

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ, ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ СПЕРМАТОГОНИАЛЬНЫХ КЛЕТОК У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

© В. П. Мамина

*Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, 620144;
электронный адрес: mamina@ipae.uran.ru*

Изучена роль половых гормонов и циклических нуклеотидов в регуляции пролиферативной активности сперматогонимальных клеток у мышей в разные сроки после облучения в дозах 0.1, 0.25 и 0.5 Гр. Установлено, что облучение мышей в дозах 0.1 и 0.25 Гр вызывает стимуляцию пролиферативной активности сперматогоний типа А и промежуточного типа, которая сопровождается увеличением числа сперматогоний, общее количество сперматогенных клеток возрастает на 4-е и 8-е сут. При облучении в дозе 0.5 Гр наблюдали слабо выраженную активацию пролиферативной активности сперматогонимальных клеток и снижение общего числа сперматогенных клеток на 16—32-е сут. При облучении в дозах 0.1 и 0.25 Гр проявляется защитно-компенсаторная реакция, которая способствует поддержанию численности сперматогенных клеток путем активного вступления в деления сперматогонимальных клеток. Стимулирующий эффект пролиферативной активности сперматогонимальных клеток связан с увеличением концентрации тестостерона, ЛГ и цАМФ. В реализации стимулирующего действия малых доз радиации важную роль приобретают регуляторные метаболические процессы, связанные с мембранными структурами. Полученные данные свидетельствуют о том, что изменение кинетики сперматогенных клеток обусловлено состоянием гипофиз-гонадной системы и паракринными факторами, поступающими от клеток Лейдига и Сертоли.

Ключевые слова: γ -облучение, сперматогонии, пролиферативная активность, цАМФ, тестостерон, лютеинизирующий гормон.

Принятые сокращения: ЛГ — лютеинизирующий гормон.

К настоящему времени накоплен значительный материал, касающийся влияния малых доз радиации на различные системы, однако вопрос о механизмах их действия продолжает оставаться предметом многочисленных дискуссий. Особое внимание уделяется эффектам, связанным с проявлением стимулирующего действия малых доз облучения, которые получили название радиационного гормезиса (Кузин, 1994, 1995). Существует несколько моделей для объяснения эффекта радиационного гормезиса. Модели первого типа (Calabrese, Baldwin, 2001; Mossman, 2001) объясняют радиационный гормезис активацией адаптивных клеточных реакций, которые ликвидируют не только радиационные повреждения, но и эндогенные повреждения ДНК. Модели второго типа (Crout et al., 1982; Эйбус, 2001) постулируют, что мишенью при стимулирующем действии малых доз ионизирующей радиации является мембрана клетки. В механизм данного эффекта включаются регуляторные процессы в клетках, связанные с биомембранами и системой циклических нуклеотидов. Уникальной моделью для исследования радиационных эффектов и оценки их последствий является сперматогенный эпителий, обладающий способностью к непрерывному обновлению клеток. Сперматогенез является одним из наиболее динамичных процессов в орга-

низме млекопитающих, связанных с клеточной пролиферацией и дифференцировкой (Clermont et al., 1993; De Rooij, 2001). Он протекает под контролем специфических генов и регулируется совокупностью гормонов, цитокинов и факторов роста (Быков, 2000; Ohta et al., 2000; Rossi et al., 2003; Захидов и др., 2009). Основным гормоном, участвующим в регуляции процесса сперматогенеза, является тестостерон, синтез которого происходит в клетках Лейдига. Рецепторы для тестостерона обнаружены на сперматогониях, сперматоцитах и ранних сперматидях. Андроженная активность клеток Лейдига находится под контролем лютеинизирующего гормона (ЛГ), вырабатываемого гипофизом (Sun et al., 1989, 1990; McLachlan et al., 1994; O'Donnell et al., 1994). Связывание ЛГ с мембранным рецептором на клетках Лейдига ведет к специфической активации протеинкиназы, сопровождающейся увеличением внутриклеточной концентрации цАМФ и как следствие — синтеза тестостерона (Бахтюков, Шпаков, 2016).

Цель настоящей работы заключалась в изучении уровня половых гормонов, циклических нуклеотидов и пролиферативной активности сперматогонимальных клеток у мышей линии BALB/c, подвергнутых облучению в малых дозах.

Материал и методика

Исследования проведены на половозрелых самцах мышей линии BALB/c с массой тела 23—25 г ($n = 130$) в соответствии с этическими нормами работы с животными. Мышей на 4, 8, 16, 24 и 32-е сут после тотального γ -облучения на установке ИГУР-1 в дозах 0.1, 0.25 и 0.5 Гр (мощность дозы 1.2 Гр/мин) подвергали быстрой декапитации, проводили забор крови и экстирпацию семенников.

Концентрацию тестостерона, лютеинизирующего гормона (ЛГ) и цАМФ в плазме крови определяли радиоиммунологическим методом при помощи наборов СТЭРОН-Т-иод-125, Cyclic-AMP (125-иод) RIA KIT (Чехия) и LHK-PR. Int.-CIS (Франция).

Семенники фиксировали в жидкости Буэна, после соответствующей обработки готовили парафиновые срезы толщиной 7 мкм, окрашивали по методу ШИК с докраской гематоксилином (Волкова, Елецкий, 1982). Проллиферативную активность сперматогоний оценивали по частоте встречаемости отдельных стадий цикла сперматогенного эпителия, для которых характерны митотические деления сперматогонияльных клеток (Oakberg, 1956; Hess, Franca, 2008). На каждой стадии цикла проводили подсчет числа сперматогоний типа А и сперматогоний промежуточного типа. Для определения стадий цикла использовали морфологические критерии, которые характерны для разных этапов развития сперматид и отражают изменения в акросомной системе (Leblond, Clermont, 1952; Oakberg, 1956). Для каждой стадии цикла характерно определенное сочетание сперматогенных клеток. При идентификации сперматогенных клеток учитывали их морфологические особенности: размер ядер, конденсацию и топографию хроматина, а также топографию клеток (De Rooij, 2001). Анализировали 100 семенных канальцев на каждом срезе.

Общее число сперматогенных клеток оценивали в суспензии гомогенизированного семенника (Мамина, Семенов, 1976). Семенник освобождали от белочной оболочки, помещали в бюкс (10 мл), добавляли 10—12 капель раствора генцианвиолета (1.5 мл 5%-ного раствора генцианвиолета и 30 мл 5%-ной уксусной кислоты) и гомогенизировали на электрической мешалке в течение 20 мин. Полученную суспензию тем же красителем доводили до объема 4 мл, тщательно перемешав, набирали в лейкоцитарный меланжер, разводили красителем в 10 раз, взбалтывали в течение 1—2 мин и заполняли счетную камеру Горяева, в которой подсчитывали число сперматогенных клеток. С учетом разбавления рассчитывали абсолютное количество клеток в семеннике. При идентификации сперматогенных клеток, клеток Сертоли и Лейдига учитывали морфологию ядер — размер ядер, конденсацию и топографию хроматина. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного пакета Statistica 5 с использованием непараметрического U-критерия Уилкоксона—Манна—Уитни, различия считали достоверными при $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Для выявления возможной роли циклических нуклеотидов и половых гормонов в пролиферации сперматогонияльных клеток у мышей при облучении в малых дозах был проведен количественный анализ семенных каналь-

цев на разных стадиях цикла сперматогенного эпителия и определен уровень цАМФ, ЛГ и тестостерона. Число канальцев с определенными стадиями цикла служит показателем пролиферативной активности сперматогоний, подобно тому как число канальцев с 12-й стадией мейоза является показателем мейотической активности сперматозоитов (Шефтель и др., 1988). Подсчет сперматогоний на каждой стадии цикла дает дополнительную информацию о динамике сперматогонияльных клеток.

Часть цикла, характеризующегося определенным сочетанием сперматогенных клеток, называется стадией цикла сперматогенного эпителия (Leblond, Clermont, 1952). В цикле сперматогенного эпителия мыши Оакберг (Oakberg, 1956) выделил 12 стадий и представил характеристику клеточных ассоциаций на каждой стадии. На основе последовательных этапов развития сперматид (спермиогенеза) провели идентификацию четырех стадий цикла, на которых происходит митотическое деление сперматогоний (II, IV, IX и XI), и проанализировали клеточный состав стенок канальцев на этих стадиях. В процессе спермиогенеза выделяют несколько этапов развития сперматид на основе изменений в акросомной системе. Так, на II стадии цикла мелкие проакросомные гранулы сперматид сливаются в одну крупную, что соответствует 2-му этапу спермиогенеза, стадия представлена сперматогониями типа А, сперматогониями промежуточного типа, сперматоцитами на стадии пахитены, сперматидами на 2-м и 14-м этапах спермиогенеза (рис. 1, а). На IV стадии акросомная гранула приходит в контакт с ядерной мембраной, иногда приобретая форму «колпачка», что соответствует 4-му этапу спермиогенеза, в состав клеточных сочетаний входят сперматогонии типа А, сперматогонии промежуточного типа, сперматоциты на стадии пахитены, сперматиды на 4-м и 15-м этапах спермиогенеза (рис. 1, б). На IX стадии цикла происходят изменения формы ядра, оно начинает удлиняться, что характерно для 9-го этапа спермиогенеза, клеточная ассоциация представлена сперматогониями типа А, сперматоцитами на стадии лептотены и пахитены, сперматидами на 9-м этапе спермиогенеза (рис. 1, в). На XI стадии цикла сперматиды имеют темноокрашенную компактную головку, достаточно вытянутую, что соответствует 11-му этапу спермиогенеза, клеточные сочетания включают в себя сперматогонии типа А, сперматоциты на стадии зиготены и диплотены, сперматиды на 11-м этапе спермиогенеза (рис. 1, г). Следует отметить, что сперматогонии типа А присутствуют на всех стадиях цикла.

Морфологические особенности сперматогенных клеток позволяют дифференцировать их по типам даже при светооптическом исследовании. Сперматогонии типа А имеют овальные ядра с диффузно распределенным хроматином, по мере их дифференцировки происходит постепенная конденсация хроматина, у сперматогониев промежуточного типа овальное ядро содержит значительное число областей компактного хроматина, контактирующих с ядерной оболочкой, сперматогонии типа Б имеют округлое ядро с четко выраженными областями гетерохроматина вблизи ядерной оболочки. Для всех сперматогонияльных клеток характерны наличие 1—2 интенсивно окрашенных ядрышек неправильной формы и равномерное распределение по всей базальной мембране семенного канальца. Лептотенные и зиготенные сперматоциты уже не соприкасаются с собственной оболочкой семенных канальцев, у лептотенных сперматоцитов

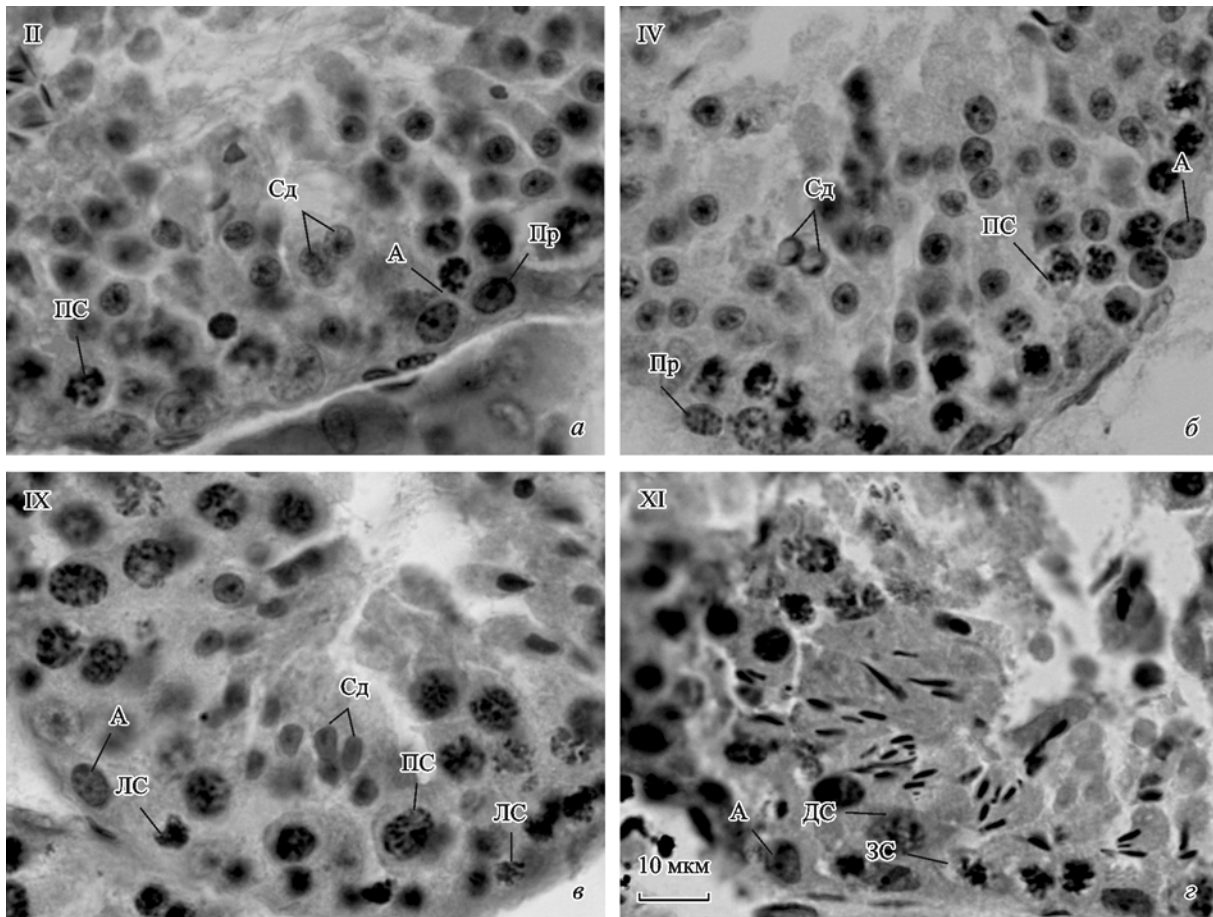


Рис. 1. Внешний вид стенки семенного канальца на разных стадиях цикла сперматогенного эпителия у мышей.

a — стадия II, *б* — IV, *в* — IX, *г* — XI. Окраска ШИК + гематоксилин, об 100×. А — сперматогонии типа А, Пр — сперматогонии промежуточного типа, ПС — пахитенные сперматоциты, ЛС — лептотенные сперматоциты, ЗС — зиготенные сперматоциты, ДС — сперматоциты в диакинезе, Сд — сперматиды.

ядра круглые, содержат хроматин в виде тонких нитей, у зиготенных хроматин приобретает вид более утолщенных нитей. Пахитенные сперматоциты имеют самые крупные ядра с утолщенными и короткими нитями хроматина.

После воздействия облучения в дозе 0.1 Гр в разные сроки наблюдается увеличение числа канальцев со II, IV (кроме 32-х сут) и с IX стадиями цикла сперматогенного эпителия в среднем на 40 % (рис. 2, *a*). Количество сперматогоний на тех же стадиях цикла возрастает в среднем на 30 %, общее число сперматогенных клеток увеличивается на 4-е и 8-е сут после облучения в среднем на 19 % (рис. 3). Увеличенный уровень ЛГ, цАМФ и тестостерона регистрируется на всех сроках исследования, кроме 8-х сут (см. таблицу). Выявленные отличия от контрольных значений достоверны для $p \leq 0.05$.

При облучении в дозе 0.25 Гр по сравнению с дозой 0.1 Гр наблюдается увеличение числа канальцев с XI стадией цикла (рис. 2, *б*), по другим показателям существенных различий не отмечается (рис. 3). Выявленные различия достоверны для $p \leq 0.05$.

При облучении в дозе 0.5 Гр по сравнению с дозами 0.1 и 0.25 Гр увеличение числа отмечали только для канальцев с IX стадией цикла (рис. 2, *в*). Также отмечали уменьшение снижения числа канальцев со II стадией цикла на 16-е и 24-е сут после облучения и числа канальцев с

IV стадией на всех сроках исследования (рис. 3). Количество сперматогоний на IX стадии цикла возрастает в среднем на 10 %, увеличения общего числа сперматогенных клеток не наблюдается, более того, отмечается уменьшение этого показателя на 16—32-е сут после облучения (рис. 3).

Повышение концентрации тестостерона отмечается на всех сроках исследования, кроме 4-х сут, но при этом уровень ЛГ и цАМФ остается в пределах контрольных значений (см. таблицу). Выявленные различия достоверны для $p \leq 0.05$.

Проведенное исследование показало, что наряду с изменением числа сперматогоний на разных стадиях цикла изменяется и количество семенных канальцев с теми же стадиями.

У мышей в процессе сперматогенеза происходит шесть последовательных митотических делений, в результате которых друг друга сменяют сперматогонии типа A_1 — A_4 , сперматогонии промежуточного типа и сперматогонии типа Б. Сперматогонии типа A_1 делятся на IX стадии цикла, давая начало сперматогониям типа A_2 . В результате последующих митозов на XI и I стадиях цикла образуются сперматогонии типов A_3 и A_4 , деление сперматогоний типа A_4 на II стадии приводит к образованию сперматогоний промежуточного типа, деление которых на IV стадии в свою очередь дает начало спермато-

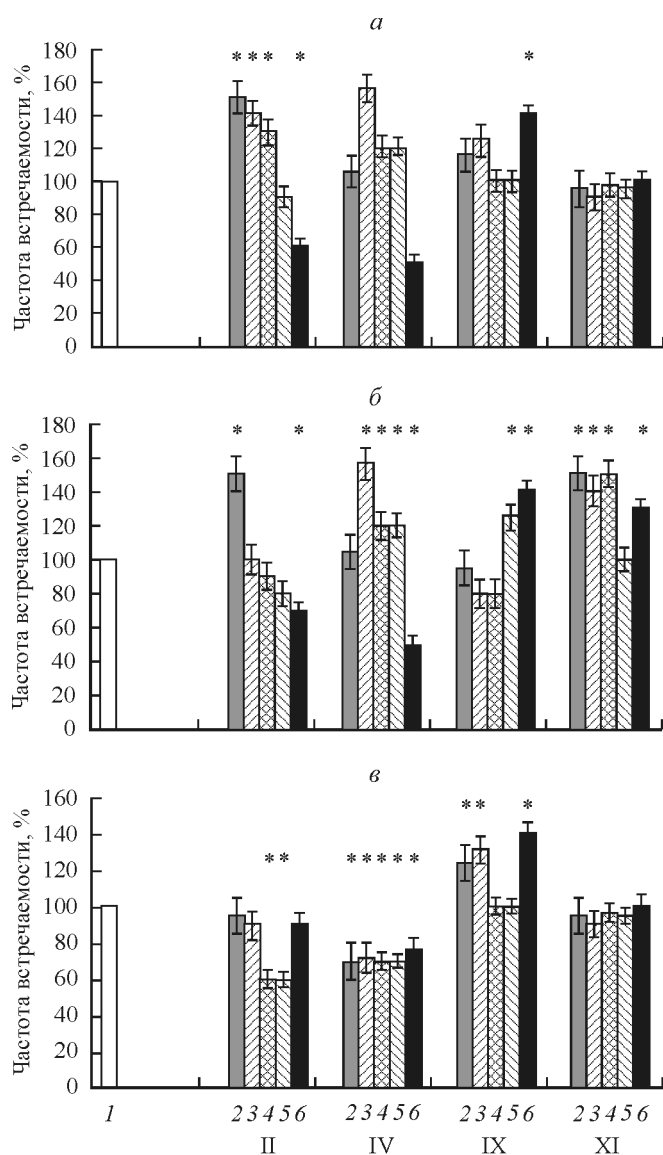


Рис. 2. Частота встречаемости отдельных стадий цикла сперматогенного эпителия (ЦСЭ) у мышей, подвергнутых облучению в малых дозах.

a — доза 0.1 Гр, *б* — 0.25 Гр, *в* — 0.5 Гр; 1 — контроль, 2 — 4 сут после облучения, 3 — 8 сут после облучения, 4 — 16 сут после облучения, 5 — 24 сут после облучения, 6 — 32 сут после облучения; II, IV, IX, XI — стадии цикла сперматогенного эпителия; звездочка — достоверные различия между контрольными и облученными животными ($p \leq 0.05$), вертикальные отрезки — доверительные интервалы ($p \leq 0.05$).

ниям типа Б (Monesi, 1962). По мере дифференцировки сперматогоний происходит постепенная конденсация хроматина, который первоначально образует единичные небольшие глыбки в нуклеоплазме или у ядерной мембраны, затем число этих областей гетерохроматина значительно увеличивается, а хроматин становится более компактным.

На основании описанных в литературе закономерностей митотических делений сперматогониальных клеток на отдельных стадиях цикла можно считать, что при облучении в дозе 0.1 Гр происходит стимуляция пролиферативной активности сперматогоний типов A_1 и A_4 и сперматогоний промежуточного типа. При облучении в дозе 0.25 Гр помимо усиления пролиферации спермато-

гоний A_1 и A_4 и сперматогоний промежуточного типа возрастает митотическая активность сперматогоний типа A_2 . После облучения в дозе 0.5 Гр слабо выраженная стимуляция пролиферативной активности обусловлена тем, что происходит усиление пролиферации только сперматогоний типа A_1 и значительно снижается пролиферация сперматогоний промежуточного типа. Усиление пролиферативной активности сперматогоний при дозах облучения 0.1 и 0.25 Гр способствует возрастанию общего числа клеток, при дозе 0.5 Гр данный эффект отсутствует.

Стимулирующий эффект пролиферативной активности сперматогоний, по-видимому, связан с увеличением концентрации тестостерона, ЛГ и цАМФ. Известно, что в регуляции пролиферации и дифференцировке клеток сперматогенного эпителия главная роль принадлежит тестостерону, который вырабатывается клетками Лейдига (Sun et al., 1989; Sun et al., 1990; O'Donnell et al., 1994; McLachlan et al., 1994). Расположение клеток Лейдига вблизи семенных канальцев обеспечивает непрерывное поддержание высоких концентраций тестостерона в просвете канальцев. Рецепторы для тестостерона обнаружены на клетках сперматогенного эпителия — сперматогониях, сперматоцитах и ранних сперматидях, присоединение гормона к рецепторам усиливает процессы ядерного метаболизма. Стероидогенез находится под контролем гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, и главная роль в его регуляции принадлежит ЛГ, рецепторы для этого гормона находятся на плазматической мембране клеток Лейдига (O'Shaughnessy et al., 2009; Wang et al., 2009). Связывание гормона с мембранным рецептором вызывает активацию аденилатциклазной системы и повышение уровня цАМФ, что способствует усилению метаболических процессов в клетках Лейдига (Бахтюков, Шпаков, 2016). Основным молекулярным механизмом, обеспечивающим синтез тестостерона в клетках Лейдига, является активация цАМФ-зависимых процессов (Dufau, 1998; Manna et al., 2006; Manna Stocco, 2007). Через ряд последовательных событий гормон осуществляет контроль биосинтеза белка и модулирует целый ряд внутриклеточных процессов, в том числе и клеточную пролиферацию. Следует отметить, что тестостерон регулирует функциональную активность клеток Сертоли, осуществляющих

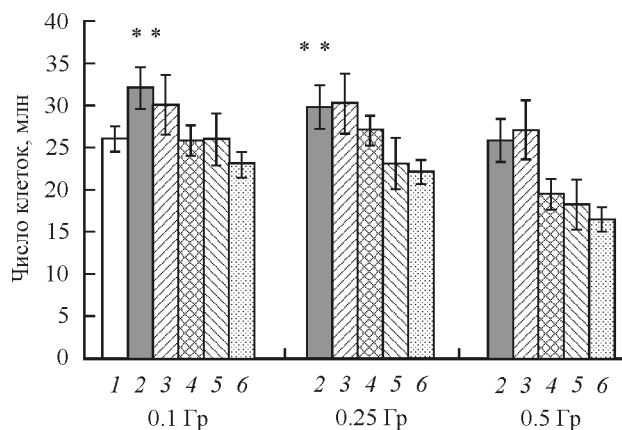


Рис. 3. Число сперматогенных клеток в клеточной суспензии семенника у мышей, подвергнутых облучению в малых дозах.

1 — контроль, 2 — 4 сут после облучения, 3 — 8 сут после облучения, 4 — 16 сут после облучения, 5 — 24 сут после облучения, 6 — 32 сут после облучения; звездочка — достоверные различия между контрольными и облученными животными ($p \leq 0.05$), вертикальные отрезки — доверительные интервалы ($p \leq 0.05$).

Уровень тестостерона, ЛГ и цАМФ в крови у мышей, подвергнутых облучению в малых дозах

Доза, Гр	Время после облучения, сут	Тестостерон, нмоль/л	ЛГ, мJU/мл	цАМФ, пМ на 1 пробирку	
Контроль	—	6.2 ± 0.9	6.0 ± 1.0	4.0 ± 0.4	
	0.1	4	7.5 ± 0.8 ^a	6.9 ± 0.8 ^a	4.8 ± 0.4 ^a
		8	5.9 ± 0.7	5.5 ± 0.8	4.2 ± 0.3
		16	12.0 ± 0.9 ^a	10.0 ± 0.7 ^a	5.0 ± 0.6 ^a
		24	12.5 ± 0.8 ^a	9.5 ± 0.9 ^a	4.9 ± 0.5 ^a
		32	7.7 ± 0.6 ^a	6.6 ± 0.8	4.5 ± 0.5
0.25	4	7.3 ± 0.9 ^a	7.0 ± 0.8 ^a	4.9 ± 0.7 ^a	
	8	6.0 ± 0.8	6.2 ± 1.1	4.0 ± 0.4	
	16	10.0 ± 1.2 ^a	9.8 ± 1.0 ^a	4.9 ± 0.5 ^a	
	24	12.2 ± 1.4 ^a	10.0 ± 1.1 ^a	4.8 ± 0.3 ^a	
	32	9.5 ± 1.0 ^a	7.1 ± 0.9 ^a	4.0 ± 0.5	
	0.5	4	5.7 ± 0.7	5.8 ± 0.6	3.5 ± 0.4
8		8.8 ± 0.9 ^a	5.5 ± 0.6	3.7 ± 0.5	
16		9.0 ± 1.0 ^a	5.0 ± 0.7	4.4 ± 0.5	
24		9.5 ± 0.8 ^a	5.5 ± 0.5	4.2 ± 0.6	
32		6.8 ± 0.9	6.5 ± 0.8	3.5 ± 0.5	

^a Достоверные различия показателей между контрольными и облученными животными ($P < 0.05$).

контроль над пролиферативной активностью сперматогонных клеток.

Наряду с увеличением пролиферативной активности сперматогонных клеток наблюдается ее снижение в отдельные сроки после облучения, что, возможно, связано с дегенерацией клеток. Известно, что в процессе сперматогенеза часть сперматогонных клеток дегенерирует, причем основная их доля приходится на сперматогонию и сперматоциты (Oakberg, 1965). В литературе высказываются два предположения о причинах клеточной гибели: дегенерация — это механизм, с помощью которого элиминируются клетки с хромосомными аномалиями, или механизм, создающий оптимальные отношения между числом клеток сперматогонного эпителия и клеткой Сертоли (Huckins, Oakberg, 1978). В нашем случае, когда после облучения в дозах 0.1 и 0.25 Гр происходит увеличение числа сперматогонных клеток, снижение пролиферативной активности клеток, по-видимому, обусловлено дегенерацией клеток, поддерживающей определенное соотношение числа сперматогонных клеток и клеток Сертоли. После облучения в дозе 0.5 Гр наблюдается снижение числа сперматогонных клеток, поэтому падение пролиферативной активности сперматогонных клеток может быть обусловлено гибелью клеток с хромосомными аномалиями.

Таким образом, можно полагать, что после облучения в дозах 0.1 и 0.25 Гр проявляется защитно-компенсаторная реакция, которая способствует поддержанию численности сперматогонных клеток путем активного вступления в деления сперматогонных клеток. При дозе 0.5 Гр слабо выраженная активация пролиферативной активности сперматогонных клеток и отсутствие увеличения общего числа сперматогонных клеток приводят к снижению их числа в последующие сроки. Полученные данные позволяют предположить, что изменение кинетики сперматогонных клеток обусловлено состоянием гипофиз-гонадной системы и паракринными факторами, поступающими от клеток Лейдига и Сертоли. По-видимому, в реализации стимулирующего действия малых доз

радиации важную роль играют регуляторные метаболические процессы, сопровождающиеся увеличением внутриклеточной концентрации цАМФ и как следствие — синтеза тестостерона.

Работа выполнена на основе бюджетного финансирования (№ г/р. 01.2.009 51471).

Список литературы

- Бахтукоев А. А., Шпаков А. О. 2016. Молекулярные механизмы регуляции стероидогенеза в клетках Лейдига. Цитология. 58 (9) : 666—677. (Bakhtukov A. A., Shpakov A. O. 2016. The molecular mechanisms of steroidogenesis regulation in Leydig cells. Tsitologiya. 58 (9) : 666—677.)
- Быков В. Л. 2000. Сперматогенез у мужчин в конце XX века. Проблемы репродукции. 1 : 6—13. (Bykov V. L. 2000. A spermatogenesis at men in extremity XX of a century. Problemy Reproduktsii. 1 : 6—13.)
- Волкова О. В., Елецкий Ю. К. 1982. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина. 304 с. (Volkova O., Eletskiy J. K. 1982. Bases of histology with histological technics. Moscow: Medicine. 304 p.)
- Захидов С. Т., Кулибин А. Ю., Маршак Т. Л. 2009. Стволовые клетки и клетки ниши сперматогонной системы. В кн.: Биология стволовых клеток и клеточные технологии. М.: Медицина. 2 : 311—380. (Zahidov S. T., Kulibin A. Yu., Marshak T. L. 2009. Biology of stem cells and cellular technologies. Moscow: Medicine. 2 : 311—380.)
- Кузин А. М. 1994. Возможные механизмы участия природного радиационного фона (ПРФ) в стимуляции деления клеток. Радиационная биология. Радиоэкология. 34 (2) : 398—400. (Kuzin A. M. 1994. Possible mechanisms of participation of a natural background radiation (NBR) in stimulation of cell fission. Radiation Biology. Radioecology. 34 (2) : 398—400.)
- Кузин А. М. 1995. Идеи радиационного гормезиса в атомном веке. М.: Наука. 158 с. (Kuzin A. M. 1995. Ideas of irradiation of gormesis in a nuclear century. Moscow: Nauka, 158 p.)
- Мамина В. П., Семенов Д. И. 1976. Метод определения количества сперматогонных клеток семенника в клеточной суспензии. Цитология. 18 (3) : 913—914. (Mamina V. P., Semenov D. I. 1976. Method of determination of the number of spermatogonial cells in testis suspension. Tsitologiya. 18 (3) : 913—914.)

nov D. I. 1976. A technique for counting spermatogenic cells of the testis in the cell suspension. *Tsitologiya*. 18 (3) : 913—914.)

Шефтель В. О., Дышневич Н. Е., Сова Р. Е. 1988. Токсикология полимерных материалов. Киев: Здоровье. 210 с. (Sheftel V. O., Dyshnevich N. E., Sovva R. E. 1988. Toxicology of polymeric materials. Kiev: Zdorov'e. 210 p.)

Эйдус Л. Х. 2001. Мембранный механизм биологического действия малых доз: новый взгляд на проблему. М.: ИТЭБ РАН. 82 с. (Eyduš L. Kh. 2001. The membranous mechanism of a biological effect of small doses: the new view on a problem. Moscow: ITEB RAS. 82 p.)

Calabrese E. J., Baldwin L. A. 2001. Hormesis: a generalizable and unifying hypothesis. *Critic. Rev. Toxicol.* 31 : 4—5.

Clermont Y., Oko R., Hermo L. 1993. Cell biology of mammalian spermiogenesis. In: Cell and molecular biology of the testis. New York: Oxford Univ. Press. 1 : 332—376.

Crout F., Soleilhavoup J. P., Vidal S., Rousseille R., Planel H. 1982. Proliferation kinetics of *Paramecium tetraurelia* in balloon-borne experiments. *Aviat. Space Envir. Med.* 53 : 531—536.

De Rooij D. G. 2001. Proliferation and differentiation of spermatogonial stem cells. *Reprod.* 121 : 347—354.

Dufau M. L. 1998. The luteinizing hormone receptor. *Annu. Res. Physiol.* 60 : 461—496.

Hess R. A., Franca L. R. 2008. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In: Molecular mechanisms in spermatogenesis. New York: Springer Science + Business Media LLC: 1—15.

Huckins C., Oakberg E. F. 1978. Morphological and quantitative analysis of spermatogonia in mouse testes using whole mounted seminiferous tubules: the normal testis. *Anat. Rec.* 192 : 519—528.

Leblond C., Clermont Y. 1952. Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the «periodic acid-sulfurous acid» technique. *Amer. J. Anat.* 90 : 167—215.

Manna P. R., Chandrala S. P., Jo Y., Stocco D. M. 2006. cAMP-independent signaling regulates steroidogenesis in mouse Leydig cells in the absence of StAR phosphorylation. *J. Mol. Endocrinol.* 37 : 81—95.

Manna P. R., Jo Y., Stocco D. M. 2007. Regulation of Leydig cell steroidogenesis by extracellular signal-regulated kinase 1/2: role of protein kinase A and protein kinase C signaling. *J. Endocrinol.* 193 : 53—63.

McLachlan R. I., Wreford N. G., Meachem S. J., De Kretser D. M., Robertson D. M., 1994. Effects of testosterone on spermatogenic cell populations in the adult rat. *Biol. Reprod.* 51 : 945—955.

Monesi V. 1962. Autoradiographic study of DNA synthesis and the cell cycle in spermatogonia and spermatocytes of mouse testis using tritiated thymidine. *J. Cell Biol.* 14 (1) : 1—18.

Mossman J. L. 2001. Deconstructing radiation hormesis. *Health Physics.* 80 : 263—269.

Oakberg E. F. 1956. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. *Amer. J. Anat.* 99 : 507—516.

O'Donnell L., McLachlan R. I., Wreford N.G., Robertson D. M. 1994. Testosterone promotes the conversion of round spermatids between stages VII and VIII of the rat spermatogenic cycle. *Endocrinology.* 135 : 2608—2614.

Ohta H., Yomogida K., Dohmae K., Nishimune Y. 2000. Regulation of proliferation and differentiation in spermatogonial stem cells: the role of c-kit and its ligand SCF. *Development.* 127 : 2125—2131.

O'Shaughnessy P. J., Morris I. D., Huhtaniemi I., Baker P. J., Abel M. H. 2009. Role of androgen and gonadotrophins in the development and function of the Sertoli cells and Leydig cells: data from mutant and genetically modified mice. *Mol. Cell. Endocrinol.* 306 : 2—8.

Rossi P., Dolci S., Sette C., Geremia R. 2003. Molecular mechanisms utilized by alternative c-kit gene products in the control of spermatogonial proliferation and sperm-mediated egg activation. *Andrologia.* 35 : 71—78.

Sun Y. T., Irby D. C., Robertson D. M., de Kretser D. M. 1989. The effects of exogenously administered testosterone on spermatogenesis in intact and hypophysectomized rats. *Endocrinology.* 125 : 2141—2149.

Sun Y. T., Wreford N. G., Robertson D. M., de Kretser D. M. 1990. Quantitative cytological studies of spermatogenesis in intact and hypophysectomized rats: identification of androgen-dependent stages. *Endocrinology.* 127 : 1215—1223.

Wang R. S., Yeh S., Tzeng C. R., Chang C. 2009. Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility lessons from testicular cell-specific androgen receptor knockout mice. *Endocrin. Rev.* 30 : 119—132.

Поступила 29 VIII 2017

CHANGE OF THE LEVEL OF SEXUAL HORMONES, CYCLIC NUCLEOTIDES
AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF SPERMATOGONIAL CELLS IN LABORATORY MICE
UNDER INFLUENCE OF IRRADIATION IN SMALL DOSES

V. P. Mamina

Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Division of RAS, Ekaterinburg, 620144;
e-mail: mamina@ipae.uran.ru

The role of sexual hormones and cyclic nucleotides in the regulation of the proliferative activity of spermatogonial cells has been studied in mice at different times after irradiation at doses of 0.1, 0.25 and 0.5 Gy. It has been found, that the irradiation of mice at doses 0.1 and 0.25 Gy causes stimulation of the proliferative activity of type A and intermediate type spermatogonia, which is accompanied by an increase in the number of spermatogonia. The total number of spermatogenous cells increases on the 4th—8th day. Irradiation with a dose of 0.5 Gy caused a mildly pronounced activation of the proliferative activity of spermatogonial cells and a decrease of the total number of spermatogenic cells by 16—32 days. Irradiation with doses of 0.1 and 0.25 Gy causes a protective-compensatory reaction that helps maintain the number of spermatogenic cells by actively entering into division of spermatogonial cells. The stimulating effect of proliferative activity of spermatogonial cells is associated with an increase in concentration of LH, cAMP and testosterone. In the realization of the stimulatory effect of small doses of radiation an important role is played by regulatory metabolic processes associated with membrane structures. The data obtained indicate that the change in the kinetics of spermatogenic cells is due to the state of the pituitary-gonadal system and the paracrine factors coming from Leydig and Sertoli cells.

Key words: irradiation, spermatogenous cells, proliferative activity, cAMP, testosterone, luteinizing hormone.