

УДК 613.644

## К МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ ВИБРАЦИИ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ

*Баличиева Д.В.*

В экспериментах на животных раскрыты некоторые механизмы действия общей вибрации на сперматогенез

*Ключевые слова:* вибрация, сперматогенез, мутация.

### ВВЕДЕНИЕ

Широкое распространение вибрационного фактора, имеющаяся тенденция к увеличению контингента работающих, подвергающихся воздействию вибрации рабочих мест и комплекса факторов производственной среды, значительный потенциальный ущерб от его неблагоприятного действия на организм и, в особенности на репродуктивную систему, обуславливает большую социальную значимость проблемы охраны материнства и детства, что и послужило основанием для настоящих исследований. Данные о влиянии вибрации на репродуктивную систему, в частности мужскую половую сферу, весьма ограничены. Рядом исследователей у лиц виброопасных профессий было установлено нарушение деятельности половых желез, приведшее к импотенции у мужчин [1]. Эти исследования позднее нашли некоторое подтверждение и в экспериментальных работах: у белых крыс отмечено угнетение половой функции в условиях кратковременного воздействия вибрации и выраженное угнетение после длительной общей вибрации. В этом плане представляют интерес сексологические исследования у 306 человек, в процессе работы контактирующих с локальной вибрацией и сопутствующими неблагоприятными факторами производства (обрубщики, слесари механосборочных работ, наждачники, слесари инструментальщики). На основании клинико-физиологических, психологических и социально-психологических (морфограмма), а также клинико-лабораторных методов установлено, что половая активность у лиц виброопасных профессий снижалась с возрастом и претерпевала определенные колебания в зависимости от стажа работы: снижалась ниже нормальных величин у лиц со стажем менее 1 года и более 10 лет. Вместе с тем авторы [2] считают, что частота половых расстройств у рабочих, но еще не страдающих вибрационной болезнью, не отличается от таковой у лиц, не подвергавшихся воздействию указанных производственных факторов. Обзор литературы по изучению влияния вибрации на специфические функции мужского организма свидетельствует о противоречивости и скудности данных о влиянии вибрации на мужскую половую сферу.

Целью данного исследования является выявление некоторых механизмов действия общей вибрации на воспроизводительную функцию, в частности на сперматогенез.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено 12 серий опытов на 480 белых крысах. В эксперименте были использованы половозрелые крысы популяции Вистар, весом 250-300г. и самки 220-250г. Животные были разделены на 2 группы: 1 группа – животные, подвергавшиеся воздействию вибрации; 2 группа – контрольная группа животных, которые находились в одинаковых условиях ухода, питания и внешней среды с животными «основных» групп, но не подвергавшихся воздействию вибрации.

Животные подвергались воздействию общей вертикальной синусоидальной вибрации частотой 20Гц с виброскоростью 126 дБ, создаваемой установкой «Стенд-4» и «СТ-300», по 6 часов ежедневно в течение 5 дней. Самцы, подвергнутые воздействию вибрации, подсаживались в соотношении 1:2 в различные сроки после прекращения вибровоздействия на 1-4-8-16-30-45-60-120-180-270 и 365 день на фоне контрольных исследований.

Дозу вибрации (ДВ) рассчитывали по формуле, разработанной Баличиевой Д. В. и Денисовым Э. И. [3]

При анализе данных использованы уровни суммарной дозы вибрации, как отражающей накопленную дозу вибрационного воздействия. При этом эти показатели по своему физическому смыслу аналогичны экспозиции широко внедряемой в международных стандартах ИСО для шума и вибрации.

Изучали действие вибрации на самцов в зависимости от воздействия вибрации в разные периоды сперматогенеза, на развитие потомства у родителей, подвергавшихся вибрационному воздействию до момента их спаривания. Изучение воспроизводительной функции самцов включали в себя: цитоморфологическое исследование семенников, определение доминантных летальных мутаций по показателям гибели эмбрионов.

Цитологическое изучение сперматогенеза проводили путем фиксации образцов семенников в жидкости Карнуа и 2,5% глутаральдегида на 0,1 м фосфатном буфере (при 4°C в течение 45 минут) с постфиксацией 1% раствором четырех окиси осмия. После обезжиривания, заливки для морфологических исследований срезы окрашивали гематоксилин-эозином и подвергали микроскопированию. Интенсивность сперматогенеза оценивали по частоте встречаемости отдельных стадий развития половых клеток (сперматогоний, сперматоцитов, сперматид и сперматозоидов, а также клеток Сертоли). При анализе была использована классификация, предложенная Клермонтом и Леблоном [4].

Для изучения изменений зародышевых клеток при воздействии вибрации применена также электронная микроскопия. Срезы контрастированные по Рейнольдусу просматривали в электронном микроскопе Nytaci H-600 (Япония) при ускоряющем напряжении 100 кв.

В эксперименте исследована индукция доминантных летальных мутаций (ДЛМ) в зародышевых клетках самцов крыс, так как частота ДЛМ может служить хорошим

критерием для определения тех изменений, которые обычно трудно установить обычными методами. Самцов, после вибрационного воздействия, скрещивали каждую неделю с новыми интактными самками. Отсаженных самок вскрывали на 17-20 день беременности. При вскрытии подсчитывали количество живых эмбрионов (А) и резорбций (Б), а также число желтых тел в яичниках (В). Для оценки индуцированных ДЛМ вычисляли следующие показатели по формулам:

– смертность до имплантации:  $\frac{B - (A + B)}{B} \cdot 100$ ,

– смертность после имплантации:  $\frac{B}{A + B} \cdot 100$ ,

– выживаемость  $\frac{A}{B} \cdot 100$ ;

– стандартная ошибка процента:  $m = \frac{P \cdot (100 - P)}{n - 1}$ ,

где n – число случаев, а P – показатель выраженный в процентах.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что сперматогенез представляет собой длительную серию цитологических преобразований, приводящих к формированию из относительно мало дифференцированных сперматогоний высоко специализированных клеток сперматозоидов, все органеллы которого видоизменены таким образом, чтобы обеспечить оплодотворение яйцеклетки.

Процесс сперматогенеза представляется в 3 этапа:

1 – *сперматоцитогенез*, когда происходит размножение сперматогоний и каждая последующая генерация клеток оказывается более дифференцированной, чем предыдущая;

2 – *мейоз*, составляющее центральное событие в сперматогенезе, приводящее к сокращению числа хромосом вдвое и образованию из сперматоцитов сперматид;

3 – *сперматогенез*, во время которого гаплоидные клетки – сперматиды в результате сложных цитологических трансформаций превращаются в сперматозоиды.

Нами в эксперименте изучены 5 циклов сперматогенеза (схема) при воздействии вибрации с УСДВ – 141 дБ.

Сроки наблюдений и этапы сперматогенеза отражены в представленной схеме (табл. 1).

Таблица 1.

Схема эксперимента для изучения возможного механизма влияния общей вибрации на репродуктивную функцию крыс-самцов

3-й цикл	2-й цикл	1-й цикл-
-	+	+
1-й этап	2-й этап	3-й этап
<b>СПЕРМАТОЦИТОГЕНЕЗ-</b> стадия размножения сперматогоний	<b>МЕЙОЗ</b> -стадия образования из сперматоцитов сперматид	<b>СПЕРМИОГЕНЕЗ-</b> стадия образования из сперматид сперматозоидов
Сроки наблюдений 90 и 180 дней	Сроки наблюдений 30, 45, 60 и 120 дней	Сроки наблюдений 1, 4, 8 и 16 дней
	<b>4-й цикл</b> – сроки наблюдения 270 дней	<b>5-й цикл</b> – сроки наблюдения 365 дней

Примечание: (+)-действие, (-)-отсутствие действия.

Морфологические исследования семенников крыс, подвергнутых вибрации виброскоростью 126 дБ, с УСДВ – 134 дБ и УСДВ – 141 дБ показали наличие некоторых изменений на 8-9-й стадиях сперматогенеза. Отмечается разрежение сперматогенного эпителия за счет дегенерации клеток Сертоли, дегенерация сперматоцитов и задержка развития сперматид. Кроме того, отмечена задержка сперматогенеза на стадиях 9-13, что способствовало увеличению доли сперматогоний типа А, а известно, что объем сперматогоний типа А в два раза меньше, чем сперматогоний типа Б и межтучного.

Нами было обнаружено, что при действии вибрации на 6 сутки, в некоторых канальцах наблюдалось разрушение синаптонемального комплекса (СК - субмикроскопическая структура, входящая в состав бивалентных хромосом) в зиготенных сперматоцитах. Известно, что образование СК в зиготене зависит от синтеза небольшого количества ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), которая как предполагают, участвует в репарации во время кроссинговера. Следовательно, нарушение распределения ДНК ведет к нарушению репарации премутационных повреждений, произошедших в момент кроссинговера. Это может привести к образованию доминантных летальных мутаций [3, 7]

В спермиогенезе в ходе сложной дифференцировки половых клеток, происходит образование сперматозоида из сперматиды. Из гранул пластинчатого комплекса формируется акросома, которая представляет собой ограниченную мембраной органеллу, тесно прилегающую к передней части сперматозоида.

Проведенные нами цитологические исследования показали, что при воздействии вибрации сперматиды 1-6 этапов сперматогенеза оказались задержанными в своем развитии и присутствовали среди клеточных ассоциаций, развитых нормально. Задержка развития сперматид этих этапов произошло, по-видимому, в результате нарушения акросом пластинчатого комплекса. Отмечено

появление многоядерных сперматид (рис.1, 2), что также свидетельствуют о задержке сперматообразования.

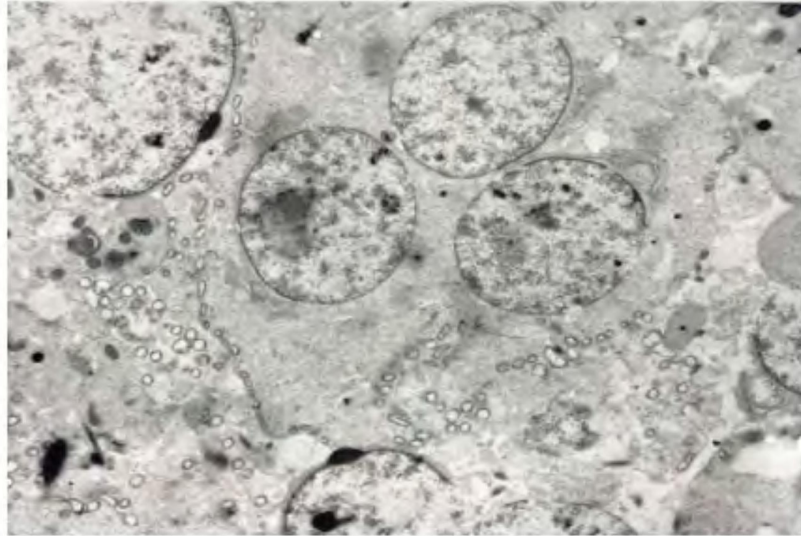


Рис. 1. Сперматид. Воздействие общей вибрации. Асинхронизация спермиогенеза. Многоядерная сперматид. Ув.9000 х.

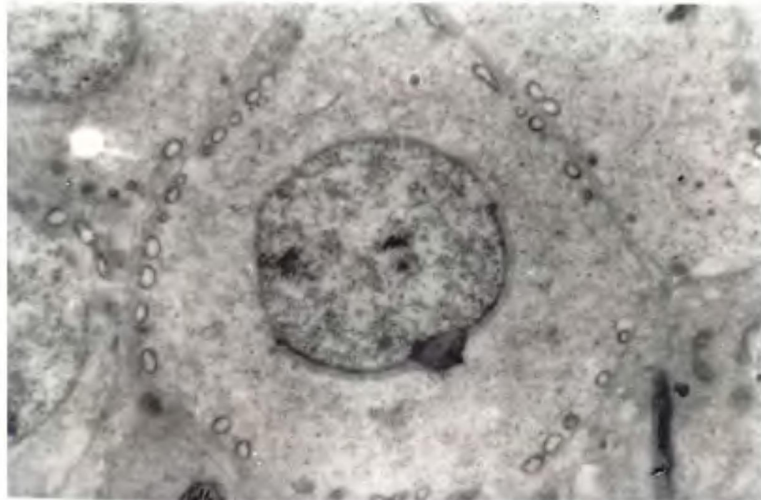


Рис 2. Сперматид 7-го этапа спермиогенеза. Контроль. Ув.9000х.

## К МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ ВИБРАЦИИ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ

По современным данным, в нормальных физиологических условиях многоядерные клетки могут возникнуть в результате неполного деления сперматогенных элементов, а именно сперматогоний в последнем сперматогональном делении.

Установленные нами, на основании цитоморфологических и электронномикроскопических исследований, изменения метаболизма ядер и тонкого строения СК, нарушение репарации, задержка дифференцировки сперматид, появление многоядерных сперматид свидетельствуют об отсутствии генетической защиты дифференцирующихся половых клеток и способствовали образованию атипичных сперматозоидов, а число их в семенниках определяет степень бесплодия самцов.

Однако, указанные аномалии развития не вызывают немедленной гибели развивающихся мужских половых клеток, но приводит к появлению атипичных сперматозоидов, не принимающих участие в оплодотворении. Это приводит к резкому снижению плодовитости самцов подвергнувшихся воздействию вибрации, которые мы наблюдали на 30 день наблюдений (рис. 3).

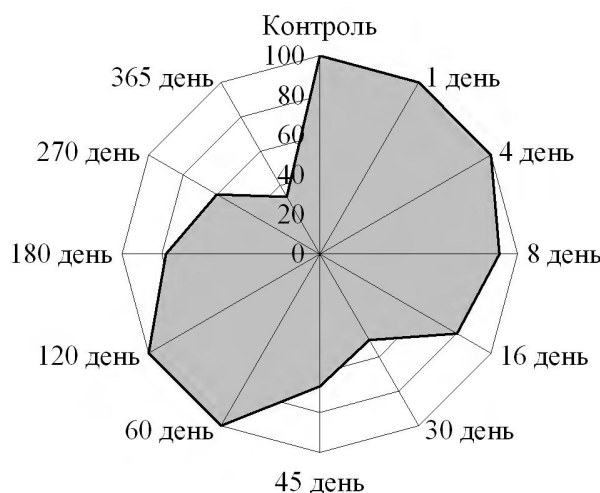


Рис. 3. Эффективность скрещивания самцов при вибрационном воздействии.

Совокупность всех вышеизложенных изменений, по мнению ряда авторов (2), необходимо рассматривать в качестве специального механизма который направлен на недопущение к участию в оплодотворении сперматозоидов, геном которых мог пострадать при действии повреждающего фактора. Однако некоторое количество оставшихся жизнеспособными зародышевых клеток могут участвовать в кариогамии и такое развитие заканчивается уродствами и гибелью зародышей, т.е. приводит к образованию доминантных летальных мутаций. Доказательством этому является обнаруженные нами при исследовании индукции ДЛМ. В нашем эксперименте (табл. 2,

рис.3) увеличение смертности до имплантации наблюдались у интактных самок, посаженных на 30 день к самцам, подвергнутых вибрации (четвертая неделя соответствует действию вибрации на сперматоциты). При этом отмечается самая низкая оплодотворяющая способность самцов – 50%, затем на 365 день – 33,3%.

**Таблица 2.**  
**Индукция доминантных летальных мутаций в репродуктивных клетках крыс-самцов при воздействии общей вибрации**

Сроки посадки к самкам после вибрации	Оплодотворение, %	Доимплантационная летальность, %	Постимплантационная летальность, %	Выживаемость, %	Частота индуцированных летальных мутаций	
					Общая летальность, %	Постимплантационная гибель, %
Контроль	100,0	4,1+1,2-	8,7+1,8	87,5	55,2	4,4
1 день	100,0	55,1+3,8 <sup>x</sup>	12,7+3,8	39,2 <sup>x</sup>	55,2	4,4
4 день	100,0	51,1+3,2 <sup>x</sup>	17,3+4,1 <sup>x</sup>	35,6 <sup>x</sup>	68,5	9,4
8 день	90,9	49,3+3,4 <sup>x</sup>	12,0+3,8 <sup>x</sup>	47,7	54,5	3,7
16 день	80,0	30,0+2,6 <sup>x</sup>	11,5+2,9	61,8	29,2	3,1
30 день	50,0 <sup>x</sup>	14,3+3,9 <sup>x</sup>	10,0+3,6	77,8	14,6	4,4
45 день	66,7 <sup>x</sup>	11,9+3,4 <sup>x</sup>	14,8+3,6	75,0	17,3	9,5
60 день	100,0	7,2+1,2	3,9+1,7	89,2		
120 день	100,0	10,0+2,2	4,7+1,5	85,3		
180 день	77,8	11,9+3,4 <sup>x</sup>	19,8+3,4 <sup>x</sup>	71,7	18,7	17,2
270 день	60,0 <sup>x</sup>	14,0+4,6 <sup>x</sup>	44,9+7,2 <sup>x</sup>	36,2 <sup>x</sup>	54,5	36,8
365 день	33,3 <sup>x</sup>	21,5+5,8 <sup>x</sup>	62,5+7,6 <sup>x</sup>	29,4 <sup>x</sup>	63,3	56,1

Примечание: x) достоверно при сравнении с контролем

Атипичное поведение всей клетки в целом, в том числе хромосом, образование нестандартных сперматозоидов и доминантных летальных мутаций является неспецифической реакцией сперматогенных клеток в ответ на действие вибрации. Обнаруженное нами увеличение количества ДЛМ в постмейотических половых клетках свидетельствует о том, что под влиянием вибрации происходят нарушения в гематотестикулярном барьере, что подтверждено электронно-микроскопическим исследованием.

В возможном механизме влияния общей вибрации на сперматогенез главенствующую роль, несомненно, играет и нарушение эндокринной регуляции, в частности функции гипоталамус – гипофиз, отмечаемого рядом авторов (5) при воздействии вибрации. Такое состояние может привести к нарушению секреции тестостерона в клетках Лейдига, который так необходим как для начальных стадий сперматогенеза, так и для поддержания его цикличности.

### ВЫВОДЫ

1. Воздействие вибрации вызывает нарушение генома зародышевых клеток, находящихся на различных стадиях дифференцировки (сперматогонии, сперматоциты, сперматиды), вызывая в них доминантные летальные мутации, что нашло подтверждение в высокой гибели эмбрионов до имплантации у интактных самок.
2. Задержка дифференцировки сперматид, появление многоядерных клеток и как следствие атипичных сперматозоидов свидетельствует об отсутствии генетической защиты дифференцирующихся половых клеток за счет нарушений в гематотестикулярном барьере при воздействии вибрации.
3. Наиболее выраженные цитологические отклонения при воздействии вибрации обнаружены в митохондриях, хроматоидном тельце, акросоме и пластинчатом комплексе, что привело к асинхронизации дифференцировки клеток сперматогенного эпителия – задержка в развитии средних сперматид 9-13 этапа спермиогенеза.

### Список литературы

1. Баличиева Д. В., Денисов Э. И. Сравнительная биологическая оценка вибрационно-шумового воздействия в зависимости от дозы вибрации в эксперименте // Медицинский журнал Узбекистана. 1979. – №12. – С. 50-53.
2. Баличиева Д.В. К эмбриотропному действию общей вибрации // Ученые записки Крымского государственного инженерно-педагогического университета. – 2004. – Вып. 5. – С. 64-67.
3. Говалло В.И. Иммунология репродукции. – М.: Медицина. – 1987. – 300 с.
4. Дрогичина Э.И., Метлина Н.В. К клинике вибрационной болезни вызванной воздействием общей вибрации. // Гигиена труда и профзаболевания. – 1962. – №7. – С.19-22.
5. Киселева В.И., Гуляниц Э.С. Гипоталамическая нейросекреция и состояние надпочечников при вибрации у собак // Гигиена труда и профзаболевания. – 1970. – №2. – С.14-17.
6. Кочарян Г.С., Абрамович-Поляков Д.К., Васильченко Г.С. Сексологические исследования у лиц, подвергавшихся воздействию локальной вибрации // Актуальные вопросы профилактики неблагоприятного воздействия шума и вибрации. – М., 1981. – С. 80
7. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. – М.: Наука, 1985. – 206 с.
8. Clermont Y., Leblond C.P., Messier D. Duree du cycle de l'epithelium seminal du rat // Arch. Anat. Microsc. Morph. exp. – 1959. – V.48. – P.37-56.

*Баличиева Д.В. До механізму дії вібрації на сперматогенез // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 4. – С. 10-17.*

*У експериментах на тваринах розкриті деякі механізми дії загальної вібрації на сперматогенез.*

*Ключові слова:* вібрація, сперматогенез, мутація.

*Balichieva D.V. To the mechanism of of vibration on spermatogenez // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 4. – P. 10-17.*

*In the experiments on animals some mechanisms of influence of general vibration on spermatogenez are exposed.*

*Keywords:* vibration, spermatogenez, mutation.

*Поступила в редакцію 20.11.2007 г.*