

Шамрай Д. В.,
Мельник Н.О.

ПЕРЕДПУХЛИННІ ЗМІНИ В ЯЄЧНИКУ ЩУРІВ ЧЕРЕЗ 223 ДОБИ ПІСЛЯ ОПЕРАЦІЇ ЗА МЕТОДИКОЮ BISKIND У МОДИФІКАЦІЇ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Резюме. Викладена суть методики Biskind; визначено, що розвиток трансплантату яєчника може йти кількома шляхами. На всіх строках, включаючи 223 доби, спостерігається як мінімум 2 варіанти змін макро- і мікроскопічної структури яєчника, що можна пояснити фазою еструсового циклу в момент операції; описані 2 варіанти макроскопічної будови та гістологічної картини трансплантату яєчника на пізніх строках (223 дні) після операції: 1-й – яєчники розмірами 11x5 мм, щільної консистенції, не містять кіст, поверхня їх горбиста, мікроскопічно були виявлені ознаки тканинного та клітинного атипізму, а також ознаки деструючого росту; 2-й – яєчники розмірами 7x5 мм, поверхня їх кістозно змінена, мікроскопічно спостерігали дистрофічні зміни (гідропічна дистрофія, каріопікноз ядер) клітинних елементів жовтих тіл без ознак клітинного атипізму та деструючого росту; визначено, що васкуляризація яєчника не впливає на появу передпухлинних станів у яєчнику щурів.

Ключові слова: гормональний канцерогенез, передпухлинні стани яєчників, рак яєчників, модель Biskind.

Останнім часом рак розглядається як мультифакторне генетичне захворювання. Що стосується патогенезу раку жіночих репродуктивних органів, то для пухлин, які гістогенетично пов'язані з багатощаровим сквамозним епітелієм шийки матки, піхви та вульви, найбільше значення має вірусна інфекція. Для пухлин, які виникли із залозистого епітелію (ендометрій, молочна залоза, яєчники), найбільше значення мають ендокринно-обмінні порушення [1,2].

Серед усіх випадків раку пухлини яєчників займають 25% (по Україні: 4070 нових випадків захворювання у 2009 році), являють собою найчастішу причину смерті серед онкогінекологічних хворих (2437 померла за 2009 рік) [3]. Крім того, майже 32% не проживають 1 року з моменту установлення діагнозу, що обумовлено наступними причинами: 1) хворі поступають на лікування переважно на III та IV стадіях захворювання (суб'єктивно безсимптомний перебіг, наявність нетипових проявів захворювання); 2) швидкий клінічний перебіг, який проявляється наростанням ступеня злоякісності пухлини та раннім початком імплантаційного, лімфогенного та гематогенного метастазування.

Діагностика раку яєчників (РЯ) являє собою великі труднощі, особливо рання діагностика, тому у теперішній час основною проблемою є своєчасне виявлення непластичного процесу у придатках матки на рівні передпухлинних станів. Тим паче, що для яєчника передракові стани не визначені. Дійсно, тільки 20,5% хворих виявлено

на профілактичних оглядах у 2009 році [3].

Лікування РЯ також є складним процесом, обов'язково включає в себе хіміотерапію, оперативне втручання, а також може включати променеу, імуно- та гормонотерапію [4,5]. Так, за даними Національного канцер-реєстру у 2009 році 65,4% хворих отримали комплексне або комбіноване лікування, в той час як виключно хірургічне лікування отримали 12,7% хворих [3]. Навіть після успішно проведеного оперативного втручання та курсу комбінованої хіміотерапії, порушення секреції гонадотропних та стероїдних гормонів зберігається.

Етіологія та патогенез пухлин яєчників є складним та не до кінця вирішеним питанням. Як у свій час підмітив М.Ф. Глазунов, доводиться вивчати не пухлини яєчника, а "пухлини в яєчнику" [2,6]. Згідно сучасних уявлень в основі їх розвитку лежать наступні фактори: порушення процесів обміну (збільшення вмісту холестерину у крові), дисгормональні розлади (відносна або абсолютна гіперестрогенія, порушення у гіпоталамо-гіпофізарній системі), розлади компенсаторних механізмів (надмірна ароматизація (конверсія) андрогенів у естрогени в жировій, м'язовій тканинах, шкірі, збільшення гонадотропної активності гіпофізу в період менопаузи та статевого дозрівання), порушення імунологічних механізмів, генетична схильність [4,7,8].

Метою даної роботи є конкретизувати критерії передпухлинних станів яєчника щурів на пізніх строках.

Завдання роботи:

- 1) описати гістологічну картину яєчника щурів на пізніх строках (223 доби) після операції за методикою Biskind в модифікації;
- 2) порівняти отримані результати з даними літератури;
- 3) співставити отримані результати з попередньо опублікованими нами даними;
- 4) проаналізувати роль мікрооточення трансплантату яєчника у розвитку передпухлинних станів яєчника.

Матеріали і методи

Дослідження проводилось на 15 самках білих щурів лінії Wistar масою 180–200 гр., які були розбиті на 2 групи наступним чином:

I група – 5 тварин, яким виконували хибну лапаротомію;

II група – 10 щурів, які перенесли двосторонню кастрацію з наступною трансплантацією одного яєчника на селезінку (рис. 1).

Операцію проводили під внутрішньом'язовим наркозом – 0,3 мл кетаміну. У щурів II групи проводили забір яєчника через 223 доби після операції.

У щурів II групи вивчали статевий цикл з 7-го до 21-го дня після операції одноразово на 2 дні шляхом цитологічного дослідження піхвових мазків. Через 223 доби проводили забір яєчника з наступною фіксацією та мікроскопічним дослідженням (забарвлення гематоксиліном-еозином).

Ідея методики полягає в тому, щоб звільнити гіпофіз від гальмівної дії естрогенів та прогестерону шляхом кастрації тварин, враховуючи, що гормони яєчника інактивуються в печінці. Таким чином, створюються умови для виникнення дифузної нерівномірної гіперплазії, передпухлинних станів у яєчнику під дією збільшеної кількості гонадотропних гормонів [9].



Рис. 1. Трансплантація одного яєчника на селезінку

Модифікація методики полягає у збільшенні об'єму та особливостях кровопостачання трансплантата.

Тут хотілося б нагадати тріаду Вірхова, згідно з якою хвороба виникає при одній з умов: 1) гетерометрія (зміна кількості клітин); 2) гетеротопія (поява клітин не на своєму місці); 3) гетерохронія (поява клітин не у свій час) [10]. За умов моделі Biskind всі три умови виконуються.

Результати та їх обговорення

У тварин I групи яєчник оточений жировою тканиною, поверхня яєчника вкрита сполучнотканинною оболонкою, яєчники звичайної консистенції та кольору, розмірами 4x2 мм. Мікроскопічно добре візуалізується розмежування на кіркову та мозкову речовину. Остання утворена сполучнотканинними (СТ) волокнами, судинними та нервовими елементами. У кірковій речовині розміщені примордіальні фолікули, оточені одношаровим епітелієм. Фолікули знаходяться на різних стадіях розвитку до третинних. Місцями спостерігаються атретичні фолікули, які складаються із залишків фолікулярних клітин кумулюса, зона pellucida ооцита I порядку та скупчень інтерстиційних клітин. На деяких препаратах помітні жовті тіла у стадії інволюції, або у стадії розвитку.

У однієї тварини II групи через 11 діб після операції були виявлені полігональні ядерні клітини з ексцентрично розташованими ядрами у піхвових мазках, що свідчить про перехід до фази проєструсу, тобто відновлення естрально-оваріального циклу (тварина була виключена з експерименту). Цей випадок можна пояснити розвитком злукового процесу між комплексом "селезінка-яєчник" та передньою черевною стінкою.

У інших 9 тварин з 7-го по 21-й день у піхвових мазках спостерігали невелику кількість слизу, лейкоцитів та епітеліальних клітин, що відповідає фазі дієстресу, тобто функціонального спокою. На основі цих даних робимо висновок про те, що гормони не потрапляють (в достатній кількості) до загального кровообігу.

У цих 9 щурів через 223 доби після операції проводили забір яєчника. У 4 тварин яєчники практично не вкриті жировою тканиною (свідчить про відсутність злукового процесу), розмірами 11x5 мм, яєчники щільної консистенції, не містять кіст, поверхня їх горбиста, буро-червоного кольору за рахунок розвитку судинної сітки (рис. 2).

У цих 4-х тварин відсутнє розмежування паренхіми яєчника на кіркову та мозкову речовину, відсутні фолікулярні елементи та жовті тіла. Натомість наявне розростання сполучної тканини,



Рис. 2. Щільна, горбиста поверхня яєчника через 223 доби після операції

2–3 мікроскопічних кісти з епітеліальним вистеленням (епітелій – місцями циліндричний, місцями плоский), причому пласти епітеліальних клітин місцями відшаровуються у порожнину кісти. Крім того, відсутня чітка межа між паренхімою яєчника та селезінки – тканина яєчника подекуди у вигляді тяжів заходить у паренхіму селезінки (рис. 3). Отже, на основі вищевикладеного, для структури яєчників цих шурів характерним є тканинний атипізм. Більш того, були виявлені й ознаки клітинного атипізму, який визначався у поліморфізмі величини та форми клітин, збільшенні розмірів ядер та їх гіперхромності, наявності поодиноких двоядерних клітин.

Що стосується інших 5 тварин, то їх яєчники були дещо більше вкриті жировою тканиною, розміри їх 7x5 мм, поверхня їх еластична, кістознозмінена (розміри кіст 2x1 до 3x2 мм) (рис.4).

Для структури яєчників цих 5-ти тварин II групи характерно: відсутність розмежування паренхіми яєчника на мозкову та кіркову речовину,



Рис. 3. Відсутність межі між паренхімою яєчника та селезінки, відсутність фолікулів у яєчнику шурів через 223 доби. Забарвлення гематоксилином та еозином, ок.х10, об. х20

наявність капсули навколо яєчника, від якої відходять СТ септи, що розділяють скупчення клітин, схожих на лютеоцити; серед цих скупчень візуалізуються сполучнотканинні рубці; під капсулою знаходяться атлетичні та, вірогідно, первинні фолікули (рис. 5). Також мали місце деякі елементи клітинного атипізму (двоядерні клітини, злиття клітин та їх ядер). Крім того, СТ між паренхімою селезінки та яєчника інфільтрована, вірогідно, лімфоцитами селезінки.

У нечисленних скупченнях клітин були виявлені ознаки гідропічної дистрофії та каріопікноз їх ядер, що може свідчити про порушення водно-електролітного та білкового обміну у яєчнику цих шурів. Вихід гідропічної дистрофії зазвичай несприятливий, бо настає колікваційний некроз клітини.

У 2 випадках у яєчнику шурів були знайдені поодинокі вторинні фолікули, в яких візуалізується фолікулярний епітелій, cumulus oophorus та кілька фолікулярних порожнин, причому, овоцит відсутній.

Отже, макроскопічні зміни корелюють з мікроскопічними: для значно збільшених, щільних, горбистих яєчників є характерним тканинний та клітинний атипізм та, можливо, деструкуючий ріст. У випадку переважання кіст у макроскопічній структурі, а жовтих тіл у мікроскопічній структурі яєчника більш характерними є дистрофічні прояви (гідропічна дистрофія, каріопікноз ядер).

Раніше нами було показано кілька варіантів розвитку трансплантату на селезінці. Наприклад, на 17-у добу після операції наявні атипові судинні розростання у білковій оболонці, нечисленні примордіальні фолікули з вираженою гіпертрофією фолікулярних клітин, відсутність або залишки овоциту у порожнині фолікулу. Фолікули розташовувались одиночно, попарно, переважно під капсулою яєчника; місцями зливалися з утворенням атипових клітинно-кістозних комплексів. В той же час, у меншій кількості тварин на тих самих строках спостерігали відсутність атипових судинних розростань, відсутність фолікулярних елементів, замість цього було виявлено значну кількість клітин, схожих на текалютеїнові, які мали в своїй цитоплазмі бурий або жовтуватий пігмент [11].

Так і на 75 добу, мікроскопічне дослідження показувало наявність або фолікулярних кіст з еозинофільним вмістом, або наявність кількох жовтих тіл у стадії розквіту, відмежованих одне від одного СТ септами, розростання СТ у трансплантаті [11].

У випадку наявності фолікулів без овоцитів, їх злиття, кістоподібні структури в яєчнику на 17-у добу, можна припустити появу фолікулярних кіст



Рис. 4. Кістознозмінений яєчник на 223-ю добу після операції

через 75 діб. Також припускаємо, що лютеїнізація текаподібних клітин у даному випадку може відбутися пізніше (на 17-у добу в яєчниках 6 щурів виявлені нечисленні клітини з бурим пігментом). Імовірно, що такий варіант розвитку трансплантату призводить до утворення фолікулярних кіст на 75-у добу.

Гістологічна картина у яєчнику щурів на 17-у добу (текаподібні клітини з бурим пігментом у цитоплазмі) відповідає описаній структурі яєчника на 15–20 добу в літературі. Вірогідно, на 75-у добу утворюються жовті тіла без фолікулярних кіст.

Повертаючись до терміну у 223 доби, можна зробити припущення, що фолікулярні кісти, знайдені на 75-у добу розвитку трансплантату, зазнають дистрофічних змін, фолікулярних епітелій перетворюється на атипові клітини з гіперхромними або двоядерними через 223 доби.

Так само, текаподібні клітини з пігментом у цитоплазмі (17-а доба) та потім жовті тіла у стадії розквіту (75-а доба) зазнають дистрофічних змін



Рис. 5. Жовті тіла, розмежовані СТ перетинками. Забарвлення гематоксилином та еозином, ок.х10, об. х10

(гідропічна дистрофія, каріопікноз ядер) на 223-ю добу, але без ознак клітинного атипізму та деструкуючого росту.

В цілому ж, мікроскопічна картина яєчника щурів на 223-ю добу схожа на зміни трансплантату 180–240-ої доби за даними літератури (особливо структура яєчників 4-х щурів з ознаками тканинного та клітинного атипізму) [9,12].

Висновки

1. Розвиток трансплантату яєчника може піти кількома шляхами. На всіх строках, включаючи 223 доби, спостерігається як мінімум 2 варіанти змін макро- і мікроскопічної структури яєчника, що можна пояснити фазою еструсового циклу в момент операції.

2. Через 223 доби розвитку трансплантату вдалося отримати явні передпухлинні стани з ознаками не тільки тканинного (порушення форми та співвідношення тканинних структур – відсутнє розмежування паренхіми яєчника на кіркову та мозкову речовину, відсутні фолікулярні елементи та жовті тіла; натомість наявне розростання сполучної тканини, 2–3 мікроскопічних кісти з епітеліальним вистеланням; відсутність чіткої межі між паренхімою яєчника та селезінки), а й клітинного атипізму (поліморфізм клітин, ядер, зміни ядерно-цитоплазматичного індексу в бік ядер, гіперхромність останніх, поява двоядерних клітин). В інших випадках мали місце дистрофічні зміни (гідропічна дистрофія, каріопікноз ядер) клітинних елементів жовтих тіл без ознак клітинного атипізму та деструкуючого росту.

3. Стосовно мікрооточення трансплантату після операції, то васкуляризація яєчника великим сальником не впливає на появу передпухлинних станів у яєчнику щурів. Попадання естрогенів у загальний кровообіг є неминучим. Істотним є не сам факт присутності естрогенів у крові щурів при даній методиці, а кількість гормонів у крові.

Перспективи подальших досліджень: 1) визначення концентрації ФСГ, ЛГ, ЛТГ, естрадіолу, прогестерону у крові щурів на різних строках після операції за методикою Biskind у модифікації; 2) вивчення гістологічної картини яєчника на проміжних строках; 3) корекція дисгормональних порушень, створених по методиці Biskind, для попередження розвитку передпухлинних станів у яєчнику щурів.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЯИЧНИКЕ КРЫС ЧЕРЕЗ 223 ДНЯ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ ПО МЕТОДИКЕ BISKIND В МОДИФИКАЦИИ

Шамрай Д. В., Мельник Н.А.

Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца

Резюме: изложена суть методики Biskind; определено, что развитие трансплантата яичника может пойти несколькими путями. На всех сроках, включая 223 дня, наблюдали как минимум 2 варианта изменений макро- и микроскопической структуры яичника, что можно объяснить фазой эструсового цикла в момент операции; описаны 2 варианта макроскопического строения и гистологической картины трансплантата яичника на поздних сроках (223 дня) после операции: 1-й – яичники раз мерами 11x5 мм, плотной консистенции, не содержат кист, поверхность их бугристая, микроскопически были выявлены признаки тканевого и клеточного атипизма, а также признаки деструктурирующего роста; 2-й – яичники размерами 7x5 мм, поверхность их кистозно изменена, микроскопически наблюдали дистрофические изменения (гидропическая дистрофия, карнопикноз ядер) клеточных элементов жёлтых тел без признаков клеточного атипизма и деструктурирующего роста; установлено, что васкуляризация яичника большим сальником не влияет на развитие предраковых состояний в яичнике крыс.

Ключевые слова: гормональный канцерогенез, предраковые состояния яичника, рак яичников, модель Biskind.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE OVARY OF RATS OVER 223 DAYS AFTER OPERATION ACCORDING TO UPDATED BISKIND'S MODEL

Shamray D., Melnik NA

O.O. Bohomolets National Medical University

Abstract. The authors have described essence of Biskind's model, 2 variants of the histological picture of an ovary transplant on the spleen on terms in 223 days: 1st - the size of ovaries is 11x5 mm, consistency was dense, without cysts, surface is hilly, microscopically infringement tissue structure, atypical cells and also signs of destruction growth are revealed; 2nd - the size of ovaries is 7x5 mm, their surface contains cysts, microscopically dystrophic changes of cellular elements of the corpus luteum are observed (without atypical cells and signs of destruction growth); also it is determined, that vascularization of the ovary by the gastrocolic omentum does not influence on appearance of precancerous conditions of the rats ovary.

Key words: hormonal carcinogenesis, precancerous conditions of the ovary, cancer of the ovary, Biskind's model.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Запорожан В.М. Генетика пухлин жіночих репродуктивних органів/ В.М. Запорожан, В.П. Пішак, О.П. Пересунько - Одеса: Одеський мед університет, 2004.-332с.
2. Татарчук Т.Ф. Эндокринная гинекология (клинические очерки) часть1/ Т.Ф. Татарчук, Я.П. Сольский - Киев: Заповіт.-2003.-304с.
3. Рак в Україні 2008-2009: Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби /Бюлетень національного канцер-реєстру України № 11/ www.ip telecom.net.ua/~ucr/
4. Павлова Т.Д. Онкогинекология/ Т.Д. Павлова, М. В. Князева, А. В. Прокопюк - Харьков: Каравелла, 2006.- 364с.
5. Павлова Т.Д. Рак яичников/Т.Д. Павлова//Международ.мед.ж.-1997.-Т.3, №3.
6. Глазунов М.Ф. Опухоли яичников/ М.Ф. Глазунов-М.: Медгиз.- 1961-336с.
7. Берштейн Л.М. Гормональный канцерогенез / Санкт-Петербург: Наука, 2000.-195с.
8. Берштейн Л. М. Роль экстагонадных эстрогенов и гормональный канцерогенез/ Л. М. Берштейн// Вестник РАМН.-1997.-№8.- С. 54-59.
9. Уколова М. А. Роль нейро-эндокринных нарушений в патогенезе опухолей яичника/ М. А. Уколова - М.:Медицина.-1972.- 248с.
10. Атаман А. В. Патофизиология в вопросах и ответах/ А.В. Атаман-Винница: Нова книга.- 2008.-540с.
11. Шамрай Д.В., Мельник Н.А. Морфологические изменения в яичнике и селезенке крыс на ранних сроках после операции по методике Biskind в модификации/ Д.В. Шамрай// Вісник проблем біології та медицини. - Полтава-2011.-Т.2, №2 - 324с.
12. Biskind M. S. Development of tumors in the rat ovary after transplantation into the spleen/ M. S. Biskind, G. R. Biskind //Proc. Soc. Exp. Biol. Med.- 1944.- Vol.55.- P.176.