

УДК 612.621:612.82:591.147.599.23:612.014.48

ВПЛИВ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЕННЯ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ГІПОФІЗАРНО-ГОНАДНОЇ СИСТЕМИ САМОК ЩУРІВ

Л. П. Дерев'янко¹, В. В. Тально¹, Н. П. Атаманюк¹, О. Г. Черненко²,
А. М. Яніна¹, Н. В. Діденко¹, Н. К. Родіонова¹

¹ДУ "Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України", м. Київ

²ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України", м. Київ

Ключові слова: іонізувальне випромінювання, щури-самки, аденогіпофіз, яєчники.

Регуляція і координація багатопланових функцій жіночої статевий системи здійснюється так званою жіночою репродуктивною віссю, яка включає гіпоталамус, гіпофіз, яєчники і матку. Зміни, що відбуваються на різних рівнях цієї осі, визначають ступінь гормональних порушень і репродуктивної функції як при старінні, так і за умов дії на організм несприятливих чинників зовнішнього середовища, зокрема, іонізуючого випромінювання. В оцінці доз опромінення, які призводять до загибелі фолікулів яєчника, дотепер немає одностайної думки [1–3].

Метою роботи було дослідження морфофункціонального стану гіпофізарно-гонадної системи самок щурів в динаміці після одноразового тотального опромінення в дозах 2,0 та 6,0 Гр.

Матеріал і методи дослідження. Об'єктом дослідження були статевозрілі білі лабораторні щури-самки масою 150–170 г. Тварин утримували у віварії на стандартному комбікормі для щурів. До початку експериментів тварин було поділено на 3 групи: група 1 — контроль (інтактні тварини); група 2 — тварини, які були опромінені одноразово тотально у дозі 2,0 Гр; група 3 — тварини, опромінені одноразово тотально у дозі 6,0 Гр. Тварин опромінювали на рентгенівському апараті "РУМ-17" (Росія), (напруга 200 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) в дозах 2,0 та 6,0 Гр. Через 7, 14, 30 та 90 діб після опромінення щурів забивали методом декапітації гільйотиною. Контрольні тварини були відповідної статі, віку і маси. Для гістологічного дослідження відразу після декапітації тварин вилучали на холоді аденогіпофіз та яєчники. Шматочки тканин фіксували в 15% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах висхідної міцності і заливали в парафінові

блоки, з яких виготовляли на мікротомі зрізи товщиною до 10 мкм з наступним їх забарвленням гематоксиліном та еозином [4]. Дослідження гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопу (ЛОМО ЕС Бимам Р-13, Росія).

Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики [5, 6].

Результати досліджень. Морфологічними дослідженнями було показано, що гонадотропоцити аденогіпофіза контрольних тварин мали звичайну будову. Вони були невеликими або середніми за розміром, округлої чи овальної форми, ядро було зміщеним ближче до одного з боків з просвітленням в центральній частині (рис. 1).

Після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 2,0 Гр через 7 діб в аденогіпофізі зберігалась типова сітчаста будова аденогіпофізу, але при цьому спостерігалось розширення міжтрабекулярних просторів за рахунок набряку інтерстиціальної тканини з розпушенням її волокнистих структур. Чисельні синусоїдні капіляри мали підвищене кровонаповнення. Топографія і співвідношення різних субпопуляцій аденоцитів були відносно сталими та подібні до контрольної групи, але відмічалось формування дрібних псевдофолікулярних секреторних порожнин між аденоцитами, переважно у периферійних відділах трабекул (рис. 2-А).

Через 30 діб після опромінення зберігався помірний інтерстиціальний набряк з розпушенням стромальних структур і розширенням перитрабекулярних просторів. Зсув клітинного складу передньої долі аденогіпофіза характеризувався відносним збільшенням вмісту ацидофільних клітин, серед яких зустрічались округлі, овальні клітини середніх розмірів і полігональні клітини з ексцентричним розташуванням ядра. В окремих клітинах визначались форми мітотичного поділу (деформована асиметрична метафазна пластинка, телофаза).

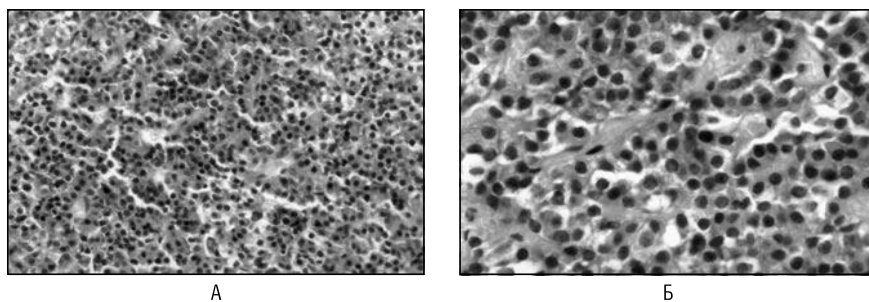


Рис. 1. Аденогіпофіз самки щура (контроль). Забарвлення гематоксиліном та еозином (А×200; Б×400).

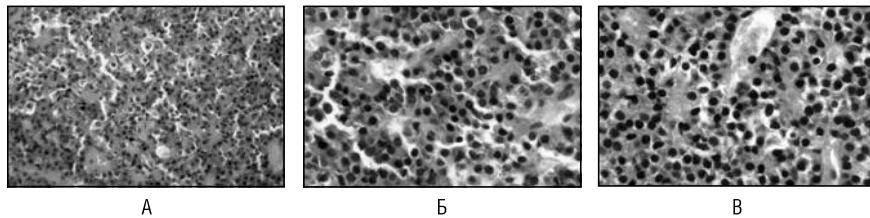


Рис. 2. Аденогіпофіз самки щура після одноразового тотального опромінення в дозі 2,0 Гр. А — через 7 діб після опромінення; Б — через 30 діб після опромінення; В — через 90 діб після опромінення. Забарвлення гематоксилином та еозином (А×200; Б×400; В×400)

Порівняно з контрольним зразком, частіше зустрічались овальні, невеликі клітини, з базофільним забарвленням цитоплазми, зі зміщенням до одного з полюсів ядром (рис. 2-Б).

Через 90 діб після опромінення відмічалось повнокрів'я синусоїдних капілярів з невеликими вогнищами інтерстиціального набряку, просоченням у розширені перитрабекулярні простори плазматичної рідини. Трабекули мали типову структуру та були оточені ніжною, пухкою, волокнистою тканиною. Спостерігалось відносне збільшення у популяції аденоцитів передньої долі гіпофіза хромофобних клітин, одночасно зі зменшенням кількості ацидофілів (рис. 2-В).

Через 7 діб після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 6,0 Гр виникало різке повнокрів'я синусоїдів, з ознаками стазу, периваскулярним просоченням гомогенної рожевої рідини та виходом еритроцитів за межі кровоносного русла з діapedезними крововиливами у перисинусоїдних та перитрабекулярних просторах (рис. 3-А).

Через 30 діб після опромінення зберігалось помірне повнокрів'я синусоїдних капілярів, вогнища інтерстиціального набряку з просоченням у розширені перитрабекулярні простори плазматичної рідини. Зміни паренхіми залози були неоднорідні: місцями спостерігалось формування дрібних псевдофолікулярних секреторних порожнин між аденоцитами, переважно у периферійних відділах трабекул. На інших ділянках, ближче до центру трабекул, відмічалось деяке зменшення у популяції аденоцитів хромофільних клітин (рис. 3-Б). Через 90 діб після опромінення спостерігалось відносне збільшення хромофобних клітин у популяції аденоцитів передньої долі гіпофіза одночасно зі зменшенням кількості ацидофілів. Серед трабекул виявлялись дрібні гіалінові грудки — “клітини” Крука (рис. 3-В).

Яєчники самок щурів контрольної групи мали типову гістологічну будову (рис. 4-А). Через 7 діб після одноразового тотального опро-

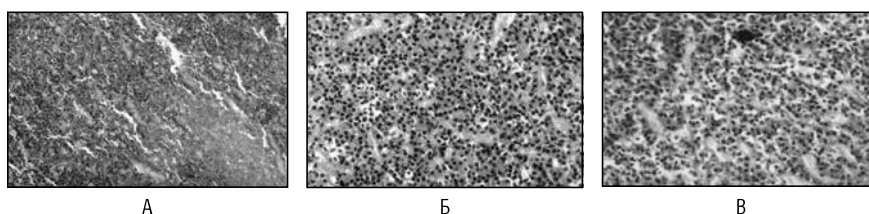


Рис. 3. Аденогіпофіз самки щура після одноразового тотального опромінення в дозі 6,0 Гр. А — через 7 діб після опромінення; Б — через 30 діб після опромінення; В — через 90 діб після опромінення. Зabarвлення гематоксиліном та еозином $\times 200$

мінення самок щурів в дозі 2,0 Гр в окремих вторинних фолікулах виявлялись овоцити у стані гострого набубнявіння. Відмічали клітини гранульози з різкою вакуолізацією, ущільненням і деградацією хроматину, масивним каріорексисом і дифузним розпиленням у порожнині фолікула базофільних ядерних фрагментів у порожнині фолікула. В третинних фолікулах відмічалось вогнищеве відшарування від базальної мембрани високого призматичного фолікулярного епітелію, який поступово сплющувався і злущувався в порожнину граафова пухирця, яка була виповнена рожевим неоднорідним преципітатом. Яйценосний пагорбок у багатьох фолікулах відшаровувався від гранульози і не містив овоциту. Привертала увагу чисельність атретичних фолікулів різної морфології. Тека фолікулів була витонченою, її внутрішній шар — ущільнений, бідний інтерстиціальними клітинами (рис. 4-Б).

Через 30 діб після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 2,0 Гр білкова оболонка яєчника потовщувалась, розшаровувалась за рахунок набряку і була з ознаками метахромазії та контурованості волокон. У гермінативному епітелії спостерігались дис-

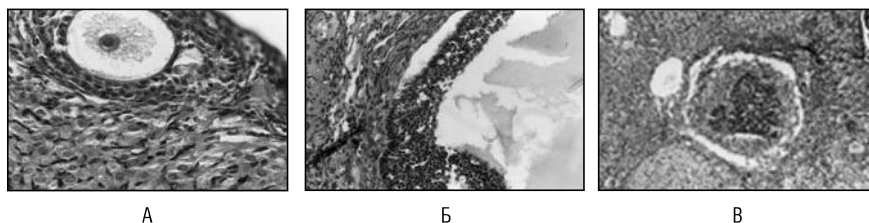


Рис. 4. Яєчник самки щура після одноразового тотального опромінення в дозі 2,0 Гр. А — контроль; Б — через 7 діб після опромінення; В — через 30 діб після опромінення. Зabarвлення гематоксиліном та еозином: А $\times 400$; Б $\times 200$; В $\times 200$

трофічні зміни — округлення клітин, нерівномірне просвітлення ядра, базофілія цитоплазми. Частково відмічались багатошарові скупчення гермінативного епітелію. Характерним було різке повнокрів'я судин кіркового і мозкового шарів зі стазом капілярів, навколо яких групувались клітини статевого синцитію. В клітинах статевого синцитію спостерігався гіперхроматоз ядер при помірному анізоморфізмі клітин. Кількість примордіальних фолікулів була різко скорочена (рис. 4-В).

Через 90 діб після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 2,0 Гр відмічали зменшення виразності мікроциркуляторних розладів. Виявляли поодинокі примордіальні фолікули, оточені одним шаром плоского фолікулярного епітелію, і первинні фолікули з двошаровою гранулозою, які містили овоцити. Фолікулярний епітелій в цих випадках мав помірні дистрофічні зміни, контури клітин залишались дещо округлені. У цитоплазмі виявляли вогнищеві, переважно перинуклеарні просвітлення. Одночасно відмічали чисельні порожнисті фолікули неправильної округлої форми в порожнині яких знаходилися скупчення незмінених еритроцитів.

Через 7 діб після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 6,0 Гр відмічали значне потовщення і розшарування білкової оболонки з метакромазією волокон. Спостерігалось значне повнокрів'я судин, тяжка ступінь розладів мікроциркуляції з різким розширенням периваскулярних просторів мозкового і кіркового шарів, виходом поза межі судинного русла плазматичної рідини та її периадвентиційне поширення між волокнистими елементами строми у кірковому і мозковому шарах з розшаруванням їх структур. Відмічали діапедезне периваскулярне просочення крові, вогнища геморагії (рис. 5-А).

Через 30 діб після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 6,0 Гр відмічали потовщення білкової оболонки за рахунок склеротичних змін із звивистими шаруватими контурами. Відмічалось зменшення кровонаповнення судин, набряк інтерстиціальної тканини, виразні дистрофічні зміни статевого синцитію з ущільненням і пікнозом окремих клітин. У більшості примордіальних і первинних фолікулів спостерігались атрофічні зміни. Стінку вторинного порожнистого фолікулу утворювали чисельні нерівномірні шари фолікулярного епітелію. Фолікулярні клітини були поліморфні, частина з них — це дрібні полігональні елементи зі щільними гіперхромними ядрами, інші — збільшені клітини з чіткими контурами за рахунок інтенсивного накопичення барвника у мембрані, округлими ядрами з дисперсним розподілом хроматину (рис. 5-Б).

Через 90 діб після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозі 6,0 Гр зберігались виразні дистрофічні зміни клітин статевого

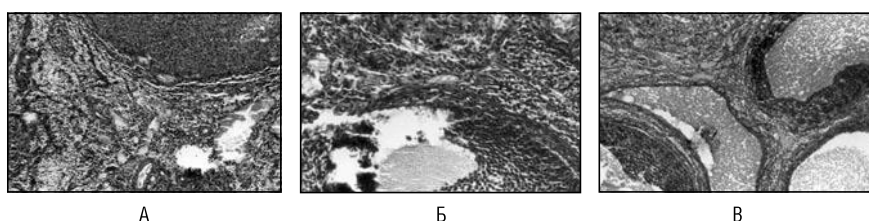


Рис. 5. Яєчник самки щура після одноразового тотального опромінення в дозі 6,0 Гр. А — через 7 діб після опромінення; Б — через 30 діб після опромінення; В — через 90 діб після опромінення. Забарвлення гематоксилином та еозином $\times 200$

синцитію. Зустрічались поодинокі первинні фолікули, у порожнинах яких знаходився масивний проліферат фолікулярного епітелію. Пухирцеві фолікули мали неправильну форму, (бобовидні, щільоподібні), із сплющеною витонченою гранульозою, яка була утворена одним шаром плоских клітин, з атрофією теки (рис. 5-В).

Висновки:

1. Після одноразового тотального опромінення самок щурів в дозах 2,0 і 6,0 Гр виявлені дозозалежні морфофункціональні зміни в гормонотворюючих клітинах аденогіпофіза та яєчниках самок щурів у віддаленому періоді (90 діб) після опромінення.

2. Зміни в гіпофзарно-гонадній системі за даних умов опромінення можуть бути причиною порушення гормональної регуляції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Sex-specific differences in fetal germ cell apoptosis induced by ionizing radiation [Text] / M. J. Guerin [et al.] // Hum. Reprod. — 2009. — Vol. 24, № 3. — P. 670–678.
2. Ovarian function in young women after anticancer treatment in childhood [Text] / M. Krawczuk-Rybak [et al.] // Med. Wieku. Rozwoj. — 2008. — Vol. 12. — P. 1028–1034.
3. Адамян, Л. В. Репродуктивная функция у онкологических больных. Как сохранить возможность иметь детей [Текст] / Л. В. Адамян, К. И. Жордания, С. М. Белобородов // Вопр. онкологии. — 2004. — Т. 50, № 3. — С. 279–292.
4. Волкова, О. И. Основы гистологии с гистологической техникой: уч. пособие [Текст] / О. И. Волкова, Ю. К. Елецкий. — М.: Медицина, 1982. — 304 с.
5. ГОСТ 8.207-76 Прямые измерения с многократными наблюдениями. Методы обработки результатов наблюдений [Текст]. — Л.: Изд-во стандартов., 1985. — 10 с.
6. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — 2-е изд. — К.: МОРИОН, 2001. — 408 с.

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ
НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ
ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДНОЙ СИСТЕМЫ САМОК КРЫС**

*Л. П. Деревянко¹, В. В. Талько¹, Н. П. Атаманюк¹, О. Г. Черненко²,
А. Н. Янина¹, Н. В. Диденко¹, Н. К. Родионова¹*

¹ГУ “Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины”, г. Киев

²ГУ “Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова НАМН Украины”, г. Киев

Проведены исследования влияния ионизирующего излучения в дозах 2,0 и 6,0 Гр на морфофункциональное состояние гиповизарно-гонадной системы половозрелых самок крыс в динамике (7, 14, 30 и 90 суток). Выявлены морфофункциональные изменения в гормонопродуцирующих клетках яичника и аденогиповиза после тотального однократного облучения самок крыс в дозах 2,0 и 6,0 Гр в отдаленный период наблюдения (90 суток). Влияние ионизирующего излучения на яичники проявилось дозозависимым уменьшением количества первичных фолликулов, ранними дегенеративными изменениями полового синцития, изменением кинетики разных этапов созревания фолликулов (одновременно с интенсификацией процессов пролиферации наблюдали активизацию апоптоза и дистрофические изменения эпителия). Выявленные изменения регистрировались в участках нарушенного микроциркуляторного кровообращения. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях в гиповизарно-гонадной системе животных при данных условиях облучения которые могут быть причиной нарушения гормональной регуляции.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, крысы-самки, аденогиповиз, яичники.

**IONIZING RADIATION INFLUENCE ON MORPHOFUNCTIONAL
STATE OF PITUITARY-GONADAL SYSTEM OF FEMALES RATS**

*L. P. Derevianko¹, V. V. Talko¹, N. P. Atamaniuk¹, O. G. Chernenko²,
A. M. Yanina¹, N. V. Didenko¹, N. K. Rodionova¹*

¹SI “National Research Center for Radiation Medicine

National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv

²The State Institution “Institute of Neurosurgery

named by acad. A. Romodanov National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv

Studies of ionizing radiation influence in doses 2.0 and 6.0 Gy on morphofunctional state of pituitary-gonadal system of matured females rats were conducted in dynamics (7, 14, 30 days). Morphofunctional changes in hormonproducing ovary and adenopituitary cells after total single irradiation of females rats in doses 2.0 and 6.0 Gy in remote period of observation (90 days) were found. Influence of ionizing radiation on ovaries showed itself to be doses dependent indecrease of the primary follicles quantity, in early degenerative changes of sex syncitium, in follicles ripening kinetics of different stages changes. Simultaneously with proliferation processes intensification apoptosis and dystrophic epithelium changes were stirred up. These changes were found in the places of disturbed microcirculatory blood flow. Obtained results evidence changes in pituitary-gonadal system of animals in the described conditions of irradiation, wheach lead to disturbances of hormonal regulation.

Key words: ionizing radiation, females rats, adenopituitary, ovaries.