

ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ САМИЦЬ ЩУРІВ ЗА УМОВ ФРАКЦІОНОВАНОГО ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Н.В.Діденко, О.Г.Черненко

*Науковий центр радіаційної медицини АМН України (Київ),
Інститут нейрохірургії АМН України (Київ)*

Вступ

Іонізуюче випромінювання викликає глибокі зміни у гормональній регуляції репродуктивної функції жінок [1, 2]. Необхідність застосування променевої терапії за наявності найбільш поширених серед жінок репродуктивного віку онкологічних захворювань, - пухлин головного мозку, молочної залози, раку легенів та хвороби Ходжкіна, призводить до стійкої оваріальної дисфункції [3]. Побічна дія радіотерапії щодо порушень репродуктивної функції фахівцям добре відома [4, 5]. Проте закономірності розвитку структурних порушень у формуванні дисфункції яєчників та пов'язаної з нею інфертильності за умов опромінення головного мозку, залишаються на сучасному етапі мало з'ясованими [6].

Мету проведеного експериментального дослідження складо визначення закономірностей морфофункціональних змін в гіпоталамо-гіпофізарно-гонадній системі за умов фракціонованого опромінення головного мозку.

Матеріал і методи дослідження

Експериментальні тварини (самиці щурів лінії Вістар, статевозрілі, масою 240-280 г), опромінені фракціоновано, -одноразова доза 2,0 Гр на головний мозок щодобово упродовж 5 діб (рентгенівський апарат "РУМ-17" (Росія), (напряга 180 кВ, сила струму 10 мА, відстань 40 см, фільтри 0,5 мм $Cu + 1,0$ мм Al , потужність експозиційної дози $2,09 \cdot 10^4$ Кл/(кг·с), отримали загальну дозу 10,0 Гр. Контролем слугували ложноопромінені тварини.

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Морфофункціональну характеристику стану гормонопродукуючих клітин аденогіпофіза та яєчника оцінювали за допомогою гістологічних, електронно-мікроскопічних та морфометричних методів дослідження у терміни 1, 3 та 6 міс після опромінення.

Для гістологічного дослідження вилучені шматочки досліджуваних тканин після фіксації у 15 % нейтральному формаліні заливали у парафінові блоки, з яких виготовляли мікромні зрізи товщиною до 10 мкм з наступним їх забарвлення гематоксиліном та еозином. Дослідження гістологічних препаратів проводилось за допомогою світлової оптики (ЛОМО ЕС Бимам Р-13). Електронно-мікроскопічне дослідження тканин проводили за стандартною методикою. Шматочки тканини фіксували в 2 % розчині глутаральдегіда, виготовленого на фосфатному буфері з рН 7,4 з наступною дофіксацією у 2 % розчині тетраоксиду осмію. Після зневоднення в спиртах висхідної міцності біоптати тканини заливали у епоксидні смоли. Для прицільної ультратомії і більш заглибленої оцінки дистрофічних змін, що мають місце, та клітинних елементів, виготовлялися напівтонкі зрізи товщиною до 1 мкм (1000 А) на ультрамікротомах ЛКБ і Рейхорт, фарбувалися толудіновим синім - піраніном і проглядалися на світлооптичному мікроскопі. Ультратонкі зрізи товщиною 400-600 А виготовлялися на ультрамікротомах ЛКБ і Рейхорт. Для підвищення контрастності ультратонкі зрізи фарбувалися уранілацетатом і нітратом свинцю за Рейнтгольдсу і проглядалися на електронному мікроскопі ЕМ-400 Т фірми "Філіпс" (Нідерланди).

Ідентифікація процесів, що визначалися в клітинах яєчника проводилася методом морфометричної обробки електроннограм за наступними показниками: відсоткове відношення хроматину визначалося з розрахунку 10 ядер на кожен досліджуваний випадок; відсоткове відношення площі, займаної мітохондріями, визначалося відношенням площі, займаної мітохондріями, до фіксованої ділянки цитоплазми клітини; відсоткове відношення площі, займаної ліпідними гранулами, визначалося відношенням площі, займаної ліпідними включеннями, до фіксованої ділянки цитоплазми клітини.

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики

Морфометрична оцінка електронограм проводилася на системному аналізаторі зображення ІБАС-2000 фірми "Kontron" (Німеччина).

Отримані результати та їх обговорення

Важливе значення має висока радіочутливість нейрогуморальної регуляції, що особливо яскраво проявляється в системі гіпоталамус-гіпофіз-гонади. Іонізуюче випромінювання здатне викликати моделюючий вплив на прямі та зворотні зв'язки типу тропний гормон-залоза-мішень, гормон-відповідна центральна структура, яка регулює діяльність залози і впливає водночас на різні компоненти системи або впливає вибірково на окремі її компоненти. Наші дослідження морфологічної структури у різні терміни після фракціонованого опромінення виявили у гіпоталамусі шурів зміни, що не мали специфічного характеру і проявлялись порушенням мікроциркуляції і різноманітними дегенеративно-дистрофічними ураженнями нейронів (нісселевська дегенерація, просте зморщення Шпильмейера, набрякові зміни, гостре набубнявіння, ішемічні ураження).

При фракціонованому опроміненні голови через 1 місяць після опромінення на тлі різкого набряку виникала розенталівська дистрофія нервових волокон. Спостерігається реактивний пікноз і гіперхроматоз ядер нейронів, поряд з цим виявляється і інша клітинна патологія (нісселевська дегенерація, просте зморщення Шпильмейера, набрякові зміни, гостре набубнявіння, ішемічні ураження). Відмічались дистрофічні зміни ендотелія, розпушення волокнистого субентотеліального матриксу та розшаруванням судинної стінки, субпіальні геморагії. Через 3 місяці зберігалися різні типи тяжких уражень нервових клітин, в окремих клітинах спостерігається нісселевська дегенерація, одночасно з хроматолізом відбувалось набубнявіння нейронів, з каріолізісом і некробіотичними змінами. В судинах мозкових оболонок відмічались дистрофічні зміни ендотелію з відшаруванням інтими, деградація і фрагментація внутрішньої еластичної мембрани, дистрофічні зміни в непокреслених міоцитах середньої оболонки судини з їх вакуолізацією. З часом (через 6 місяців) щільність розташування нейрональних еле-

ментів зменшувалась, виявлялись ділянки випадіння нервових клітин із замісним скупченням на цих місцях гліальних клітин (переважно мікроглії). Активація субепендимарної зони виявлялась незначною порівняно з іншими групами. В судинах мозкових оболонок спостерігались склеротичні зміни.

При фракціонованому опроміненні голови через 1 місяць після опромінення в тканині аденогіпофізу спостерігались значні розлади кровообігу з імбібіцією паренхіми залози кров'ю, порушення архітекtonіки трабекул, формування гематом з вогнищевими некробіотичними змінами аденоцитів, дистрофією клітин навколо уражених ділянок.

Через 3 місяці після опромінення виявляються чисельні аденоцити з дистрофічними змінами, відмічається відносно зменшення у популяції кількості ацидофілів. Подібні зміни реєструвалися навіть через 6 місяців після опромінення.

Через 1 місяць після фракціонованого опромінення головного мозку виявлялись помірні дистрофічні зміни фолікулярного епітелію фолікулів яєчників різних стадій визрівання (примордіальних, первинних, антральних і порожнистих вторинних), третинних фолікулів з ознаками деградації овоцита. З часом в мультиовоцитарних комплексах розвивались різноманітні патологічні зміни з нерівномірною проліферацією і дегенерацією фолікулярних клітин. Стінки артерій дрібного і середнього калібрів потовщувались за рахунок склерозу адвентиції і гіпертрофії м'язового шару з гіалінозом внутрішньої еластичної мембрани.

За нашими даними негативний вплив ІВ на яєчники проявлявся зменшенням кількості первинних фолікулів, ранніми дегенеративними змінами статевого синцитію (зменшення загальної потенційної кількості статевих клітин). Відбувались зміни кінетики різних етапів визрівання фолікулів (інтенсифікація процесів проліферації одночасно з активацією апоптозу, дистрофічні зміни фолікулярного епітелію). Променево-індуковані порушення мікроциркуляції призводили до дегенеративно-дистрофічних змін з наступним склерозом строми.

Електронномікроскопічне дослідження яєчника цілком підтвердило дані світлової мікроскопії. Насамперед, було відзна-

чено, що в основній масі внутріорганичних судин спостерігаються досить виразні деструктивні зміни ендотеліальної вистілки аж до порушення її цілісності (рис.).

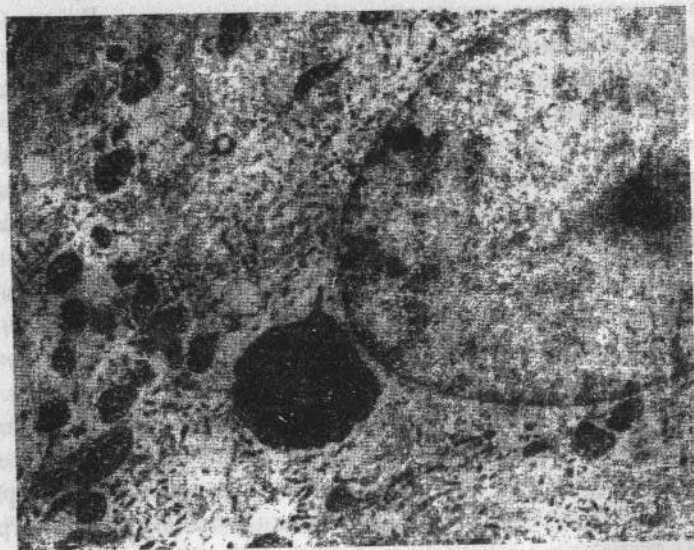


Рис. Дистрофічні зміни примордіальних та зростаючих фолікулів на тлі порушеного мікроциркуляторного кровообігу через 1 місяць після фракціонованого опромінення головного мозку самиці щура в дозі 10,0 Гр. Напівтонкий зріз. Фарбування метиленовим синім - піроніном, $\times 600$. Електроннограма $\times 13000$

На серії напівтонких зрізів були видні частково і цілком зруйновані примордіальні і зростаючі фолікули з порушенням цілісності клітин фолікулярного епітелію. При цьому спостерігаються досить виразні прояви перикапілярного набряку. У деструктивно зміненій цитоплазмі ендотеліоцитів видно змінені внутрішньоклітинні органели і різко знижена мікропіноцитозна активність. В основній масі фолікулярних клітин як примордіальних, так і зростаючих фолікулах, а також в текалютеїнових клітинах строми яєчника спостерігалися різного ступеня виразності дистрофічно-деструктивні зміни (таблиця).

Таблиця

Морфометричні показники стану внутрішньоклітинних органел у текалютеїнових клітинах яєчника після фракціонованого опромінення головного мозку самиць щурів у дозі 10,0 Гр

№	Органели	Контроль	1 місяць після опромінення	3 місяці після опромінення
1	Хроматин, % відношення	30,0 \pm 2,5	15,0 \pm 1,5*	19,0 \pm 2,0**
2	Мітохондрії, % відношення	35,0 \pm 3,0	17,0 \pm 2,0*	21,0 \pm 1,5**
3	Ліпіди, % відношення	20,0 \pm 2,0	31,0 \pm 1,5*	18,0 \pm 2,0**

Примітка: * - вірогідно щодо контролю; ** - вірогідно відносно 1 місяця після опромінення.

Якщо оцінювати морфофункціональний стан текалютеїнових клітин по відсотковому відношенню мітохондрій і активності ядерного хроматину, що є показниками енергопродукуючої і білоксинтезуючої функції цих клітин, а також вміст ліпідних включень, що характеризує синтез і екскрецію естрогена, упродовж 3 місяців після фракціонованого опромінення головного мозку тварин у дозі 10,0 Гр, то було встановлено, що через 1 міс після опромінення тварин спостерігається суттєве зниження величин всіх досліджуваних параметрів (див. таблицю).

Згідно отриманим морфометричним даним, через 1 місяць після опромінення головного мозку тварин у 2 рази зменшується відсоткове відношення хроматину в ядрах текалютеїнових клітин відносно контролю (30,0 \pm 2,5 % у нормі до 15,0 \pm 1,5 % через один місяць після опромінення). Більш ніж у 2 рази зменшується відсоткове відношення площі, займаної інтактними мітохондріями в цитоплазмі текалютеїнових клітин (з 35,0 \pm 3,0% до 17,0 \pm 2,0 %), що є вираженою статистично достовірною величиною. Водночас у 1,5 рази через місяць після опромінення збільшується відсоток площі, займаної ліпідними включеннями - з 20,0 \pm 2,0 % до 31,0 \pm 1,5 %, що є статистично достовірною величиною і відповідає підвищенню синтезу і

секреції естрогена, котрий бере активну участь у процесі розвитку фолікула II порядку (див. таблицю).

При морфометричному дослідженні внутрішньоклітинних органел текалютеїнових клітин через 3 місяці після опромінення було встановлено, що в порівнянні з терміном 1 міс після опромінення суттєвих змін не спостерігається. Що ж стосується ліпідних включень, то цей показник поступово зменшується до рівнів контролю через 3 міс після опромінення.

Висновки

1. Вплив іонізуючого випромінювання викликає зміни в паренхіматозній і стромальних складових ендокринних залоз і внутрішніх органах, як в гострий період так і у віддалені терміни.

2. При опроміненні патологічні зміни нейронів мають неспецифічний характер, зміни у мозковій речовині проявляються порушенням мікроциркуляції і дегенеративно-дистрофічними ураженнями нейронів.

3. Відбуваються фазові зміни морфології гіпофізу, що характеризуються в короткі після опромінення терміни формуванням псевдофолікулярних секреторних порожнин, у віддалені - зменшенням у популяції хромофільних і відносним збільшенням хромофобів.

4. Для радіаційного ураження яєчника характерні зміни кінетики різних етапів визрівання фолікулів (інтенсифікація процесів проліферації одночасно з активізацією апоптозу, дистрофічні зміни фолікулярного епітелію).

5. Променево-індуковані порушення мікроциркуляції у гіпоталамо-гіпофізарній системі та статевих залозах проявляються порушенням гормональної регуляції, які патогенетично пов'язані з окремими віддаленими нестохастичними ефектами.

Література

1. Ogilvy-Stuart A.L. *Effect of radiation on the human reproductive system* / A.L.Ogilvy-Stuart, S.M.Shalet // *Envir. Health Persp. Suppl.* - 1993. - Vol. 101 (Suppl.2). - P. 109-116.
2. Дубчак А.Є. *Прогнозування, профілактика та лікування порушень репродуктивної функції жінок, які зазнали радіаційної дії внаслідок аварії на ЧАЕС* : автореф. дис. на

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

здобуття наук.ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.01.01 - "Акушерство та гінекологія" / А.Є. Дубчак. - К., 2001. - 40 с.

3. Wallace W.H.B. *The radiosensitivity of the human oocyte* / W.H.B.Wallace // *Hum. Repro.* - 2003. - Vol. 18, № 1. - P. 1838-1844.

4. Gleeson H.K. *The impact of cancer therapy on the endocrine system in survivors of childhood brain tumors* / H.K. Gleeson, S.M. Shalet // *Endocrine-Related Cancer.* - 2004. - Vol. 11. - P. 589-602.

5. Darzy K.H. *Hypopituitarism following radiotherapy* / K.H.Darzy, S.M.Shalet // *Pituitary.* - 2008. - Vol.2. - P.112-119.

6. Ginsburg E.S. *In vitro fertilization for cancer patients and survivors* / E.S.Ginsburg, E.H.Yanushpolsky, K.V.Jackson // *Fertil. Steril.* - 2001. - Vol. 75 (4). - P. 705-710.

Резюме

Діденко Н.В., Черненко О.Г. *Гормональна регуляція репродуктивної функції самиць щурів за умов фракціонованого гамма-опромінення головного мозку.*

В експерименті досліджені особливості морфофункціональних змін в гормонопродуруючих клітинах яєчника та аденогіпофізу самиць щурів після фракціонованого гамма-опромінення головного мозку в дозі 10,0 Гр.

Ключові слова: іонізуюча радіація, аденогіпофіз, яєчник.

Резюме

Діденко Н.В., Черненко О.Г. *Гормональная регуляция репродуктивной функции самок крыс при фракционированном гамма-облучении головного мозга.*

В эксперименте исследованы особенности морфофункциональных изменений в гормонпродуцирующих клетках яичника и аденогипофиза самок крыс после фракционированного гамма-облучения головного мозга в дозе 10,0 Гр.

Ключевые слова: ионизирующая радиация, аденогипофиз, яичник.

Summary

Dydenko N.V., Chernenko O.G. *Hormonal regulation for reproductive function in female rats after fractional whole brain irradiation*

Peculiarities of morpho-functional changes in the hormone producing cells of ovary and adenohypophysis were studied experimentally in female rats after fractional whole brain irradiation by 10,0 Gy.

Key words: ionizing radiation, adenohypophysis, ovary.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М.Смірнов

Екологічні аспекти сучасної біології та медичної генетики