

УДК: 612.014.46:[616.432+618.11]-018-085.356-092.9

DOI: 10.15587/2519-8025.2017.103887

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ГІПОФІЗАРНО-ЯЄЧНИКОВОЇ СИСТЕМИ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА НЕГОРМОНАЛЬНОЇ КОРЕКЦІЇ

© Н. Б. Гринцова, А. М. Романюк

Експериментальне дослідження проведено на 30 білих статевозрілих щурах-самицях, котрим моделювався мікроелементоз та проводилася корекція виявлених перебудов в системі гіпофіз-яєчники вітаміном Е. Дослідження гормонального статусу з використанням автоматичного хемілюмінесцентного імунологічного аналізу. Функціональний стан гіпофіза та яєчників зазнає змін динаміки секреторної активності та фазності протікання загального адаптаційного синдрому

Ключові слова: аденогіпофіз, яєчники, фолікулостимулюючий гормон, прогестерон, естрадіол, лютеонізуючий гормон, важкі метали

1. Вступ

Однією з найбільш гострих глобальних екологічних проблем сучасності є проблема забруднення навколишнього середовища. Провідне місце займають важкі метали, що надходять в основному в навколишнє середовище в результаті діяльності людини. Важкі метали розглядаються як фактор, що несе важкі екологічні та біологічні наслідки. Важкі метали, завдяки міграційній здатності, схильності до біоаккумуляції та специфічності токсичної дії виявляють загрозу для здоров'я людей та тварин [1]. У Сумській області в окремих районах знайдено підвищене накопичення в ґрунті та питній воді солей цинку, хрому, свинцю, марганцю, міді та заліза, які можуть бути в різних комбінаціях і концентраціях і зумовлювати несприятливий вплив на здоров'я населення цих регіонів [2].

2. Літературний огляд

Впливу важких металів на нервову, серцево-судинну, ендокринну та інші системи організму піддослідних тварин і експонованих людей присвячені роботи вітчизняних і зарубіжних авторів [1–4]. Останніми роками увага дослідників все більше приділяється проблемам, що пов'язані з морфологією органів репродуктивної системи, як в нормі, так і за умов впливу різних факторів в експерименті, адже статеві системи є чутливі до будь-яких змін у навколишньому середовищі [3]. На сьогоднішній час вивчено вплив кадмію на репродуктивну та ендокринну системи. Встановлено, що кадмій належить до деструкторів ендокринної системи і здатний проявляти естрогенну й андрогенну активність [5]. У зв'язку з цим надходження катіонів металу спричиняє порушення діяльності репродуктивних органів людини і тварин, впливає на процеси запліднення, імплантації й розвитку ембріона [5]. У одній з робіт українських вчених досліджено вплив мікроелементів певних металів та їх наноформ на здоров'я людини взагалі та особливо репродуктивну функцію і ембріогенез [6]. Актуальним, на погляд авторів, також є дослідження по вивченню будови внутрішніх органів репродуктивної системи статевозрілих щурів

самців після тривалого впливу на організм епіхлоргідрину. Встановлено, що при отруєнні епіхлоргідрином розвиваються порушення ендокринного статусу експериментальних тварин, що проявляються в помітному гальмуванні сперматогенезу на рівні утворення сперматид. Гонадотоксична дія епіхлоргідрину проявляється у зменшенні в тестікулярній тканині кількості спермій та клітин різних етапів сперматогенезу [3]. Із літературних джерел відомо про активацію клітин Лейдига сім'яників статевозрілих щурів-самців в умовах впливу солей важких металів [7] та про участь тестостерона у стресорних реакціях [8]. Аналіз даних наукової літератури показав, що вплив важких металів і сполук свинцю призводить до порушення роботи багатьох систем органів і репродуктивної системи. Найбільш часто виявляються наслідки дії важких металів на органи репродукції [1]. Але дані дослідження проводилися з використанням високих і середніх доз важких металів в експериментах. На сьогоднішній час не в повному обсязі вивчено вплив низьких і наднизьких доз металів, максимально наближених до природного фону їх вмісту в екосистемах.

3. Мета та задачі дослідження

Мета дослідження – вивчення функціональних особливостей гіпофізарно-яєчничкової системи щурів-самиць за умов довготривалого впливу комбінації низьких доз солей важких металів та негормональної корекції вітаміном Е.

Для досягнення мети були поставлені наступні задачі:

1. Визначити функціональний резерв репродуктивної панелі гіпофізарно-яєчничкової системи контрольних тварин.

2. Визначити функціональний резерв репродуктивної панелі гіпофізарно-яєчничкової системи експериментальних тварин на 30, 60 та 90 добу експеримента.

3. Визначити функціональний резерв репродуктивної панелі гіпофізарно-яєчничкової системи експериментальних тварин за умов корекції виявлених змін вітаміном Е.

4. Матеріал та методи дослідження

Експеримент проведений на 30 білих статевозрілих щурах-самичках масою 200–230 г, віком 5–7 місяців, що були розподілені на 5 груп (1 контрольну та 4 експериментальних, по 6 тварин у кожній групі). Щурі контрольної групи (К) утримувалися в звичайних умовах віварію. Тварини 3-х експериментальних груп (ВМ1-3) на протязі 30, 60 та 90 діб відповідно вживали звичайну питну воду, насичену комбінацією солей важких металів: цинка ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 мг/л, міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганця ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинця ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л та хрома ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. Четверту експериментальну групу (Е) склали тварини, які на протязі 30-ти діб (після 90-то денного терміну вживання комбінації солей важких металів) отримували до стандартного раціону вітамін Е (а-токоферол ацетат) у формі 10 % масляного орального розчину. Підбір та розрахунок дози препарату здійснювали виходячи із середньої терапевтичної добової дози для дорослих, що становить 100 мг на добу (30 крапель 10 % розчину). Розрахунок дози для щурів проводили з урахуванням рекомендацій Р. С. Риболовлева та Ю. Р. Риболовлева згідно формули [9]. Доза для щура = $r \times$ Доза для людини / R, де r – коефіцієнт видової витривалості для щура, $r=3,62$, R – коефіцієнт видової витривалості для людини, $R=0,57$. Групи піддослідних тварин виводилися з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом на 30, 60, 90 та 120 добу від початку експерименту, у відповідності до положень Європейської конвенції з захисту хребетних тварин для здійснення експериментальних і наукових завдань (Страсбург, 1986), а також "Загальних етичних правил експериментів над тваринами", затверджених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001, Україна). Функціональний стан гіпофіза та репродуктивної системи оцінювали шляхом визначення у сироватці периферійної крові дослідних тварин (методом ІФА) наступних гормонів: лютеонізуючого гормону (ЛГ), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), прогестерону та естрадіолу. Рівень ЛГ (мМОд/мл), ФСГ (мМОд/мл), прогестерону (нмоль/л) та естрадіолу (пмоль/л) визначався з використанням наборів реагентів фірми Siemens (серії 324,325, 329 – для ЛГ, серії 356,362 – для ФСГ, серії 240,241,247 – для прогестерону та серії 359, 365 – для естрадіолу) на автоматичному імунохемолумінесцентному аналізаторі Immulite 1000 Siemens Healthcare Global (Siemens, США). Забір крові у щурів проводили шляхом пункції хвостової вени безпосередньо перед декапітацією, в ранковий час, з 6 до 8 годин з урахуванням фаз естрального циклу. Кров забирали в пробірки, центрифугували 20 хв. при +4 °C (1000 g), після чого здійснювали відбір сироватки. Всі зразки були проаналізовані в двох повторях. Статистична обробка даних здійснювалася у пакеті програм "Statistica 8.0", з використанням критерію Стьюдента-Фішера. Значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

5. Результати досліджень та їх обговорення

Аналізуючи функціональний резерв репродуктивної панелі гіпофізарно-яєчникової системи під-

дослідних тварин та її чутливості до впливу комплексу солей важких металів встановлено наступне: рівень ЛГ у сироватці крові інтактних щурів та піддослідних тварин на 30, 60 та 90-ту добу експерименту залишався практично незмінним і мав показники $< 0,1$ мМОд/мл. У тварин V експериментальної групи, що отримували в якості коректора вітамін Е, прослідковується підвищення рівня секреції ЛГ гіпофізом на 41 % відносно показників контрольних тварин, але цей показник не є достовірним ($p \geq 0,05$). В результаті 30-ти денної дії на організм піддослідних тварин комплексу солей важких металів концентрація ФСГ підвищилася в 2,09 разів ($p \geq 0,05$), але на всіх наступних термінах рівень ФСГ знижувався до показників контрольних тварин. Рівень прогестерона після впливу солей важких металів на 30-ту та 60-ту добу досліду зазнає динамічного зниження, відповідно, у 2 рази ($p < 0,001$, $t=13,77418$) та у 2,44 рази ($p < 0,001$, $t=9,838906$) в порівнянні з контролем. На 90-ту добу експерименту вміст прогестерона в сироватці крові підвищується стосовно показників тварин 60-ти денного терміну у 2 рази ($p < 0,001$, $t=6,422474$), але все ж залишається меншим за показники контрольних тварин у 1,2 рази ($p < 0,001$, $t=3,731171$). Значне підвищення рівня прогестерона відмічається у тварин V експериментальної групи, що отримували в якості коректора вітамін Е. Рівень прогестерона підвищився в 1,46 разів у порівнянні з показниками контрольних тварин ($p < 0,001$, $t=12,68615$) та у 1,78 разів у порівнянні з показниками тварин IV експериментальної групи ($p < 0,001$, $t=14,80407$). Солі важких металів чинять негативний вплив на секрецію яєчникового естрадіола. Так, рівень цього стероїдного гормону на 30-ту та 60-ту добу досліду зазнає динамічного зниження у порівнянні з показниками контрольних тварин у 3,44 рази ($p < 0,001$, $t=75,43049$). На 90-ту добу експерименту рівень цього статевого гормону все ж несуттєво підвищується у 1,34 рази ($p < 0,001$, $t=10,0$) у порівнянні з показниками тварин III гр.(60-ти денний термін досліду), але все ж залишається меншим за показники контрольних тварин у 2,56 разів ($p < 0,001$, $t=44,41311$).

У тварин V експериментальної групи, що отримували в якості коректора вітамін Е, відмічається зниження рівня естрадіолу у 3,44 рази ($p < 0,001$, $t=75,43049$) в порівнянні з показниками інтактних тварин та у 1,34 рази ($p < 0,001$, $t=10,0$) у порівнянні з показниками тварин IV гр., 90-то денного терміну експерименту (табл. 1).

В результаті проведених імуноферментних досліджень встановлено, що функціональний стан гіпофіза та яєчників експериментальних тварин зазнає функціональних змін в контексті перебігу загального адаптаційного синдрому. Опираючись на результати власних досліджень та літературні дані [4] можливо стверджувати, що аденогіпофіз та яєчники експериментальних тварин реагують на вплив комплексу солей важких металів певною динамікою секреторних змін, що мають фазність протікання. Так, аденогіпофіз реагує 3 фазами:

1. Реактивна фаза – підйом секреторної активності фолікулостимулюючих гонадотропоцитів – перші 30 діб експерименту;

2. Фаза різкого зниження секреторної діяльності гонадотропоцитів аденогіпофіза – 60-та доба експеримента;

3. Латентна фаза – характеризується тенденцією подальшого зниження секреторної діяльності гонадотропоцитів – 90-та доба експерименту.

Таблиця 1
Результати визначення гормонів у сироватці крові експериментальних та контрольних тварин ($M \pm m$), $n=6$

Показник	Вміст гормонів у сироватці крові			
	ЛГ мМОд/мл	ФСГ мМОд/мл	Прогестерон нмоль/л	Естрадіол пмоль/л
Контрольні тварини I гр.	<0,1	<0,1	69,6±2,042	253,0±2,381
Експерим. тварини II гр. (BM1)	<0,1	0,209±0,109	34,7±1,5***	<73,4***
Експерим. тварини III гр. (BM2)	<0,1	<0,1	28,45±3,65***	<73,4***
Експерим. тварини IV гр. (BM3)	<0,1	<0,1	57,25±2,605***	98,7±2,53***
Експерим. тварини V гр. (E)	0,141±1,527	<0,1	102,3±1,573***	<73,4***

Примітка: різниця між показниками контролю та експерименту * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** – $p \leq 0,001$

Яєчник реагує на вплив важких металів наступними перебудовами у стероїдогенезі, що мають 2-х фазний характер:

1. Фаза різкого зниження секреторної діяльності фолікулярних клітин та лютеоцитів жовтого тіла – 30–60-та доба експерименту;

2. Фаза часткового відновлення секреторної активності яєчника-90-та доба досліджу.

Аналізуючи стан секреторної активності гонадотропоцитів аденогіпофіза та ендокриноцитів яєчника у тварин, що отримували в якості коректора вітамін Е необхідно відмітити, що він достовірно відрізняється від аналогічних показників контрольних тварин. Зважаючи на літературні [4] можливо стверджувати, що в період адаптації та прийому препарата-коректора у досліджуваних органах відбуваються процеси утворення нових якісних та кількісних рівнів їх функціонування та організму в цілому. Так, відмічено позитивний вплив вітаміну Е на перебіг другої фази естрального циклу статевозрілих самок-щурів: активується робота гонадотропоцитів гіпофіза, що продукують лютропін. Кількість циркулюючого в крові ЛГ більше на 41 % відносно показників контрольних тварин. Прослідковується позитивний зворотний зв'язок між збільшенням рівня ЛГ в крові і підвищенням рівня секреції прогестерона лютеоцитами жовтого тіла яєчників в 1,46 разів у порівнянні з показниками контрольних тварин. Отримані результати корелюють з фармакологічними властивостями

препарата-коректора (вітаміна Е), що анонсовані в інструкції до використання препарату виробником, а також даними [10], згідно яких, в цілому по своїй дії, вітамін Е подібний прогестерону [9]. В той самий час, вітамін Е не виявляє властивостей коректора що до нормалізації регуляції гіпофізом першої фази естрального циклу у щурів.

6. Висновки

1. Солі важких металів викликають в аденогіпофізі та яєчниках статевозрілих щурів комплекс негативних змін, що ведуть до значних функціональних порушень. Виявлені перебудови знаходяться в прямій залежності від строків експерименту, характеризуються фазністю протікання загального адаптаційного синдрому та глибоким дисбалансом у роботі гіпофізарно-яєчничкової системи.

2. Антиоксидант L-токоферол, застосований в якості коректора, виявив достовірну стреспротекторну дію на гонадотропоцити гіпофіза, що продукують лютропін та лютеоцити жовтого тіла яєчників. Відмічено позитивний вплив вітаміна Е на перебіг другої фази естрального циклу статевозрілих самок-щурів: L-токоферол сприяє зменшенню токсичного впливу солей важких металів на гіпофізарно-яєчникову систему, послаблює прояви стадії виснаження загального адаптаційного синдрому, частково відновлює гормональну рівновагу в гіпофізарно-яєчничковій системі.

Література

- Колосова, И. И. Влияние ацетата свинца, солей тяжелых металлов на репродуктивную функцию [Текст] / И. И. Колосова // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Т. 2, № 3. – С. 13–18.
- Романюк, А. М. Морфологічні та метаболічні порушення у нижній щелепі та різці під впливом солей важких металів та їх корекція осейн-гідроксиапатитним комплексом [Текст] / А. М. Романюк, А. Б. Коробчанська, С. В. Сауляк, С. А. Романюк // Світ медицини і біології. – 2015. – № 2 (49). – С. 123–127.

3. Волошина, І. С. Гістологічна будова внутрішніх органів репродуктивної системи статевозрілих щурів самців після тривалого впливу на організм епіхлоргідрину [Текст] / І. В. Волошина // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – № 1 (106). – С. 230–235.
4. Кухар, І. Д. Морфофункціональний стан аденогіпофізу та надниркових залоз після локального впливу на шкіру тварин високої і низької температур [Текст]: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / І. Д. Кухар; Харківський Державний медичний університет МОЗ України. – Х., 2003. – 34 с.
5. Антоняк, Г. Л. Кадмій в організмі людини і тварин. II. Вплив на функціональну активність органів і систем [Текст] / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька, Н. Є. Панас, Ю. В. Жиліщич // Біологічні студії. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 125–136.
6. Савенкова, О. О. Експериментальне визначення антагонізму біометалів при впливі на стан репродуктивної системи та ембріогенез щурів [Текст] / О. О. Савенкова // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Т. 2, № 1 (99). – С. 259–264.
7. Романюк, А. М. Морфологічні особливості становлення ендокринного компонента сім'яників щурів у ранньому постнатальному онтогенезі в умовах впливу сполук важких металів [Текст] / А. М. Романюк, Ю. В. Москаленко // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2014. – № 2 (2). – С. 224–236.
8. Homady, M. Survey of some heavy metals in sediments from vehicular service stations in Jordan and their effects on social aggression in prepubertal male mice [Text] / M. Homady, H. Hussein, A. Jiries, A. Mahasneh, F. Al-Nasir, K. Khleifat // Environmental Research. – 2002. – Vol. 89, Issue 1. – С. 9–43. doi: 10.1006/enrs.2002.4353
9. Рыболовлев, Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности [Текст] / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Журнал АМН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
10. Сидорова, И. С. Течение и ведение беременности по триместрам [Текст] / И. С. Сидорова, И. О. Макаров. – М.: МИА, 2007. – 304 с.

Дата надходження рукопису 04.05.2017

Гринцова Наталія Борисівна, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра нормальної анатомії, Медичний інститут Сумського державного університету, вул. Санаторна, 31, м. Суми, Україна, 40018

Романюк Анатолій Миколайович, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра патологічної анатомії, Медичний інститут Сумського державного університету, вул. Санаторна, 31, м. Суми, Україна, 40018
E-mail: pathomorph@gmail.com

УДК 58.01/07

DOI: 10.15587/2519-8025.2017.105011

ИЗМЕНЕНИЕ ПОВЕРХНОСТИ ЛИСТОВОЙ ПЛАСТИНКИ ХВОИ ВИДОВ РОДА PINUS L. ПРИ ВЛИЯНИИ ФАКТОРОВ БИОТИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ

© **Е. Н. Ельпитифоров**

Определено значение поверхности хвои для выявления адаптационных изменений. Показаны основные закономерности в изменении параметров устьиц на поверхности однолетней хвои и их количества у разных видов Pinus L. Представлены результаты для генеративных и ювенильных растений, произрастающих в одном регионе. Результаты обобщены на основе фотоматериала, представленного в статье
Ключевые слова: Pinus L., поверхность хвои, адаптационные процессы, реакции поверхностного аппарата хвои

1. Введение

Важным вопросом в понимании формирования изменений при образовании адаптационных процессов в растительном организме в целом, и отдельных органов в частности, есть изменение морфологических характеристик поверхностных структур листа. Эти изменения проявляются в контексте качественных или количественных новообразований, которые либо направлены на урегулирование воздействия внешнего фактора, либо на нивелирование его влияния, либо на создание новых структур организма, которые сохраняют целостность системы. Размеры, анатомия и морфология хвои сосны в целом являются исключительно важными диагно-

стическими признаками при изучении изменчивости и адаптационных процессов (Правдин, 1964; Мамаев, 1973; Тутаюк, 1980), поэтому изучение поверхности листовой пластинки сосен дает возможность понимать некоторые механизмы приспособительных или защитных реакций при выработке адаптивной стратегии. Хвоинки сосен имеют ксероморфную структуру: они жесткие, мелкие, с малой испаряющей поверхностью. Устьица расположены по всей поверхности хвоинки, и их количество отличается у здоровой хвои и хвои, пораженной вредителем или возбудителем болезни. Также отличается поверхность хвоинки у разных видов сосен в ювенильной и генеративной стадии.