

УДК 597.583.1 : 597-146 : 539.16

**ВЛИЯНИЕ ИНКОРПОРИРОВАННОГО РАДИОСТРОНЦИЯ
НА ПОЛОВЫЕ ЖЕЛЕЗЫ САМЦОВ ТИЛЯПИИ**

Э. А. Воронина

С момента инкубации икры тилляпии жили в течение 500 дней в растворах радиостронция концентрацией $1 \cdot 10^{-10}$, $1 \cdot 10^{-8}$, $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л*. Исследовалось состояние гонад самцов-производителей и их первого поколения. Для сравнения влияния различных доз инкорпорированного облучения на сперматогенез тилляпии проводился гистологический анализ семенников. Гонады фиксировали в жидкости Серра и заливали парафином по общепринятой методике. Срезы окрашивали железным гематоксилином с последующей дифференцировкой железистоаммиачными квасцами (Роскин, 1957).

По поведению и брачному наряду опытные и контрольные рыбы не различались. Различия были обнаружены в форме, массе и размерах семенников, а также в процессе сперматогенеза у облученных рыб.

Производители. Часть рыб была вскрыта в возрасте 213 дней. Гонады контрольных тилляпий представляли собой округлые тяжи молочно-белого цвета, мягкие на ощупь. Форма и размер семенников контрольных рыб в натуральную величину представлены на рис. 1. Семенники тилляпии по своему строению близки к перкоидному (радиальному) типу. В поперечном сечении они имеют вид треугольников с хорошо просматриваемым центральным семявыводящим каналом и большим количеством радиальных семенных каналов, спускающихся к семявыводящему протоку, который впадает затем в мочеполовой синус. Внутри канальцев расположены половые клетки на различных стадиях сперматогенеза. Генеративная ткань семенника на гистологических срезах состоит из громадного количества цист, отделенных одна от другой одним-двумя рядами клеток соединительнотканного эпителия. Цисты сосредоточены на периферии железы, в ее корковой части.

У взрослого самца из контроля в корковой части семенника просматриваются цисты со сперматогониями. Эти цисты значительно меньше, содержат немного клеток с крупными пузырьевидными ядрами, количество плазмы в этих клетках небольшое, обычно наблюдалось 8—10 сперматогоний в цисте. Ниже располагаются цисты с молодыми спермацитами и со сперматоцитами на различных стадиях роста, молодые еще небольших размеров и довольно крупные. Затем расположены цисты со спермацитами второго порядка, состоящие из более мелких клеток и ядер. Около них расположены цисты со спермацитами с очень мелким компактным ядром и цисты со спермиями на различных стадиях их формирования.

На рис. 1, б представлен гистологический срез семенника рыбы кон-

* Ки (кюри) в системе СИ = $3,7 \cdot 10^{10}$ с⁻¹.

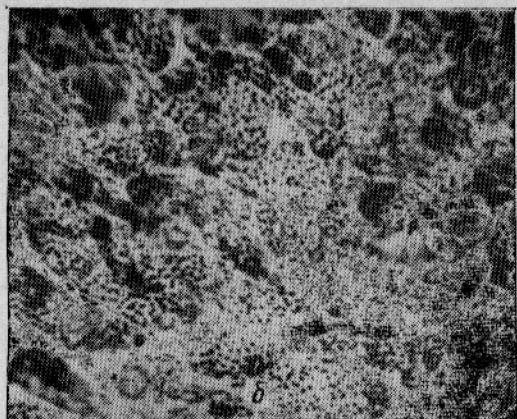


Рис. 1. Семенники тляпии (контрольные особи) в возрасте 213 дней (родители, увеличение 1:1):

a — семенники; *б* — гистологический срез семенника.

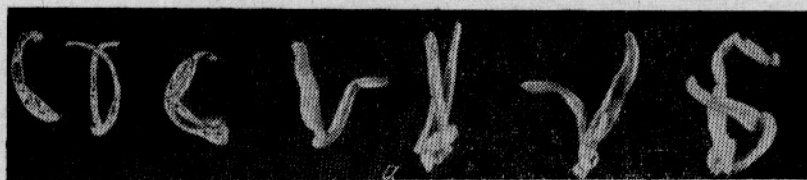


Рис. 2. Семенники тляпии (особи из раствора активностью $1 \cdot 10^{-10}$ Ки/л) в возрасте 213 дней (родители, увеличение 1:1):

a — семенники; *б* — гистологический срез семенника.

троля. Видно, что в гонаде идет активный сперматогенез, наблюдаются цисты на всех стадиях развития.

У самцов, выращенных в растворах радиостронция активностью $1 \cdot 10^{-10}$ Ки/л, семенники по форме не отличались от семенников контрольных самцов (рис. 2). Микроскопическая картина состояния семенников опытных рыб, выращенных в растворах радиостронция активностью $1 \cdot 10^{-10}$ Ки/л, представлена на рис. 2, б. В железе идет активный сперматогенез — цисты на всех стадиях развития. Однако в семенниках опытных рыб наблюдается общая тенденция к уменьшению размеров цист со сперматогониями. Число сперматогоний в них колеблется от 2 до 4. Отличие имеется и в цистах с молодыми сперматоцитами, там наблюдаются клетки с пикнотическим распадом ядер. В цистах с более поздними стадиями развития клеток также встречаются клетки с пикнотическими ядрами.

Семенники рыб, выращенных в растворах радиостронция активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л, не отличались от семенников контрольных рыб по форме, однако были мельче их (рис. 3). Микроскопическая картина семенников представлена на рис. 3, б. Из рис. 3, б видно, что в гонадах идет активный сперматогенез, наблюдаются цисты с клетками на всех стадиях развития. Однако и при концентрации радиостронция $1 \cdot 10^{-8}$ наблюдаются отклонения в развитии генеративной ткани семенника. Эти отклонения схожи с отклонениями, отмеченными при концентрации радиостронция $1 \cdot 10^{-10}$ Ки/л.

Совершенно иными были половые железы у самцов из раствора концентрацией $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л. Было вскрыто около 120 самцов, ни у одного из них не было нормальных семенников. Гонады представляли собой образования неправильной формы с узловатой и бугристой поверхностью (рис. 4, б). Вместо обычного округлого тяжа молочно-белого цвета, каким бывает семенник тилапии на четвертой-пятой стадии зрелости, гонады самцов, выращенных в растворе активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, имели вид стекловидных полупрозрачных тяжей синевато-серого цвета, иногда нитевидных прозрачных тяжей. В формах и в размерах семенников наблюдались значительные индивидуальные различия.

Отклонение от нормальной формы и величины гонад и наличие индивидуальных отклонений внутри варианта опыта в значительной степени определяют резкое снижение абсолютной массы самих гонад.

Микроскопический анализ состояния семенников самцов, выращенных в растворе концентрацией $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, показал полную или частичную гибель генеративной ткани (см. рис. 4, б). Рыбы с пораженными половыми железами составляли около 80%. На гистологических препаратах этих гонад не было обнаружено половых клеток. На гистологическом срезе гонады генеративная ткань представляется состоящей из небольшого числа цист, отделенных одна от другой разросшейся соединительной тканью. В корковой части имеются отдельные клетки сперматогоний. Наблюдались сперматогонии с пикнотическими ядрами, оболочки цист со сперматогониями частично были разрушены. В цистах со сперматидами в большей части клеток отмечается пикноз ядер. Имелись цисты со сперматозоидами. Обращают внимание гигантские клетки с большим ядром и цитоплазмой, имеющие отдаленное сходство с яйцеклетками (см. рис. 4, б). Подобные клетки в нормальной ткани семенника отсутствовали.

Наличие гигантских клеток в семенных канальцах при массивных дозах облучения (12—16 мкКи/г) отмечали и другие исследователи (Пинус, Русских и др., 1962). Формирование подобных клеток, не свойствен-



Рис. 3. Семенники взрослых самцов (опытные особи из раствора активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л) в возрасте 214 дней (родители, увеличение 1:1):
a — семенники; *б* — гистологический срез; идет активный сперматогенез, видны цисты на всех стадиях развития (об. 20 \times ; ок. 7 \times).

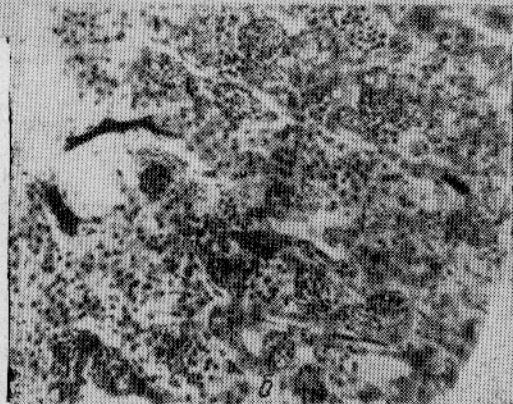


Рис. 4. Семенники взрослого самца в возрасте 214 дней:
a — семенники особей из раствора активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л; 1 и 2 — резко асимметричные гонады; 3 — нормальные гонады; 4 — односторонне развитые; 5, 6 — несколько асимметричные гонады; 7 — нитевидные; *б* — семенники особей из раствора активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л, видны отдельные сперматогонии в корковой части семенника; уменьшенные в размерах цисты на разных стадиях сперматогенеза расположены среди сильно разросшейся соединительной ткани; видны отдельные клетки в цистах с циклотических ядрами; привлекают внимание крупные клетки, не характерные для семенника (об. 20 \times ; ок. 7 \times).

ных семяродному эпителию, наблюдается при нарушениях обмена, авитаминозах и т. д. и связано с дегенеративными изменениями семяобразующих клеток (Филин, Ясин, 1931; Пинус и др., 1962). Наблюдалось также значительное разрастание соединительной ткани в семенных каналах. Развитие сперматогенного эпителия в «бугорках» шло, вероятно, за счет небольшого числа половых клеток, которые оказались способными к дальнейшему делению. Однако клетки генеративного эпителия в гонадах у более старшей возрастной группы рыб из этого варианта опыта не были обнаружены. На рис. 5, а, б представлена фотография поперечного среза семенника самца в возрасте 336 дней. Боковые каналы и выносящие протоки были пустыми. В корковой части семенника клетки генеративного эпителия полностью отсутствовали. Очевидно, с увеличением дозы облучения гонады половые железы полностью стерилизуются. Эффективность действия суммарной дозовой нагрузки на семенники собак и обезьян при хроническом опыте отмечают ряд авторов (Чеботарев и др., 1968; Федоров, Джекидзе, 1971). Они указывали на лучевое поражение, ведущее к дезинтеграции системы. По своим физиологическим последствиям этот процесс аналогичен хирургическим удалениям желез (Брюс, Захер, 1955; Кашенко, 1953, 1960, 1971).

Некоторые стерильные гонады взрослых самцов сохраняли соматические компоненты в свойственной им структуре. Эти гонады выполняли эндокринную и экзокринную функции, по-видимому, как нормальная гонада, на что указывает тот факт, что размер и объем гонады были такими же, как у семенников контрольных рыб, и самцы претерпевали нормальную дифференциацию вторичных половых признаков. Семенники представляли собой прозрачный тяж, наполненный прозрачной жидкостью. Подобный эффект действия ионизирующего облучения на семенники *Lebistes* и *Xiphophorus* отмечает Вивье (I. Vivien, 1953).

Характер поражения семенников позволяет предполагать невозможность в дальнейшем репарации генеративной ткани. Таким образом, состояние половых желез самцов, выращенных в растворе активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, показывает, что в результате патологических изменений самцы родительского поколения становятся стерильными.

Первое поколение. При микроскопическом исследовании семенников самцов первого поколения в возрасте 130 и 210 дней при активности раствора Sr^{90} — Y^{90} Ки/л наблюдалась картина, характерная и для родителей (рис. 6).

У самцов, выращенных в растворе активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л, генеративная ткань была представлена также цистами на всех стадиях развития, однако наблюдались участки некротического характера, интереси-



Рис. 5. Срез семенника тилляпии в возрасте 336 дней из раствора активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л:

а — поперечный разрез (об. 20х; ок. 7х); б — часть среза. В корковой части железы не видно клеток генеративного эпителия (об. 40х; ок. 7х).

циальная ткань была более развитой, встречались каналцы с очень небольшими количествами клеток сперматогенного эпителия. С возрастом у тилипии из этого варианта опыта изменения в семенниках прогрессировали. Возможно, здесь сказывается подавление физиологической ре-

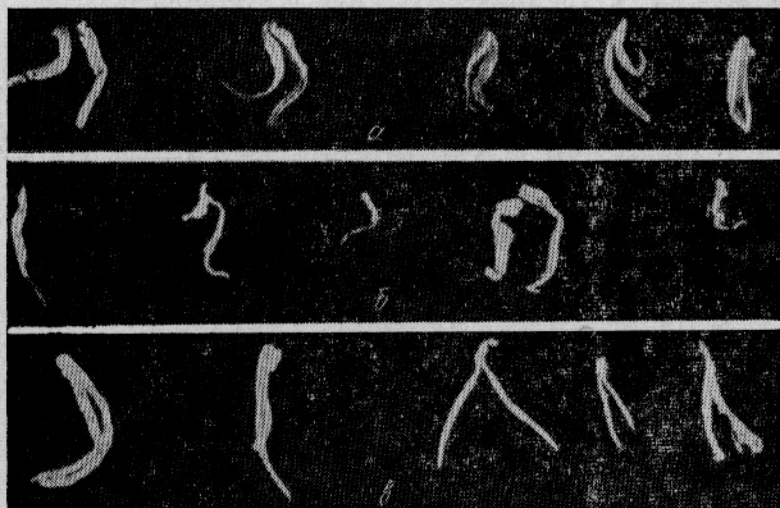


Рис. 6. Семенники тилипии в возрасте 130 дней, первое поколение (увеличение 1 : 1):

а — контрольных особей; *б* — особей из раствора активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л; *в* — $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л.

генерации клеток сперматогенного ряда, чем, видимо, объясняется резкое уменьшение массы самих гонад. У самцов, выращенных в растворе активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л, кроме отклонений в ходе сперматогенеза, наблюдалось также и значительное понижение плодовитости. О понижении плодовитости можно было судить прежде всего по значительному снижению массы семенников, количества клеточных элементов в каналцах, по изменению диаметра каналцев и различной степени дегенерации генеративных элементов.

У самцов тилипии, полученных от скрещивания самок, выращенных в растворе активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л и самцов, выращенных в растворе активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л, но живших в растворе активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, наблюдалось полное опустение и изменение структуры семенника. Семенник имел вид цилиндрической трубки (рис. 7). Генеративные клетки в гонадах самцов не были обнаружены.



Рис. 7. Поперечный срез семенника самца в возрасте 230 дней из раствора активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, первое поколение. Клетки генеративного эпителия отсутствуют (об. 20х; ок. 7х).

Эти изменения ведут к полному нарушению структуры и функции половой железы. Следует отметить, что рыбы росли медленно и в возрасте 169 дней имели массу в среднем 3,68 г (таблица). Гонады их резко отставали по массе от гонад контрольных рыб (составляли от массы гонад контрольных рыб 4,1%). Все рыбы в этом варианте опыта погибли в возрасте 175 дней.

Характеристика самцов тилпии, выращенных в растворах радиостронция разной активности

Активность раствора, Ки/л	Число исследованных самцов, шт.	Возраст, дни	Масса рыбы, г			Масса гонады, мг		
			средне-арифметический + ошибка среднй	коэффициент вариации, %	достоверность различий по <i>t</i> -критерию	средне-арифметический + ошибка средней	коэффициент вариации, %	достоверность различий по <i>t</i> -критерию
Родители								
Контроль . . .	9	213	27,6±1,60	17,7	—	140,0±29,0	46,0	—
1·10 ⁻¹⁰ . . .	7	213	34,4±1,35	10,5	3,24	169,0±25,0	33,1	—
1·10 ⁻⁸ . . .	6	214	29,7±1,17	9,6	1,00	109,0±16,3	36,6	2,6
1·10 ⁻⁶ . . .	6	214	29,7±0,70	56,0	1,0	76,4±6,0	17,5	6,4
Контроль . . .	7	366	47,6±4,9	2,7	—	320,0±4,9	16,8	—
1·10 ⁻¹⁰ . . .	9	366	52,3±3,1	3,3	—	351,9±5,9	17,1	—
1·10 ⁻⁸ . . .	8	366	36,2±1,6	12,1	2,2	276,0±5,1	19,0	1,85
1·10 ⁻⁶ . . .	7	366	45,0±3,2	19,0	0,45	84,0±6,4	20,2	10,0
Первое поколение								
Контроль . . .	18	132	5,94±0,89	45,0	—	33,4±1,5	60,5	—
1·10 ⁻¹⁰ . . .	18	130	1,8±0,16	22,2	4,6	11,0±0,77	18,5	14,0
1·10 ⁻⁸ . . .	19	130	2,02±0,12	13,8	4,35	8,8±0,32	8,06	17,5
1·10 ⁻⁶ . . .	13	130	1,37±0,23	50,0	5,0	0,78±0,27	80,1	29,0
Контроль . . .	17	220	15,7±0,7	57,0	—	124,3±4,7	48,0	—
1·10 ⁻¹⁰ . . .	18	229	13,5±0,6	10,0	3,14	175,0±1,5	11,4	2,4
1·10 ⁻⁸ . . .	20	210	19,2±0,5	5,8	5,0	81,0±2,1	36,8	1,9
1·10 ⁻⁶ . . .	15	169	3,68±0,14	40,0	17,0	5,27±1,5	95,0	6,3

Примечание. Достоверность различий по *t*-критерию дана при уровне значимости 0,05; 0,01.

При хроническом инкорпорированном облучении, по-видимому, изменяется и оплодотворяющая способность спермиев. В эксперименте со спермиями контрольных и опытных рыб зарегистрировано поступательное движение сперматозоидов и общая продолжительность их движения.

У контрольных самцов поступательное движение сперматозоидов длилось от 2 мин 26 с до 3 мин 50 с, колебательное — от 3 мин 15 с до 7 мин 50 с (при температуре воды 26° С).

У сперматозоидов самцов, выращенных в растворах активностью 1·10⁻¹⁰ и 1·10⁻⁸ Ки/л, наблюдалась тенденция к удлинению времени активного и колебательного движения. Так, поступательное движение спермии самцов, выращенных в растворе активностью 1·10⁻¹⁰ Ки/л, длилось от 6 мин 10 с до 9 мин 10 с, колебательное — от 37 мин 13 с до 40 мин 12 с, в растворе активностью 1·10⁻⁸ Ки/л поступательное движение спермии длилось от 7 мин 15 с до 9 мин 30 с, а колебательное — от 27 мин 30 с до 30 мин 30 с, в растворе активностью 1·10⁻⁶ Ки/л поступательное движение длилось от 3 мин 35 с до 3 мин 47 с, колебательное

всего от 1 мин 24 с до 1 мин 40 с. Незначительное количество спермы не могло обеспечивать оплодотворение икры.

Процент спермиев, приобретающих подвижность при разведении эякулята водой, сильно варьирует. У одних самцов все или большая часть спермиев приобретает поступательное движение, у других активируется только небольшая часть спермиев, а иногда все они остаются неподвижными (Персов, 1941; Дорошев и др., 1969; Гинзбург, 1966). Следует отметить, что у самцов-родителей из раствора активностью $1 \cdot 10^{-10}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л движение у 50% спермиев замедлялось синхронно, в то время как у контрольных самцов движение замедлялось неравномерно, отдельные клетки продолжали активно двигаться до 30—40 мин. Причины различий в продолжительности периода активных движений у спермиев не выяснены.

Видимо, определенную роль играют различия в возрасте самих спермиев, т. е. степень их зрелости (Гинзбург, 1968). В природе существует известная корреляция между активностью движения сперматозоидов и способностью их к оплодотворению. Более длительный период активного движения спермиев самцов из раствора активностью $1 \cdot 10^{-10}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л, возможно, вызывал увеличение процента оплодотворенной икры. Опыты на спермиях форели (Schlerk, Kahmann, 1935) показали, что по мере уменьшения скорости движения спермиев снижается и процент оплодотворенной икры, а с прекращением их движения способность к оплодотворению полностью пропадает.

Резкое снижение подвижности сперматозоидов и стерилизация самцов из раствора активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л позволяют предположить, что кроме структурных изменений семенников имеют место и повреждения в самих сперматозоидах. Однако по материалам нашей работы невозможно судить о том, является ли изменение времени активного движения сперматозоидов следствием невидимого поражения генеративных элементов (для растворов активностью $1 \cdot 10^{-10}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л) или его можно рассматривать как положительный факт действия постоянного инкорпорированного облучения в этих концентрациях.

Полученные данные подтверждают высокую чувствительность семенников к ионизирующему излучению (Казарет и Херш, 1955; Неменов, 1926; Темпельман, Лиско, Гофман, 1954; Кошурникова, 1961; Трусова, 1963; Чеботарев, 1970; Кашенко, 1971).

При действии инкорпорированного $Sr^{90}-Y^{90}$ наблюдается та же последовательность поражения и гибели различных стадий зародышевых клеток, что и при внешнем облучении. При этом вначале в семенниках уменьшается количество цист со сперматогониями, затем со сперматидами.

Изменения в половых железах теляпий первого поколения по характеру и срокам аналогичны изменениям, происходящим в этих клетках в родительском поколении.

Механизм поражения половых желез при действии инкорпорированного ионизирующего излучения еще не изучен. По мнению ряда авторов, при локальном облучении гонад зародышевые клетки гибнут в основном от прямого действия радиации. При тотальном облучении организма патологический процесс в семенниках усиливается наличием общего поражения (Кузин, 1966; Ковалев, 1969; Бычковская, 1970). Можно предполагать, что при воздействии инкорпорированного Sr механизм поражения половых желез сложен: прямое действие радиации, общая токсикация организма в связи с патологическими изменениями в других органах (нейрогуморальных) (Кашенко, 1971) и индивидуальная чувствительность. Определяющими, по нашему мнению, являются

два последних фактора, о чем частично свидетельствует значительный разброс данных (см. таблицу), полученных при морфологическом анализе семенников.

Угнетение сперматогенеза при действии ионизирующей радиации меньшей активности ($1 \cdot 10^{-10}$ и $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л), когда в первом поколении наблюдалось угнетение сперматогенеза, может свидетельствовать о кумуляции эффекта поражения гонад у потомства облученных родителей. Самцы, выращенные в среде с более высоким содержанием радиостронция ($1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л), были жизнеспособны при значительной потере половой функции, в то время как первое поколение оказалось нежизнеспособным.

Выводы

1. Под влиянием хронического инкорпорированного облучения Sr^{90} — Y^{90} активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л в половых железах самцов происходят патоморфологические изменения: нарушается структура, гибнет герминтативный эпителий, что приводит к нарушению половой функции и стерилизации самцов.

2. Глубина поражения зависит от активности раствора радиостронция, обуславливающей величину дозовой нагрузки на гонады телятин.

3. Облучение Sr^{90} — Y^{90} активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л можно считать пороговой концентрацией для самцов *Tilapia mossambica* Peters.

4. Значение индивидуальных особенностей реакции телятин на лучевое воздействие при инкорпорированном облучении достаточно велико, особенно при меньших дозах.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Брюс О. и Захер Л. Анализ лучевого поражения и смертность у млекопитающих.— В кн.: Радиобиология. Основные черты действия излучения на живые организмы. М., Изд-во иностранной литературы, 1955, с. 3—451.
- Бычковская И. Б. Динамика пострадиационной гибели биологических объектов. М., Атомиздат, 1970, с. 3—121.
- Дорошев С. И. О влиянии ионов натрия и кальция на спермии пресноводных рыб. ДАН СССР, 1967, т. 172, № 5, с. 1238—1240.
- Кащенко Л. А. и Пушницына А. Д. К вопросу о влиянии гормонов на облученные органы. ДАН СССР, 1953, т. 88, № 3, с. 375—377.
- Кащенко Л. А. Лучевая реакция передней доли гипофиза у лягушки.— «Радиобиология», 1963, т. 3, вып. I, с. 76—81.
- Кащенко Л. А. Лучевая реакция системы аденогипофиз—гонады у пойкилотермных животных.— «Труды ПИПРО», 1971, т. 29, с. 135—159.
- Кошурникова Н. А. Гистопатология половых желез кроликов при действии инкорпорированного плутония.— В кн.: Биологическое действие радиации и вопросы распределения радиоактивных изотопов. М., 1961, с. 53—76.
- Кузин А. М. Радиотоксины, их возможная природа и роль в развитии радиационного поражения.— В кн.: Радиотоксины. Их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии. М., Атомиздат, 1966, с. 5—18.
- Ковалев И. Ф. Функциональные механизмы развития радиобиологических эффектов. М., Атомиздат, 1969, с. 3—308.
- Пинус А. А., Русских В. В., Гудин В. Н. Морфологические изменения у животных при действии различных доз внутреннего облучения.— В кн.: Реакция организма на действие малых доз ионизирующей радиации. Под ред. М. Г. Дурмишьяна. М., Медгиз, 1962, с. 43—59.
- Трусова А. Е. Нарушение воспроизводительной способности самцов.— В кн.: Влияние радиоактивных веществ на половую функцию и потомство. Под ред. Закутицкого. М., Медгиз, 1963, с. 5—33.

SUMMARY

Some specimens of tilapia were kept in solutions with concentrations of 10^{-10} , 10^{-8} and 10^{-6} curie/l for 500 days from the beginning of their embryonal development to investigate the effect of incorporated radiation on the milt of males and their first offspring. It was found that certain pathomorphologic and functional changes did occur and the degree of the changes was related to doses of incorporated radiation exposed to males. The histologic analysis revealed distinctly marked changes. The data obtained support the finding of other research workers that milt is very sensitive to ionizing radiation.