

DOI: 10.26693/jmbs05.01.091

УДК 612.616.2-092.9:537.8:613.168

Шарапова О. М.

ФОРМОУТВОРЕННЯ СПЕРМАТОЗОЇДІВ В ПРОЦЕСІ ДІЇ ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ПОЛЯ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України»,
Дніпро, Україна

esharapova@ukr.net

У даному дослідженні представлені результати дослідження статевих клітин щурів-самців, які опромінювалися електромагнітним полем високої напруги низької частоти. Щури-самці піддавалися дії електромагнітного поля напругою 750 кВ частотою 50 Гц потужністю 10 кВ/м на електропідстанції «Дніпропетровська» м Дніпра. Клітини знаходилися на відстані 75 м від поверхні землі. Тварин виводили з експерименту на 14, 30, 45, 90, 120-ту добу після закінчення опромінення. З блоків виготовлялися гістологічні препарати, морфологічна оцінка результатів яких виконувалася на мікроскопі «LEICA CME». Під час підрахунку патологічних форм і проведення статистичної обробки відстежений процес утворення сперматозоїдів від сперматогоній до зрілих статевих клітин і підраховано відсоткове співвідношення нормальних і дегенеративних форм сперматозоїдів. Під впливом ЕМП високої напруги низької частоти в яєчках щурів у процесі сперматогенезу розвивалися патологічні процеси, які призвели до видозмін і дегенерації сперматозоїдів внаслідок порушення мітотичних і мейотичних поділів, що викликало порушення репродуктивної функції у експериментальних тварин. Видозмінення сперматозоїдів відбувалося у вигляді подвоєння головки, змін шийкової частини, роздвоєння хвоста. Патологічні форми з подвійними головками та роздвоєними джгутиками виникали внаслідок неконвергованого розходження центріолей на етапі мейотичних ділень. Доведено, якщо на початку експерименту кількість статевих клітин із дегенеративними змінами мала значення 20% у співвідношенні до нормальних форм, то зі збільшенням часу опромінення кількість патологічних клітин збільшилася від 20 до 83%, що підтверджено статистичними даними. Отримані результати свідчать про негативний вплив електромагнітного поля на морфологію статевих органів щурів-самців взагалі і на процес сперматогенезу зокрема.

Ключові слова: сперматогенез, сперматозоїд, електромагнітне поле, поліморфізм.

Зв'язок роботи з науковими роботами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР

«Морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх і внутрішніх чинників», № державної реєстрації 0117U003181.

Вступ. Вплив шкідливих факторів зовнішнього середовища на організм людини залишається актуальною проблемою сьогодення. Електромагнітне поле є одним із таких факторів. Шкідливий його вплив можуть відчувати на собі люди в побутових і виробничих умовах. Електромагнітне поле впливає на робітників підприємств гірничовидобувної, металургійної, хімічної галузей промисловості як на організм у цілому, так і на окремі його системи та органи [1, 2, 3]. Найбільш вразливими для людини є серцево-судинна, сечостатева система, органи почуття. Раніше виконані експериментальні дослідження [4] дозволили виявити ряд факторів, що свідчать про порушення репродуктивної функції у людей і експериментальних тварин. У тварин, що піддавалися дії електромагнітного поля (далі – ЕМП) виникали мутації, пригнічувався ембріогенез, знижувалася життєздатність потомства і так далі до повного припинення репродуктивної функції у статевозрілих тварин [5, 6].

Мета дослідження – визначення морфологічних змін, що виникають в сім'яних каналцях яєчок щурів, що піддалися дії електромагнітного поля високої напруги низької частоти, із визначенням кількості дегенеративних форм сперматозоїдів в яєчках щурів, підрахунком співвідношення патологічних сперматозоїдів і нормальних форм статевих клітин та визначенням можливих причин появи дегенеративних форм сперматозоїдів.

Матеріал та методи дослідження. Щури-самці у кількості 50 тварин піддавалися дії електромагнітного поля напругою 750 кВ частотою 50 Гц напруженістю ЕМП 10 кВ/м на електропідстанції «Дніпропетровська» м. Дніпра. Клітки з тваринами розташовували під лініями електропередач, які знаходилися на відстані 75 м від поверхні землі. Контрольну групу склали 10 щурів, що знаходились в підвальному приміщенні віварію, що має залізобетонні плити перекриття. Тварин виводили

з експерименту на 14, 30, 45, 90, 120-ту добу після закінчення експерименту. З блоків виготовляли гістологічні препарати. Під час виготовлення препаратів для забарвлення зрізів яєчок використовували метиленовий синій і тетраборнокислий натрій.

Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) згідно висновку етичної комісії ДЗ «ДМА МОЗ України» №6 від 04.09.2019р.

Морфологічна оцінка результатів виконувалася на мікроскопі «LEICA CME» при максимальному збільшенні $\times 400$. У дослідженні проводили підрахунок нормальних і патологічних форм сперматозоїдів, вимірювали великий діаметр звивистих каналців яєчок і проводили статистичне узагальнення показників. Дегенеративні зміни оцінювали на підставі підрахунку нормальних і атипічних клітин на стадії пізніх сперматид. Особлива увага приділялася оцінці поліморфізму статевих клітин, оскільки дегенерація сперматозоїдів безпосередньо пов'язана з їх поліморфізмом; останній є результатом аберацій клітинної диференціації. Процентне співвідношення атипічних і незмінних сперматозоїдів розраховувалося на 100 клітин. Отримані числові результати дослідження оброблені сучасними статистичними методами аналізу на персональному комп'ютері з використанням статистичного пакету ліцензійної програми STATISTICA for Windows v.6.1 (Statsoft Inc., США) (ліцензійний № AJAR909E415822FA). Порівняння середніх величин проводили за показниками критерію Фішера-Стьюдента [7].

Результати дослідження та їх обговорення.

Дослідження показало, що в сім'яних каналцях яєчок щурів контрольної групи проходив нормальний сперматогенний процес із різним ступенем диференціації статевих клітин в окремих ділянках каналців яєчок. На 14-ту добу опромінення щурів ЕМП у просвіті сім'яних каналців яєчок спостерігалися епітеліальні клітини на всіх стадіях сперматогенного циклу, а також поява диплоїдних форм сперматозоїдів із двома-трьома джгутиками. 80% статевих клітин утворилися шляхом нормального сперматогенезу і не мали морфологічних аномалій; 20% клітин мали роздвоєння центріолей у головках сперматозоїдів. Середнє значення великого діаметру звивистих сім'яних каналців яєчок дорівнювало $0,241 \pm 0,063$ мм ($p \leq 0,05$).

На 30-ту добу опромінення щурів ЕМП у просвіті сім'яних каналців простежувалася у великій кількості сім'яна рідина, в якій дегенеративних спе-

рматозоїдів нараховано 56%, нормальних сперматозоїдів відповідно – 44%. Із патологічних форм статевих клітин спостерігалися клітини з подвоєними центріолями та двома джгутиками. Великий діаметр звивистих сім'яних каналців яєчок досягав значення $0,245 \pm 0,062$ мм ($p \leq 0,05$).

На 45-ту добу опромінення ЕМП в сім'яній рідині яєчок щурів визначалися клітини сперматогенного епітелію на всіх стадіях розвитку. У цей термін експерименту кількість атипічних форм сперматозоїдів збільшилася до 64%, серед них превалювали клітини з двома джгутиками, нормально сформованих клітин зменшилося відповідно до 36%. Великий діаметр звивистих сім'яних каналців яєчок мав значення $0,231 \pm 0,037$ мм ($p \geq 0,05$).

На 90-ту добу експерименту продовжувала збільшуватися кількість патологічних форм сперматозоїдів. Їх процентний вміст склав 78% у співвідношенні до кількості остаточно сформованих статевих клітин (22%) при середньому значенні великого діаметра сім'яних каналців в $0,233 \pm 0,061$ мм ($p \leq 0,05$). Наші дані знайшли підтвердження з іншими авторами

Наприкінці експерименту в сім'яній рідині яєчок тварин, що опромінювалися протягом 120 діб, кількість статевих клітин з генетично несформованим набором хромосом продовжувала збільшуватися до 83% у порівнянні з нормально сформованими клітинами (27%) при середньому значенні великого діаметра сім'яних каналців в $0,232 \pm 0,081$ мм ($p \leq 0,05$) (рис., табл.). Наші показники знайшли підтвердження з даними інших авторів [9, 10].

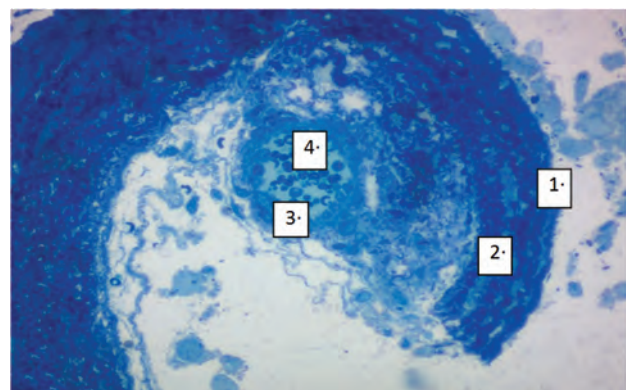


Рис. 1. Сім'яний каналець яєчка щура на поперековому розрізі на 120-ту добу після опромінення ЕМП. Забарвлення метиленовим синім. 36×100 . Поява дегенеративних форм сперматозоїдів. 1 – базальна мембрана сім'яного каналця; 2 – сперматогенні шари; 3 – дегенеративний сперматозоїд; 4 – сформований сперматозоїд

Виявлені морфологічні зміни свідчать про те, що під впливом ЕМП порушується взаємодія центріолей, які при нормальному діленні клітин відокремлюються одна від одної і діють синергічно

Таблиця – Динаміка змін патологічних форм сперматозоїдів щурів у процесі дії ЕМП

Доба спостереження, кількість тварин	Морфометричні показники (M±m)		
	Вміст дегенеративних сперматозоїдів, %	Вміст незмінних сперматозоїдів, %	Великий діаметр сім'яних канальців, мм
Контрольна група n = 10	18	82	0,225±2,310*
14-та доба n = 10	20	80	0,241±0,063*
30-та доба n = 10	56	44	0,245±0,062*
45-та доба n = 10	64	36	0,231±0,037
90-та доба n = 10	78	22	0,233±0,061*
120-та доба n = 10	83	17	0,232±0,081*

Примітка: * – символ означає порівняння у контрольній та експериментальній групах, при $p \leq 0,05$.

під час утворення джгутиків сперматозоїдів. У випадках атипичного розвитку відбувається подвоєння проксимального відділу джгутиків; формується два і більше джгутиків. Поряд з патологічними змінами центріолей найбільш вірогідною причиною появи аномальних сперматозоїдів є дисбаланс в розходженні генетичного матеріалу на рівні хромосом. Збільшення розмірів і деформація головок сперматозоїдів свідчать про збільшення вмісту

ДНК в головках диплоїдних сперматозоїдів; це вказує на аномалії кон'югації під час мейозу і порушення другого етапу мітозу при дозріванні статевих клітин.

У ході експерименту в сім'яних канальцях яєчок щурів поряд з нормально сформованими сперматозоїдами були виявлені патологічні форми. Дегенеративні зміни сперматозоїдів характеризувалися деформацією головок у вигляді роздвоєння їх, появою сперматозоїдів з подвоєнням або відсутністю джгутиків, що співпадає з іншими літературними джерелами [8].

Висновки. Під впливом ЕМП високої напруги низької частоти в яєчках щурів у процесі сперматогенезу формувалися патологічні процеси, що призвели до дегенерації і поліморфізму сперматозоїдів, що є наслідком порушень мітотичних і мейотичних ділень, внаслідок чого репродуктивна функція у експериментальних тварин знижувалася. Зі збільшенням строків експерименту в яєчках тварин збільшувалася кількість дегенеративних сперматозоїдів від 20 до 83%, що можна пояснити порушенням мітотичних і мейотичних ділень в процесі сперматогенезу. Діаметр сім'яних канальців яєчок щурів зменшився від 0,241±0,063 до 0,232±0,081 мм, що також було наслідком негативної дії електромагнітного поля.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі можливо визначення кількості незмінних і дегенеративних форм сперматозоїдів після вживання тваринами імуномодулюючих препаратів.

References

1. Nykytyn NA, Nykytyna AV, Batynger AV. Anatomicheskiye osobennosti venoznogo ottoka ot reproduktivnykh organov krysa [Anatomical features of venous outflow from rat reproductive organs]. *Byulleten sybyrskoy medytsyny*. 2012; 2: 84-92. [Russian]
2. Jalali M. Study of Spermatogenesis Fetal Testis Exposed Noise Stress During and after Natal Period in rat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2013; 16(19): 1010-5. PMID: 24502163. DOI: 10.3923/pjbs.2013.1010.1015
3. Qin F, Zhang J, Cao H, Guo W, Chen L, Shen O, et al. Circadian alterations of reproductive functional markers in male rats exposed to 1800 MHz radiofrequency field. *Chronobiol Int*. 2014; 31(1): 123-33. PMID: 24117058. DOI: 10.3109/07420528.2013.830622
4. Vereshchako GG. *Elektromagnytne yzluchenye dyapazona mobylnoy svyazy y ego vlyyanye na muzhskuyu reproduktivnyuyu systemu y potomstvo* [Electromagnetic radiation of the mobile range and its effect on the male reproductive system and offspring]. Minsk: Belarusskaya nauka; 2015. 246 p. [Russian]
5. Andreeva VM, Gazhat SS, Sorokyna TM. Formy patozoospermii u muzhchyn s besplodyem v brake y/yly s naryshenyem reproduktivnoy systemy [Forms of pathozoospermia in men with infertility in marriage and / or with a violation of the reproductive system]. *Andrologiya y genytnaya khyrurgiya*. 2017; 18(2): 33-4. [Russian] doi: 10.17650/2070-9781-2017-18-2-33-38
6. Bragyna EE, Sorokyna TM. Genetychesky obuslovlennyye formy patozoospermii. Obzor lyteratury y rezultaty yssledovaniy [Genetically determined forms of pathozoospermia. Literature review and research results]. *Andrologiya y genytnaya khyrurgiya*. 2015; 16(3): 29-31. [Russian] doi: 10.17650/2070-9781-2015-16-3-29-39
7. Elyseeva YY, Yuzbashev MM. *Obshchaya teoriya statystyky* [General theory of statistics]. Moskva: Fynansy y statystyka; 2005. 324 p. [Russian]
8. Khem A, Kormak D. *Gystologiya* [Histology]. Moskva: Myr; 1983. 294 p. [Russian]
9. Tkachyshyn VS. Vplyv vyrobnychkykh faktoriv na spetsyfichni funktsiyi cholovichogo organizmu [Influence of viral factors on the specific functional functions of the organism]. *Medychni perspektyvy*. 2017; 3(1): 129-34. [Ukrainian]

10. Subbotyna TY, Tereshkyina OV, Khadartsev AA. Yzmenenyaya v spermatogeneze mlekopytayushchykh pry vozdeystviy nyzkoynstensynnogo KVCh-yzluchenyaya [Changes in spermatogenesis of mammals when exposed to low-intensity EHF radiation]. *Vestnyk novykh medytsynskykh tekhnologyy*. 2006; XIII(1): 36-9. [Russian]

УДК 612.616.2-092.9:537.8:613.168

**ФОРМООБРАЗОВАНИЕ СПЕРМАТОЗОИДОВ
В ПРОЦЕССЕ ДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ**

Шарапова Е. Н.

Резюме. В данном исследовании представлены результаты исследования половых клеток крыс-самцов, которые облучались электромагнитным полем высокого напряжения низкой частоты. Крысы-самцы подвергались действию электромагнитного поля напряжением 750 кВ частотой 50 Гц мощностью 10 кВ/м на электроподстанции «Днепропетровская» г. Днепра. Клетки находились на расстоянии 75 м от поверхности земли. Животных выводили из эксперимента на 14, 30, 45, 90, 120-е сутки после окончания облучения. Из блоков изготавливались гистологические препараты, морфологическая оценка результатов которых выполнялась на микроскопе «LEICA CME». Во время проведения эксперимента отслежен процесс образования сперматозоидов от сперматогоний до зрелых половых клеток и подсчитано процентное соотношение нормальных и дегенеративных форм сперматозоидов. Под влиянием ЭМП высокого напряжения низкой частоты в яичках крыс в процессе сперматогенеза развивались патологические процессы, которые привели к видоизменению и дегенерации сперматозоидов вследствие нарушения митотических и мейотических делений, что вызвало нарушение репродуктивной функции у экспериментальных животных. Видоизменение сперматозоидов происходило в виде удвоения головки, изменений шейки, раздвоения хвоста. Патологические формы с удвоенными головками и раздвоенными жгутиками появлялись в результате неконвергированного расхождения центриолей на этапе мейотических делений. Доказано, если в начале эксперимента количество половых клеток с дегенеративными изменениями имело значение 20% в соотношении к нормальным формам, то с увеличением времени облучения количество патологических клеток увеличилось от 20 до 83%, что подтверждено статистическими данными.

Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии электромагнитного поля на морфологию половых органов крыс-самцов в общем и на процесс сперматогенеза в частности.

Ключевые слова: сперматогенез, сперматозоид, электромагнитное поле, полиморфизм.

UDC 612.616.2-092.9:537.8:613.168

Sperm Shaping during the Electromagnetic Field Action

Sharapova O. M.

Abstract. There are factors that adversely affect the health of workers at the modernized enterprises of the metallurgical, chemical, mining industries of the country. The electromagnetic field is one of the possible harmful factors, which reduces the level of health and as a result, deteriorates the working capacity of workers.

The purpose of the study was to determine the effects of the electromagnetic field of high voltage and low frequency on the genitals of male rats, namely, to determine the number of degenerative forms of spermatozoa formed as a result of mitotic and meiotic disorders at the stage of late spermatids.

Material and methods. 50 male rats were exposed to a 750 kV electromagnetic field with a frequency of 50 Hz and a power of 10 kV/m at the "Dnepropetrovskaya" electrical substation in the city of Dnepr. The cells were located at a distance of 75 m from the surface of the earth. The control group consisted of 10 rats. Animals were extracted on the 14th, 30th, 45th, 90th, 120th day after the end of the experiment. Histological preparations were made from the blocks, the morphological evaluation of the results of which was carried out on a LEICA CME microscope.

Results and discussion. Special attention was paid to the evaluation of germ cell polymorphism, since the degeneration of sperm cells is directly related to their modification, which is the result of aberrations of cell differentiation. The percentage of normal and degenerative forms of spermatozoa was calculated per 100 cells. Pathological processes developed in the testicles of rats in the process of spermatogenesis under the influence of high-voltage electromagnetic field of low frequency, which led to the modification and degeneration of spermatozoa due to impaired mitotic and meiotic divisions.

Reproductive function declined in experimental animals. This effect correlates with the "horizontal transfer" of genes, which finds a valid theory in modern evolutionary biology. In the course of the study, it was proved that with an increase in the time of irradiation by the electromagnetic field the number of degenerative cells increased from 20 to 83%, which was confirmed by statistical confidence. Degenerative forms of spermatozoa

looked like cells with double centrioles and double flagella, which is explained by an increase in the DNA content in the heads of germ cells and an imbalance in the apparatus of pressure at the level of chromosomes.

The action of the electromagnetic field of high voltage and low frequency in the testicles of rats led to edema of the interstitial tissue due to impaired blood circulation of the organ. Interstitial edema entailed a decrease in the average diameter of the testicular tubules from 0.241 ± 0.063 to 0.232 ± 0.081 mm and a decrease in the total area of spermatogenic tissue, which was also statistically confirmed.

Conclusion. The obtained results indicated a negative effect of the electromagnetic field on the morphology of the genital organs of male rats in general and on the process of spermatogenesis in particular.

Keywords: spermatogenesis, sperm cell, electromagnetic field, polymorphism.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 05.08.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування