до конца опыта активность СДГ указывает на пониженную жизнеспособность сперматозоидов. В.Г.Семаковым (1961) была показана корреляция между активностью СДГ и оплодотворяющей способностью сперматозоидов. В нашем же случае этот показатель, очевидно, не является решающим, так как оплодотворяющая способность восстанавливалась к 90-м суткам.

Все изученные нами морфо-функциональные изменения сперматозоидов наиболее резко и одновременно проявились на определенных стадиях сперматогенеза : сперматогоний (62-е сутки), ранние и средние сперматоциты (48,32-е сутки, соответственно). Временная стерильность соответствовала тем же срокам, исключая еще и стадию сперматид. Важно отметить, что наблюдавшаяся стерильность связана не с отсутствием половых клеток, а с их неспособностью к оплодотворению.

В литературе эффект, проявившийся через 3-6 месяцев, рассматривается как результат воздействия излучения или радиопротектора на так называемые, стволовые сперматогонии. Разумно полагать, что в организме, помимо обычных "дремлющих" *Ad* существует еще резерв "длительно дремлющих" (см.наше примечание к табл.2) ; правда не известно, какой процент они составляют и сколько времени "дремлют". Отнести за их счет повышенную имплантационную гибель на 90-120 сутки или достоверное увеличение числа беременных самок в группе защищенных меркаптином самцов на 90 сутки можно лишь в том случае, если доля "длительно дремлющих" *Ad* достаточно велика. В противном случае, придерживаясь общей схемы (см.табл.2), мы приходим к тому, что эффекты эти проявились в сперматозоидах, являющихся 6 и 10 генерацией от облученных сперматогоний. Что это ? Накопление измененной информации ? Нам кажется вероятным, что в данном случае сперматогонии проходят через менее жесткий отбор (сито митозов и мейозов), механизмы которого могут быть нарушены. Не исключена также возможность опосредованного через другие системы воздействия, для чего необходимо определенное время ...

В наших исследований меркаптин не оказал защитного эффекта как по морфо-функциональным показателям, так и по способности сперматозоидов к оплодотворению.

Основной причиной слабой эффективности протекторов при облучении гонад, по-видимому является значительно меньшая концентрация их в половых клетках, чем в клетках других органов (*E.Betz, D.Mewissen* 1962, С.П.Ярмоненко и др.,1965). Однако попытка преодолеть это препятствие путем введения протектора аминоэтилизотиурония (АЗТ) непосредственно в мошонку оказалась безрезультатной (*Mandl* 1959).

Мы полагали, что ДМСО, повышая проницаемость биологических барьеров, может увеличить проникновение в семенники и меркаптина. Отсутствие положительного эффекта при комбинации этих двух препаратов можно объяснить тем, что либо ДМСО не смог в достаточном количестве "привести" меркаптин в семенники либо половые клетки

являются уникальными в смысле проникновения в них чужеродных веществ. Этим же свойством половых клеток, возможно, обусловлено и то, что сам ДМСО, несмотря на высокую концентрацию в ткани, не оказал защитного действия.

ВЫВОДЫ

В результате изучения динамики изменения клеточности сперматогенного эпителия, количества сперматозоидов, живых спермииев в придатке семенника, их морфо-функционального состояния и оплодотворяющей способности у облученных однократно totally гамма-лучами мышей линии БАЛБ и влияния на эти показатели радиопротекторов можно сделать следующие выводы

1. Морфо-функциональные изменения сперматозоидов (подвижность, активность СДГ) проявляются наиболее резко при облучении их на стадиях поздних сперматоцитов и сперматогоний.

2. Сперматозоиды, облученные дозой 610 р (ЛД 65/30 для мышей БАЛБ) на стадиях сперматогоний (спаривание через 46-48 суток после облучения) - сперматоцитов (22-24 сутки) - сперматид (19-21 сутки), теряют способность к оплодотворению. Лучевое поражение самих сперматозоидов (спаривание через 6-8 суток) ведет к повышению процента постимплантационной гибели эмбрионов.

3. Меркамин, инъецированный до облучения, удерживал количество сперматогоний на достоверно более высоком уровне ; однако, эта "запита" была лишь кажущейся - в дальнейшем у защищенных более выражено падение числа сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов, также более высокий процент постимплантационной гибели. Цистеин в этих условиях дал истинную защиту (по количеству сперматогенных клеток) ; в опытах по спариванию он не был испытан. ДМСО, а также его комбинация с меркамином не оказали заметного эффекта.

4. Построенная на основании экспериментальных данных математическая модель процесса сперматогенеза выявила необходимость постулирования : а) высокой естественной гибели сперматоцитов I порядка (до 48%) при 5-10% отсеве сперматогоний ; б) длительной задержки развития стволовых сперматогоний под влиянием облучения, помимо гибели промежуточных и В - сперматогоний.

С П И С О К

работ, опубликованных по теме диссертации

1. В.П.Мамкина. Количественный гистологический анализ действия гамма-облучения на семенники мышей. Тезисы докладов. Вторая реопубликанская научная конференция "Механизмы биологического действия ионизирующих излучений", 1969. 190. Львов.
2. В.П.Мамкина. Влияние меркаптина на количественные и функциональные изменения сперматозоидов у облученных мышей. Вторая Уральская конференция "Синтез, изучение свойств и применение детоксицирующих соединений" (Тезисы докладов, 1971, 76, Свердловск).
3. В.П.Мамкина. Влияние гамма-облучения на плодовитость самцов мышей. Тезисы докладов 2-ой областной конференции "Вопросы радиологии и онкологии", 1972, 108, Нижний Тагил.
4. В.П.Мамкина. Количественный гистологический анализ действия гамма-облучения в цистичка на семенники мышей. Радиобиология, 1973, 13, 1, 131-134.
5. В.П.Мамкина, И.П.Трегубенко. Влияние гамма-облучения и меркаптина на сперматозоиды мышей. Радиобиология, 1973, 13, 4, 631-634.
6. В.П.Мамкина. Действие диметилсульфоксида (ДМСО), а также ДМСО-меркаптина на количественные и морфологические изменения сперматозоидов, облученных на разных стадиях сперматогенеза. Деп. ВИНИТИ, № 731-75.

Объем 1,5 Тираж 150 Заказ № 5745

Свердловск, К-63, пр. Ленина, 51. Типолаборатория УрГУ