

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КЛЕТОК СЕРТОЛИ ПРИ ПЕРВИЧНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ И ЛЕЧЕБНОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНЫХ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ В УСЛОВИЯХ РАДИАЦИИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

УДК 616-018

Королев Ю. Н., Никулина Л. А., Михайлик Л. В.

Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии Минздрава России, Москва, Россия

CHARACTERISTICS OF SERTOLI CELLS REGENERATION IN PRIMARY PREVENTIVE AND THERAPEUTIC ACTION OF LOW-INTENSITY ELECTROMAGNETIC FIELD IN RADIATION CONDITIONS (EXPERIMENTAL STUDY)

Korolev Y. N., Nikulina L. A., Mikhailik L. V.

National medical research center for rehabilitation and balneology of the Ministry of health of Russia, Moscow, Russia

Введение

Радиация вызывает в клетках и тканях семенников и других органах различные морфофункциональные изменения, связанные, в частности, с нарушением процессов клеточной и внутриклеточной регенерации [1,2]. Для профилактики и лечения этих нарушений целесообразно использовать немедикаментозные лечебные факторы, в том числе низкоинтенсивные электромагнитные излучения (ЭМИ) сверхвысокой частоты (СВЧ) и магнитные поля (МП) низкой частоты (НЧ), которые обладают регенеративным, антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием [3–6]. В этой связи представляется важным выяснить в какой мере эти факторы, используемые в режиме профилактики и лечения, будут различаться по своему действию на механизмы регенерации в клетках Сертоли, выполняющих важнейшие функции по обеспечению процессов сперматогенеза [7]. Применение метода трансмиссионной электронной микроскопии позволит оценить характер изменений внутриклеточной регенерации этих клеток по состоянию их важнейших органелл – митохондрий и белоксинтезирующих структур.

Цель исследования.

Выявить особенности первично-профилактического и лечебного действия ЭМИ СВЧ и МП НЧ на развитие процессов регенерации в клетках Сертоли при радиации.

Материалы и методы исследования

Эксперименты были проведены на 40 белых крысах-самцах массой 180–200 г. Животные содержались в обычных условиях вивария и свободного доступа к воде и пище. Исследования осуществляли в соответствии с правилами работ с использованием экспериментальных животных (приказ Минздрава СССР от 12.08.77 г. № 755) и требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (Страсбург, 1986). Все крысы были разделены на следующие группы: 1-я группа (опытная) – предварительное применение ЭМИ СВЧ с последующим воздействием радиации; 2-я группа (опытная) – предварительное применение МП НЧ с последующим воздействием радиации; 3-я группа (контроль к 1-ой и 2-ой группам) – применение ложных процедур (без включения аппарата) и воздействие радиации; 4-я группа (опытная) – воздействие радиации с последующим применением ЭМИ СВЧ; 5-я группа (опытная) – воздействие радиации с последующим применением МП НЧ; 6-я группа – (контроль к 4-ой и 5-ой группам) – воздействие радиации и ложных процедур; кроме того, отдельные 2 группы составляли интактные животные, которые никаким воздействиям не подвергались. Воздействие низкоинтенсивным ЭМИ СВЧ (курс 10 процедур) проводили на поясничную область в зоне проекции надпочечников с помощью аппарата Акватон-2 (плотность потока

мощности 1 мкВт/см, частота около 1000 МГц, время воздействия 2 минуты). Воздействие низкоинтенсивным МП НЧ также осуществляли на зону проекции надпочечников с помощью аппарата МУМ-50 ЭДМА (постоянное и переменное МП 50 Гц с магнитной индукцией 35 мТл, время воздействия 2 минуты). Животных опытных и контрольных групп облучали с помощью аппарата АГАТ-Р (ФГБУ «Российский онкологический центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России) гамма-лучами⁶⁰ Со в дозе 2 Гр. После профилактических воздействий ЭМИ СВЧ и МП НЧ забой животных проводили на следующий день после радиации; лечебные воздействия ЭМИ СВЧ и МП НЧ начинали проводить через 21 день после радиации. Забой животных осуществляли методом декапитации на следующий день после окончания процедур. Для электронно-микроскопических исследований семенники фиксировали в 4% параформальдегиде, приготовленном на фосфатном буфере (рН 7,4), постфиксировали в 1% OsO₄. После обезвоживания образцы заключали в смесь эпон-аралдит. Исследование образцов проводили на электронном микроскопе Libra 120 (Германия) с программой Carl Zeiss STM Nano Technology system Division, которая включает в себя математическую обработку внутриклеточных структур. На ультраструктурном уровне проводили морфометрический анализ митохондрий в клетках Сертоли (количество, средняя и суммарная площади), а также подсчитывали число клеток Сертоли с различным уровнем содержания белоксинтезирующих органелл – гранулярной эндоплазматической сети, рибосом и полисом. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием парного t-критерия Стьюдента, различия между выборками считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

После радиационного облучения у животных контрольных групп обнаруживались нарушения процессов микроциркуляции в гемотестикулярном барьере и явления деструкции сперматогенного эпителия. При этом в клетках Сертоли выявлялись локальные просветления и явления отечности цитоплазмы, фрагментация и расширение профилей гранулярной эндоплазматической сети, снижение содержания рибосом и полисом. Митохондрии становились более мелкими по своим размерам, в некоторых из них выявлялись просветления ма-

трикса или очаговый лизис крист. Морфометрический анализ показал, что количество митохондрий достоверно не изменялось, но их средняя площадь уменьшалась в пределах 25,0–33,3% ($p < 0,01$), что приводило к снижению суммарной площади митохондрий на 20,7–40,3% ($p < 0,01$) (таблица 1). Эти данные свидетельствовали о нарушении процессов внутриклеточной регенерации и об ослаблении биоэнергетического и пластического обеспечения клеток Сертоли после действия радиации.

В условиях первичной профилактики применение ЭМИ СВЧ и МП НЧ снижало выраженность ультраструктурных нарушений и усиливало процессы внутриклеточной регенерации. При этом наблюдались характерные особенности в развитии внутриклеточной регенерации, которые проявлялись в зависимости от действующего фактора и исходного состояния организма, что особенно наглядно обнаруживалось в изменениях митохондриального компартмента. При применении МП НЧ наиболее выраженный сдвиг проявлялся в виде увеличения количества митохондрий (на 38,4%, $p < 0,01$) (таблица 1), которое в сочетании с повышением средней площади приводило к увеличению суммарной площади митохондрий. Для действия ЭМИ СВЧ, наоборот, характерным являлось снижение числа митохондрий (на 32,3%, $p < 0,01$, что происходило, видимо, в результате их слияния), а также выраженное увеличение средней площади митохондрий более чем в 1,5 раза ($p < 0,01$), которое сочеталось с явлениями гиперплазии крист. Такие крупные митохондрии становились более мощными в структурном и функциональном отношении и повышали устойчивость клеточных структур к действию радиации. В связи с указанными изменениями значительно возрастала суммарная площадь (масса) митохондрий, при этом она превышала данные контроля, эффекты действия МП НЧ и уровень интактных животных. Из полученных данных следует, что при профилактическом действии МП НЧ регенерация митохондрий осуществлялась преимущественно на органоидном уровне (увеличение числа митохондрий), тогда как при применении ЭМИ СВЧ – на внутриорганонидном (увеличение средней площади, числа крист и других внутримитохондриальных структур). Следует также отметить, что на фоне усиления биоэнергетики выявлялись также признаки активации пластического обеспечения, что проявлялось в увеличении численности клеток с повышенным содержанием рибосом и по-

Таблица 1. Морфометрическая характеристика митохондрий клеток Сертоли при первично-профилактическом и лечебном действии ЭМИ СВЧ и МП НЧ в условиях радиационного облучения

Группы животных	Количество митохондрий (п) на стандартную площадь клетки	Средняя площадь митохондрий (мкм ²)	Суммарная площадь митохондрий (мкм ²)
Первично-профилактическое действие			
Интактная	7,37±0,56	0,33±0,012	2,48±0,19
Контроль	6,62±0,34	0,22±0,011 ⁺	1,48±0,09 ⁺
МП НЧ	9,16±0,59*	0,27±0,012*	2,13±0,13*
ЭМИ СВЧ	4,48±0,26* ^о	0,57±0,020* ^о	2,54±0,14*
Лечебное действие			
Интактная	6,09±0,32	0,40±0,03	2,42±0,12
Контроль	6,38±0,41	0,30±0,02 ⁺	1,92±0,12 ⁺
МП НЧ	10,06±0,52*	0,24±0,01	2,46±0,10*
ЭМИ СВЧ	8,57±0,62*	0,36±0,03* ^о	3,13±0,16* ^о

Примечание: ⁺ $p < 0,01$ по сравнению с интактной группой, * $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, ^о $p < 0,01$ сравнение между опытными группами

лисом (табл. 1).

При лечебном применении ЭМИ СВЧ и МП НЧ на фоне ослабления явлений деструкции выявлялась та же общая закономерность в развитии регенеративных сдвигов, что и при первично-профилактическом использовании этих факторов, а различия обнаруживались в основном в степени их выраженности. Особенностью действия МП НЧ являлось еще более выраженное увеличение численности митохондрий (на 57,7%, $p < 0,01$), которые становились самыми мелкими по своим размерам среди всех групп животных (таблица). В отличие от МП НЧ при действии ЭМИ СВЧ вновь усиливался тот же механизм внутримитохондриальной гиперплазии крист, приводящий к увеличению численности крист и средней площади митохондрий (на 20,0%, $p < 0,01$). Однако в условиях дезадаптации и нарушенной регенерации, число митохондрий не снижалось как при первичной профилактике, а, наоборот, повышалось (на 34,3%, $p < 0,01$). Эти сдвиги приводили к наиболее выраженному увеличению суммарной площади митохондрий (таблица), которое было обусловлено стимуляцией обеих форм регенерации (органоидной и внутриорганоидной). Кроме того, при действии этого фактора во многих клетках чаще наблюдались явления гиперплазии белоксинтезирующих органелл: число клеток с высоким содержанием гранулярной эндоплазматической сети составляло 21,4%, в контроле – 2,3%, у интактных животных – 11,8%; число клеток с высоким содержанием рибосом и полисом составляло 20,9%, в контроле 4,5%, у интактных животных – 14,7%. В отдельных клетках гранулярная эндоплазматическая сеть имела удлинённые профили, что является характерным признаком их новообразования.

Заключение

Таким образом, полученные экспериментальные

данные свидетельствуют о том, что низкоинтенсивные ЭМИ СВЧ и МП НЧ, используемые как в режиме первичной профилактики, так и лечебного действия, оказывают активизирующее действие на процессы внутриклеточной регенерации в клетках Сертоли в условиях радиации. Наибольшая их выраженность отмечалась при действии ЭМИ СВЧ, что отчетливо проявлялось в развитии адаптационных перестроек митохондрий и увеличении содержания белоксинтезирующих органелл. Выявленные внутриклеточные регенеративные эффекты осуществлялись, видимо, в первую очередь, через механизмы общей нейро-эндокринной регуляции, в том числе через стероидные гормоны надпочечников, которые непосредственно подвергались действию исследованных факторов. Кроме того, усиление интенсивности внутриклеточной регенерации могло быть также следствием конформационных перестроек биомембран клеток, что способствовало развитию антиоксидантной и мембраностабилизирующей их активности [8]. Можно полагать, что формирование и укрепление этих общих и местных регуляторных механизмов в большей мере происходило при действии низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ, что проявлялось выраженным развитием регенераторно-гиперпластических реакций в клетках Сертоли и повышением адаптивных возможностей организма.

Вывод

Результаты проведенного электронно-микроскопического исследования свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов действия указанных факторов, особенно низкоинтенсивного ЭМИ СВЧ, как при первичной профилактике, так и при лечебном применении в условиях радиации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Королев Ю.Н., Гениатулина М.С., Никулина Л.А., Михайлик Л.В. Внутриклеточная регенерация адренкортикоцитов при профилактическом применении низкоинтенсивных электромагнитных излучений в условиях радиации (экспериментальное исследование)//Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2019 – № 1 – стр. 43–49.
2. Королев Ю.Н., Михайлик Л.В., Никулина Л.А., Гениатулина Л.А. Особенности развития метаболических и регенеративных процессов при действии низкоинтенсивных электромагнитных излучений в условиях радиационного облучения (экспериментальное исследование)//Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2017 – № 4 – стр. 54–58.
3. Королев Ю.Н., Михайлик Л.В., Никулина Л.А. Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на структурно-метаболические процессы у здоровых крыс//Вестник восстановительной медицины. – 2019 – № 6 – стр. 60–62.
4. Бобровницкий И.П., Нагорнев М.Ю., Яковлев М.Ю., Шашлов С.В. Автоматизированный мониторинг функциональных резервов организма и коррекция биологического возраста в обеспечении здорового активного долголетия человека//Вестник восстановительной медицины. – 2016 – № 1 – стр. 65–68.
5. Гениатулина М.С., Королев Ю.Н., Никулина Л.А. Ультраструктура клеток Лейдига при действии минеральной воды и низкоинтенсивного электромагнитного излучения в условиях стресса у крыс//Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2016 – № 5 – стр. 34–37.
6. Королев Ю.Н., Бобровницкий И.П., Гениатулина М.С., Никулина Л.А., Михайлик Л.В. Ультраструктура клеток Сертоли и сперматогониев при лечебно-профилактическом применении низкоинтенсивных электромагнитных излучений в условиях радиационного облучения крыс//Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2018 – № 1 (95) – стр. 35–40.
7. Йена С.С.К., Джаффе Р.Б. Репродуктивная эндокринология.//Пер с англ. Москва, – 1998 – Т. 1 – стр. 701.
8. Зубкова С.М. Сравнительный анализ биологического действия микроволн и лазерного излучения//Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 1996 – № 6 (73) – стр. 31–34.

REFERENCES:

1. Korolev Y.N., Geniatulina M.S., Nikulina L.A., Mihajlik L.V. Vnutrikletochnaya regeneraciya adrenokortikocitov pri profilakticheskom primenenii nizkointensivnyh elektromagnitnyh izluchenij v usloviyah radiacii (eksperimental'noe issledovanie)//Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. – 2019 – № 1 – s. 43–49.
2. Korolev Y.N., Mihajlik L.V., Nikulina L.A., Geniatulina L.A. Osobennosti razvitiya metabolicheskikh i regenerativnyh processov pri dejstvii nizkointensivnyh elektromagnitnyh izluchenij v usloviyah radiacionnogo oblucheniya (eksperimental'noe issledovanie)//Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. – 2017 – № 4 – s. 54–58.
3. Korolev Y.N., Mihajlik L.V., Nikulina L.A. Vliyanie nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya na strukturno-metabolicheskie processy u zdorovyh krysov//Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2019 – № 6 – s. 60–62.

4. Bobrovnickij I.P., Nagornev M.YU., YAKovlev M.YU., SHashlov S.V. Avtomatizirovannyj monitoring funkcional'nyh rezervov organizma i korekciya biologicheskogo vozrasta v obespechenii zdorovogo aktivnogo dolgoletiya cheloveka//Vestnik vosstanovitel'noj mediciny. – 2016 – № 1 – s. 65–68.
5. Geniatulina M.S., Korolev YU.N., Nikulina L.A. Ul'trastruktura kletok Lejdiga pri dejstvii mineral'noj vody i nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya v usloviyah stressa u krys//Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. – 2016 – № 5 – s. 34–37.
6. Korolev YU.N., Bobrovnickij I.P., Geniatulina M.S., Nikulina L.A., Mihajlik L.V. Ul'trastruktura kletok Sertoli i spermatogoniev pri lechebno-profilakticheskom primenenii nizkointensivnyh elektromagnitnyh izluchenij v usloviyah radiacionnogo oblucheniya krys//Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. – 2018 – № 1 (95) – s. 35–40.
7. Jena S.S.K., Dzhaffe R.B. Reproductivnaya endokrinologiya.//Per s angl. Moskva, – 1998 – T. 1 – s. 701.
8. Zubkova S.M. Sravnitel'nyj analiz biologicheskogo dejstviya mikrovoln i lazernogo izlucheniya//Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. – 1996 – № 6 (73) – s. 31–34.

РЕЗЮМЕ

В экспериментах на нелинейных крысах-самцах с помощью трансмиссионного метода электронной микроскопии было установлено, что низкоинтенсивное электромагнитное поле (ЭМП) сверхвысокой частоты (СВЧ) и магнитное поле (МП) низкой частоты (НЧ), используемые в режимах профилактики и лечебного действия оказывают стимулирующее действие на процессы внутриклеточной регенерации в клетках Сертоли в условиях радиации. Наибольшая их выраженность отмечалась при действии ЭМИ СВЧ, что проявлялось в развитии адаптационных перестроек митохондрий и увеличении содержания белоксинтезирующих органелл.

Ключевые слова: внутриклеточная регенерация, низкоинтенсивные электромагнитные поля, клетки Сертоли, радиация, крысы.

ABSTRACT

In experiments on nonlinear male rats using transmission electron microscopy it was found that the low-intensity electromagnetic field (EMF) of ultrahigh frequency (microwave) and the magnetic field (MP) of low frequency (LF) used in prevention and treatment modes have a stimulating effect on the processes of intracellular regeneration in Sertoli cells under radiation conditions. Their greatest effect was observed under the action of EMR microwave, which was manifested in adaptive rearrangements development of mitochondria and protein-synthesizing organelles content increase.

Keywords: intracellular regeneration, low-intensity electromagnetic fields, Sertoli cells, radiation, rats.

Контакты:

Королев Юрий Николаевич. E-mail: korolev.Yur@yandex.ru

