

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ

На правах рукопису

АДЕЙШВІЛІ-СИРОМЯТНИКОВА **Маквала** **Костянтинівна**

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА
ОРГАНІЗАЦІЯ ЯЄЧНИКІВ В УМОВАХ
ІОНІЗУЮЧОГО ТА ЛАЗЕРНОГО
ОПРОМІНЮВАННЯ**

(експериментально—морфологічне дослідження)

14.00.02 — анатомія людини

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового
ступеня кандидата біологічних наук

01.01



00330654 (L)

Дисертація є рукописом.

Роботу виконано в Харківському медичному інституті.

Наукові керівники: доктор біологічних наук, професор

Самойлов Микола Григорович

доктор біологічних наук, професор

Мукова Світлана Володимирівна

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор

Синельников Яків Рафаїлович

доктор біологічних наук, професор

Капрельяц Олександр Сумбатович

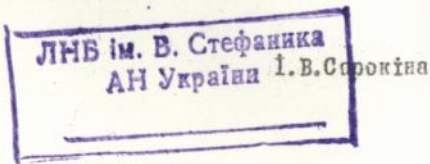
Провідна організація: Кримський Ордена Трудового Червоного Прапора медичний інститут МОЗ України, м. Симферополь.

Захист відбудеться "28" квітня 1994 року о 13³⁰ годині на засіданні спеціалізованої ради Д 088.23.03 при Харківському медичному інституті (310022, м. Харків-22, пр-кт Правди, 12).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Харківського медичного інституту (310022, Харків-22, пр-кт Леніна, 4).

Автореферат розіслано "25" березня 1994 року.

Вчений секретар спеціалізованої ради доктор медичних наук



ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРАЦІ

Актуальність проблеми. Однією з глобальних проблем нашого часу, що стоять перед людством, є забруднення навколишнього середовища та його шкідлива дія на організм. З року в рік розширюються території з підвищеним рівнем радіації, через що надзвичайної актуальності набуває питання про способи захисту від дії іонізуючого випромінювання, особливості променевого ураження організму, а також удосконалення іонізуючих та розробки нових методів лікування променевої хвороби.

Вивчення впливу іонізуючого випромінювання на живі об'єкти має давню історію і, природно, багато аспектів такого впливу вже ясні. Однак проблема радіаційної дії на організм на різних рівнях його організації досить складна і багатогранна, що численні питання чекають і досі на своє розв'язання. До таких належить і виявлення впливу іонізуючого опромінювання не тільки на покоління людей, але живе нині, а й на майбутнє. Зрозуміло також, що здоров'я наступних поколінь значною мірою визначається станом організму матері та впливами, яких він зазнає. У цьому зв'язку вивчення дії радіації на жіночий організм, і особливо на репродуктивну систему, має велике значення.

Оскільки яєчник - один з основних органів статеві системи і, більше того, такий, що має високу радіочутливість (G. Casarett, 1980, H. Tateno, K. Mikamo, 1986), то зрозуміло, чому за об'єкт даного дослідження обрано саме цей орган.

Безумовно, дослідженням дії радіації на яєчники займаються як клініцисти, так і теоретики. В іонізуючих працях якщо й аналізується стан яєчників після опромінювання, то мова йде про різні види випромінювання (зовнішнє гамма- і рентгенівське випромінювання, внутрішнє опромінювання за рахунок інкорпорованих радіонуклідів) або ж увагу акторів привертало фракціоноване опромінювання із збільшенням дози (Wrich R.L., Storer J.B., 1982, G. Casarett, 1980, G. Ronnbuck, 1980, H. Tateno, K. Mikamo, 1986). Праць, у котрих було

б вивчено вплив одноразового опромінювання організму у сублетальній дозі з подальшим аналізом електронномікроскопічних препаратів яєчників, у доступній літературі ми не знайшли. Проте, саме такий варіант близько моделює умови, у які потрапляє людина, наприклад, при аваріях на радіаційних установках.

У зв'язку з цим метою даної праці було вивчення ультраструктури яєчників щурів у ранньому періоді радіаційного ураження та у віддалені строки після рентгеновського поромінювання у дозі 4,7 Гр. Ми вивчали, який вплив має загальне іонізуюче опромінювання організму на яєчники на клітинному і субклітинному рівнях. Це складало перше з завдань дослідження, друге, і основне, полягало в тому, щоб вивчити можливості стимуляції відновлювальних процесів після порушення структури, викликаного рентгеновським випромінюванням.

Звичайно відновлення нормативного стану яєчників відбувається з використанням медикаментозної терапії. Однак часто хворим властива несприйнятність до тих чи інших препаратів, протипокази чи наявність супутніх захворювань, які ускладнюють застосування препаратів. У таких випадках дуже бажана немедикаментозна терапія, одним з варіантів якої є лазерна.

Останнім часом виявлено, що лазерне опромінювання посилює процеси метаболізму (М.Ф.Геманія, 1989), біосинтез білків та нуклеїнових кислот (Г.Н.Зирянова та ін., 1987), а також мікроциркуляцію (В.І.Козлов, Н.Г.Самойлов, 1991), стимулює активність симпатичної нервової системи і трансмембранний розподіл зарядів (В.М.Лушур, Н.Г.Самойлов, 1990), процеси репаративної регенерації (Л.А.Перельгіна, 1990). На підставі цих даних нами було зроблено припущення (робоча гіпотеза) про структурооберігаючу роль лазерного опромінювання та можливість гальмування руйнівних процесів у яєчниках тварин, які зазнали променевого ураження.

Отже, звадившись розуміючи, що іонізуюче опромінювання у сублетальній дозі викликає руйнування у тканинах яєчників, а також спира-

ичиоь на факти можливого гальмування цього процесу лазерним опромі-
нванням, ми вдалиоь до даного дослідження. Причому у наших модель-
них експериментах рентгенівське опромінення використовувалооь як
ушкоджуючий фактор, а сполучення його з лазерним давало можливість
перевірити, чи можна запобігти руйнуванню тканин яєчників у цих умо-
вах або загальмувати цей процес.

Враховуючи актуальність і важливість розв'язання даної пробле-
ми, а також відсутність подібних досліджень, ми поставили перед со-
бою таку мету і завдання.

Цілі та задачі дослідження. Ціллю даного дослідження було вив-
чити морфологію яєчників щурів у нормі та після рентгенівського і
лазерного опромінення, а також при їх поєднаній дії.

Щоб реалізувати це, необхідно було розв'язати такі завдання:

1. Виявити індивідуальну та вікову мінливість яєчників щурів
у нормі.

2. Вивчити вплив загального рентгенівського опромінення ор-
ганізму на морфологію яєчників щурів (особливо на ультраструктурно-
му рівні).

3. Дослідити зміни, які відбуваються в яєчниках тварин після
лазерного опромінення проєкційних зон та точок акупунктури (С60, С17, С14).

4. Встановити закономірності структурної організації яєчників
щурів в умовах послідовної поєданої дії іонізуючого та лазерного
опромінення.

Наукова новизна роботи. Вивчено анатомічні особливості яєч-
ників білих щурів у різних вікових групах в нормі, при цьому:

1. Встановлено, що характерними ознаками яєчників самиць білих
щурів є вікова мінливість їх форми, ваги та ростового показника. По-
казано, що найзначніше зростання маси яєчників відбувається в інте-
рвалі до 6-ти місяців, після чого скоотерігається зменшення цього
показника.

2. Вперше вивчено вплив одноразового загального рентгенівсько-

го опромінювання організму у сублетальній дозі з подальшим аналізом електронномікрокопічних препаратів яєчників як у ранні, так і у віддалені строки після опромінювання у дозі 4,7 Гр.

3. Встановлено, що найбільш ранні зміни деструктивного характеру відбуваються після 12-ти годин на ультраструктурному рівні. Найвища радіочутливість притаманна фолікулоцитам та ендотеліоцитам, у ядрах котрих раніше, ніж у інших клітинах руйнуються нитки хроматину, відбувається деструкція органоїдів, каріонікноз.

4. Виявлено факти радіаційного ураження структурних компонентів яєчників щурів, які здійснюють біосинтез статероїдних гормонів. Вивчено особливості впливу лазерного опромінювання на проєкційні зони та точки акупунктури.

5. За допомогою морфологічних методів доведено, що найбільший стимулюючий ефект має місце при опромінюванні точок акупунктури гелій-неоновим лазером. Вперше встановлено факти збереження структур яєчників, активізації репаративної регенерації на клітинному та субклітинному рівнях у яєчниках щурів при поєднаній дії іонізуючого та лазерного випромінювання.

Теоретичне та практичне значення роботи. Експериментальні дані, отримані у дослідженні, мають значення для радіаційної біології та медицини. Важливим є виявлення ультраструктурних основ механізмів гальмування та порушення функцій яєчника (овс- та стероїдогенезу) після загального рентгенівського опромінювання організму.

Одержані факти позитивного впливу лазерного опромінювання на структурні компоненти яєчника на фоні радіаційного ураження мають важливе значення для радіобіології та гінекології.

Анатомічне розташування і будова яєчників білих лабораторних щурів відзначаються індивідуальними та віковими особливостями.

Загальне рентгенівське опромінювання організму у сублетальній дозі викликає порушення перш за все ядерного апарату у клітинах яєчників щурів. Вторинним є розвиток у тканинах цього органа

деструктивних процесів.

Лазерне опромінювання проєкційних зон яєчників та точок акупу-
нктури забезпечує активізацію проліферації клітин та гіперплазію їх
органел. Застосування методів рефлекторної лазерної дії на ранніх
стадіях після радіаційного ураження організму істотно профілактикує
розвиток деструктивних процесів, зберігаючи ультраструктурні компо-
ненти, причетні до ово- та стероїдогенезу. Одержані нами експери-
ментальні дані можуть бути використані для вибору адекватної такти-
ки лазерної терапії в медичній радіології, гінекології, при реабілі-
тації хворих після променевого ураження.

Досліджені нами варіанти експеримента близько моделюють умови,
у які потрапляє людина, наприклад, при аварії на радіаційних уста-
новках.

Результати ультрамікроскопічних досліджень будови яєчників пі-
сля рентгенівського та лазерного опромінювання можуть бути викорис-
тані в навчальному процесі на кафедрах анатомії, гістології та ем-
бріології, біології медичних і зооветеринарних вузів у розділі
"Статева система".

Дані експеримента по впливу лазерного опромінювання на ультра-
структуру яєчників можуть бути використані в навчальному процесі
на кафедрах патологічної фізіології, патологічної анатомії та ра-
діології в лекціях і на практичних заняттях з розділу "Вплив ендो-
та екзогенних факторів на будову органів і тканин".

Положення, що виносяться на захист.

1. Анатомічне розміщення та будова яєчників білих щурів у нор-
мі характеризуються індивідуальною та віковою мінливістю.

2. Загально рентгенівське опромінювання організму у дослідже-
ній дозі викликає порушення ядерного апарата і деструкцію органел
у ендотеліоцитах, фолікулоцитах та овоцитах. Вторинним є розвиток
таких процесів у тканинах яєчників.

3. Лазерне опромінювання проєкційних зон яєчників і точок аку-

пунктури супроводжується гіперплазією клітинних органел та проліферацією фолікулоцитів, ендотеліоцитів та інтерстиціальних клітин.

4. Дія гелій-неонового та інфрачервоного лазерів на проєкційні зони та точки акупунктури, застосована на ранніх стадіях після рентгенівського ураження має позитивний структурно-зберігаючий і стимулюючий ефект, що виявляється в процесі регенерації на ультраструктурному та тканинному рівнях.

Опромінювання гелій-неоновим лазером точок акупунктури профілактує більш ефективний розвиток деструктивних процесів, зберігаючи ультраструктурні компоненти, причетні до ово- та стероїдогенезу.

Апробація роботи. Основні положення дисертаційної роботи були докладені та обговорені на засіданнях Харківського наукового обласного товариства анатомів, гістологів та ембріологів (1992 - 1994), на науково-практичній конференції "Функциональные и прикладные аспекты нетрадиционной медицины" (Харків - Кліментово, 1992) та науково-практичній конференції "Функциональные и прикладные аспекты нетрадиционной медицины" (Харків-Кліментово, 1993); науковій конференції з проблеми "Філософія виживання" (Харків, медичн. інститут, 1993, - дві доповіді).

Реалізація наукових досліджень. Описані положення дисертації знайшли відображення у 5-ти публікаціях. Матеріали дисертації впроваджені у науковий процес на кафедрах анатомії людини, гістології та ембріології, патологічної анатомії, гінекології Харківського медичного інституту, кафедрах генетики та цитології, фізіології людини і тварин Харківського державного університету.

Дані про дію лазерного опромінювання після іонізуючого ураження на регенеративні процеси в яєчниках використовуються у клінічній практиці 8-х відділень лікарень м. Харкова.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обґрунтування використання експериментального матеріалу. За матеріалом для дослідження було взято самиць білих лабораторних щурів

лінії Вістар 6-місячного віку, які утримувалися в умовах віварію, годувалися відповідно до норм інституту харчування АН України, передбачених для даного виду тварин.

Тривалість експерименту складала від 1 до 75 днів. Всіх експериментальних тварин було розбито на групи по 7 - 10 щурів у кожній (табл. I, 2).

Таблиця I

Матеріал дослідження

"Кількість щурів, досліджуваних у різних серіях експериментів у норі та після рентгенівського опромінювання"

Но- мер гр.	Практично здорові ін- тактні щури		Опромінені тварини, забивання					
	вік, м. оців	кільк. особин	но- мер гр.	через іа- тервал, годин	кільк. особин	но- мер гр.	через іа- тервал, днів	кільк. особин
1	1	10	1	8	5	1	5	7
2	8	10	2	6	5	2	10	5
3	6	14	8	12	7	8	20	5
4	12	18	4	24	6	4	60	6
			5	48	7	5	75	6

Примітка. Опромінювання було одноразовим у дозі 4,7 Гр, з експозицією 1·06''.

Лише рентгенівському опромінюванню з наступним забиванням че-
рез 8, 6, 12, 24, 48 годин, а також через 5, 10, 20, 60, 75 днів бу-
ло піддано 10 груп. Опромінювання гелій-неоновим та налівролід-
никовим лазером з дією на проєкційні зони і точки акупунктури підда-
валися тварини 4-х груп. Решту щурів (8 груп) після загального рент-
генівського опромінювання було піддано лазерному опромінюванню з
1-го, 5-го, 15-го днів та через 2 місяці. Контрольну групу склали
47 тварин (4 групи).

Експериментальні дії. Рентгенівське опромінювання здійснювало-
ся у Харківському НДІ медичної радіології з використанням РМ-17.

Матеріал дослідження
 "Дослідження щурів у різних серіях експериментів
 після лазерного та поєднаного
 (рентгенівське + лазерне) опромінювання"

Лазерна дія		Поєднана дія генераторами						
		ЛГ-75			"Сфера-2М"			
Номер гр.	Зона дії	Кільк. тварин	Но-мер гр.	День після опромінюв.	Кільк. тварин	Но-мер гр.	День після опромінюв.	Кільк. тварин
I - 2	Проекційна зона	1	1	1	10	1	1	10
	яєчників	18	2	5	10	2	5	8
3 - 4	Точки акупунктури	8	15	8	9	3	15	8
		18	4	60	8	4	60	7

Примітка: 1. Лазерне опромінювання проводилося із застосуванням генератора ЛГ-75 у безперервному режимі з експозицією 3 хв, а також генератора "Сфера-2М" у поступовому режимі з експозицією 15 сек.

Щільність потужності у обох генераторів - 200 МВт/см².

2. При поєднаній дії рентгенівське опромінювання було загальним, одноразовим при дозі 4,7 Гр з експозицією 1 хв 06 сек.

Щури по дві особини вміщувалися у спеціальній пенал з органічного скла, поділений на дві частини. Опромінювання здійснювалося у рівномірному полі в дороб- (або спино-черевній) вентральній позиції. Дозу опромінювання було рекомендовано фахівцями інституту медичної радіології як таку, що викликає променеве ураження, але не призводить до масової загибелі щурів.

Щоб з'ясувати, як впливає дія іонізуючого випромінювання на будову яєчників, було застосовано загальне опромінювання тварин рентгенівськими променями у сублетальній дозі, котра, як встанов-

лено (С.І. Зановера

1988), викликає у мурів променеву хворобу.

Параметри опромінювання: напруга на трубі - 200 МВ, анодний струм - 10 МА, фільтр - 3АУ, енергія - 65 КЕВ, потужність експозиції - 456 р/хв, доза опромінювання - 4,7 Гр, час опромінювання - 1'06". Для лазерної терапії використовувалися два типи генераторів - гелій-неоновий ЛГ-75 та напівпровідниковий - "Сфера-2М". Перший працював у безперервному режимі, довжина хвилі 632,8 нм - це параметри, що відповідають оптимальним при дії на живі тканини (А.Р.Рахімов, 1976, В.М.Крах, 1982). Другий діяв у імпульсному режимі з частотою 1000 Гц, робоча довжина хвилі 632,8 нм, щільність 20 мВ/см². При опромінюванні проєкційних зон яєчників встановувалася експозиція 9 хв, а дія на точки акупунктури тривала по 15 сек на кожну, що доведено як ефективне (Н.Г.Самойлов, Л.А.Перелігіна, 1987). Лазерне опромінювання проводилося завжди в один і той же час.

Всі тварини щоденно піддавалися зовнішньому огляду та зважуванню виведення з експерименту здійснювалося методом декапітації. Після забивання у тварин розрізалася черевна порожнина і вивчалася топографія яєчників, ступінь розвитку жирової клітковини, розміри. Макро-мікроскопічно з використанням бінокулярної лупи для вимірювання їх товщини обстежувалися кіркова і мозкова речовини досліджуваних органів. Після цього яєчники за допомогою макро-мікроскопічного препарування виймалися та зважувалися.

Для гістологічного дослідження бралися шматочки органів, фіксувалися у 8 - 12 %-ному нейтральному формаліні, а після виготовлення зрізів забарвлювалися за методом Ван-Гісона та гематоксалінозином.

Напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм отримували на ультратомі УМТГ-6, забарвлювали зрізи 1 %-ним розчином основного фуксину на 50 %-ному спирті за Apparicio S. Marsden p., (1968).

Шматочки тканини яєчників розміром 1 мм^3 фіксували протягом 1 - 4 годин у 1 - 2%-ному забуференому розчині глютаральдегіду рН = 7,3 - 7,4. Потім 10 хв промивали у фосфатному буфері та 1,5 години, дофіксували 1%-ним розчином OsO_4 на фосфатному буфері Міллонінга (рН = 7,3). Обезводнювали у спиртах зростаючої концентрації після чого матеріал заливали смолами за *Molecu loner H(1964)*. "Ількісне співвідношення залив. цих смол фірми Флюка таке: Епон 812 - 5 мл; Арадит-М - 3 мл; DDSA - 11 мл; ДМР - 14 крапель. Полімеризація смол у блоках тривала 10 - 12 годин у термостаті при $t^{\circ} 60^{\circ} \text{C}$. Ультратонкі зрізи отримували на ультратомі УМТП-6. Після розп'явлення їх за допомогою хлороформу вишували на знежирені сіточки і здійснювали подвійне контрастування цитратом свинцю, ураніацетатом за *Reynolds E(1969)*. Отримані препарати вивчали у трансмісійних електронних мікроскопах УЕМБ-100 К і ЕМБ-100 В.Р. при прискорюючій напрузі 50 - 75 кВт. Напівтонкі та гістологічні препарати вивчали морфометричними методами, для чого виготовлялися стандартні фотографії $13 \times 18 \text{ см}$ і за допомогою тестової системи сіток (Л. Непомяних та ін., 1986) підраховували такі параметри: об'єм клітинних ядер (у мкм^3), об'ємні співвідношення паренхіми і стромы. На електронномікроскопічних фотографіях вивчали об'ємні долі мітохондрій і ЕПС.

Для глумчення морфологічних даних з функціональних позицій використовували методи інформаційного аналізу (А.С.Леонтьок та ін., 1981). При цьому обчислювали групову (H) та відносну (h) ентропію і коефіцієнт надлишковості (R, %). Всі кількісні дані статистично обробляли за методом О.В.Мінцер та ін. (1982). Цифрові дані обробляли на мікроЕОМ ЕЗ-21 і МК-51 за пакетами програм математики АН України. Вивчення впливу рентгенівського, лазерного опромінювань та їх поєднаної дії здійснювали на шурях 6-місячного віку.

Структура і обсяг роботи. Дисертація складається з вступу, огляду літератури, 5-ти глав власних досліджень, обговорення результатів і висновків. Випадена на 156 сторінках машинописного тексту, ілюстро-

вана 4-ма малюнками, 54-ма мікрофотографіями, 15-ма таблицями. Список літератури містить 199 робіт, з них 82 - іноземних авторів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Статева система гризунів складається із статевих залоз і статевих шляхів. Ступінь їх структурної повноцінності і функціональної активності забезпечує рівень репродуктивної здатності тваринного організму, різноманітність варіантів вікової і індивідуальної мінливості. Вивчення будови яєчників білих щурів у нормі дозволяє відзначити, що статеві клітини у щура оточені судинно-тканинними компонентами; являють собою складну, динамічну, багатоконпонентну систему, яка інтенсивно змінює свою морфо-функціональну організацію на протязі онтогенезу. Яєчники 1-місячних тварин лінії Вістар являють прозирливі, дрібнодольчасті утвори світло-сірого кольору, розташовані ретриперитонально біля задньої поверхні (92,5%), нижніх полюсів нирок (7,5%). В період постнатального онтогенезу вони характеризуються долею різноманітності форм. Найпоширенішою серед яких, за нашими даними, є овоїдна (86,9%). Дещо рідше зустрічається округла (7,2%) і витягнута форма (5,9%). Ці органи розташовуються асиметрично один відносно одного, а їх маса корелює з масою тіла і в середньому складає 67,51±3,12 мг. У 3-місячних тварин макроскопічно яєчники являють собою утвори жовто-сірого кольору овоїдною (83,5%), округлою (10,3%) та витягнутою формою (6,2%). Їх маса достовірно збільшена на 11,3% порівняно з 1-місячними тваринами. На 6-му місяці постнатального онтогенезу макроскопічно не вдається визначити істотних відмінностей у топографії і мікроструктурі досліджуваного органу. Морфологічно виявляються зміни у кількісному співвідношенні ознак та характерному різноманітті форм яєчників. Яєчники овоїдної форми складають - 84,6%, округлої - 9,3%, витягнутої - 6,1%. Відзначається збільшення їх маси на 10,9%.

Яєчники річних особин щурів зовнішньо забарвлені, консистенцією, різноманітними форм та топографією мало відрізняються від таких у тварин попередніх вікових груп. Однак, морфологічні дані свідчать

про деякі макроструктурні зрушення. Змінюється кількісне співвідношення ознак, які характеризують різноманітні форми яєчників: число органів овоїдної форми складає 79,5 %, округлої - 13,3 %, витягнутої - 7,2 %. Має місце відносне зменшення маси яєчників у середньому на 9,5 %.

Майже у всіх вікових групах маса правого яєчника децю більша ніж лівого, проте різниця невелика. Але все ж можна говорити про тенденції. Причому це більше виражено у нестатеводозрілих тварин (I місяць) та у 3-місячних.

Яєчники білого шура складаються з кіркової та мозкової речовин. Кіркова речовина складається з стромы, сформованої веретеноподібними фібробластами, та міжклітинної речовини, що в основному являє собою колагенові волокна. У кірковій речовині під білочною оболонкою розташовані фолікули різного ступеня зрілості, атретичні фолікули та жовті тіла. Між фолікулами та жовтими тілами розташовуються інтерстиціальні клітини, що характеризуються ліпідними включеннями. Саме у кірковому шарі відбувається розвиток яйцеклітин і синтез статевих гормонів.

Мозкова речовина яєчників характеризується безладним розташуванням колагенових та еластичних волокон. У мозковій речовині проходить значна кількість судин різного діаметра та відзначається багато нервових елементів.

Паренхіма і строма у дорослих інтактних тварин складають відповідно $71,26 \pm 0,87$ та $28,68 \pm 0,88$ об'ємних долі (співвідношення $2,4 \pm 0,05$).

В наших експериментах по вивченню впливу загального рентгенівського опромінювання тварин було встановлено на ультраструктурному рівні, що першими на опромінювання (вже через 3 - 6 годин) реагують компоненти кіркової речовини яєчників. Найвища радіочутливість властива фолікулоцитам та ендотеліоцитам. Порівняно з контролем у яд-

рах цих клітин каріотека утворює глибокі інвагінації, хроматин переходить у деспіралізований стан. Цитоплазма фолікулитів багата як на р'язні, так і зв'язані з ендоплазматичним ретикуломом рибосоми. У вторинних та третинних фолікулах фолікулоцити мають добре розвинені міхроворсинки і цитоплазматичні вирости, у котрих міститься багато мітохондрій, ліпідних включень та мультівезикулярних тілець.

У отінках ікросудин також з'являється велика кількість везикул, що свідчить про інтенсифікацію трансцисдотеліатичних процесів. У фолікулоцитах первинних фолікулів у перші години після опромінювання відбувається ініціація мітозів. Перелічені зміни та насиченість цитоплазми текодитами ліпідними включеннями дозволяють припускати активізацію процесів енергетичного та пластичного обміну у різних компонентах яєчників. Отримані відомості узгоджуються з давими літератури про активізуючу роль іонізуючого випромінювання у перші години його дії. Безумовно, можна погодитися з авторами, які розглядають іонізуюче випромінювання як подразнювальний фактор зовнішнього середовища (А.І.Дворецький, Є.Г.Сгорова, 1990, Р.С.Трубникова, В.Г.Горлов, 1984, В.Ф.Дубровська, 1991). Однак у радіобіології існує чітке положення про дозу залежність отриманого ефекту (Williams L.P., Coggle J.E. et al., 1986). Доведено, що тривала дія навіть малих доз радіації, тим більше сублетальних і летальних гальмує обмінні процеси. У наших експериментах підтверджено, що навіть сублетальні дози радіації у перші години після опромінювання викликають стимуляцію метаболічної активності яєчників.

Через добу після початку експерименту зростання її функціональної активності, що спостерігалось, зміниться зниженням та гальмуванням. У різних ділянках структурних компонентів яєчників з'являються вогнища альтерації і деструкції, розвивається внутрішньотканинний набряк. Міжклітинні простори розширюються.

Після 24 годин з моменту опромінювання у каріоплазмі, пера за

все фолікулоцитів, а також ендотеліоцитів і овоцитів зростає кількість примембранного гетехроматину. При цьому ядра стають електронноцільними, а їх об'єм починає зменшуватися. Клітини зернистого шару фолікулоцитів можуть ділитися амітозом. У більшості текоцитів опостерігається гальмування процесів секретотворення, у їх цитоплазмі кількість ліпідних крапель зменшується. Високий ступінь структурваності клітин яєчників змінюється появою гомогенних зон, стирання меж між структурними компонентами.

Через 48 годин після опромінювання вказані зміни у яєчниках збільшуються. Об'єм клітинних ядер вже і в овоцитах падає (в контролі - $2019,59 \pm 40,18 \text{ мкм}^3$, в експерименті - $1736,41 \pm 45,56 \text{ мкм}^3$). У цитоплазмі овоцитів різко зменшується кількість цистерн зернистого ендоплазматичного ретикулама, з'являються лізосоми, а мітохондрії набрякають або стають електронноцільними. У цей період активізується формування еластичних волокон. У міжклітинних просторах з'являється значна кількість клітин крові: лейкоцитів, лімфоцитів.

Через 5 днів після рентгенівського опромінювання у структурних компонентах яєчників інтенсивно розвиваються патологічні процеси, супроводжувані руйнуванням внутрішньоклітинних органел і клітин. Деструктивні процеси, поширюючись переважно на паренхіму частину яєчників, руйнують міжклітинні контакти. Внаслідок цього клітини злищуються і стискаються набряковою рідиною. Зменшується такий важливий показник, як об'ємні долі мітохондрій. Якщо у інтактних щурів він дорівнює $12,28 \pm 0,17$, то через 5 діб після впливу рентгенівського опромінення він зменшується до $9,34 \pm 0,11 \text{ мкм}^3$, а через 10 діб стає ще нижчим: $8,22 \pm 0,09 \text{ мкм}^3$. Відбувається редукція мембран гранулярного та агранулярного ендоплазматичного ретикулама, яка починається вже через 24 години).

Починаючи з 5-ї доби цей деструктивний процес поглиблюється. Якщо в контролі об'ємні долі ЕПС дорівнюють $6,35 \pm 0,10$, то в експерименті лише $5,00 \pm 0,07$. Через 10 діб - $4,02 \pm 0,04$.

На електронограмах можна спостерігати стан, коли при руйнуванні плазмалеми у міжклітинний простір потрапляють рибосоми, лізосоми, мітохондрії і навіть клітинні ядра. У різних ділянках тканини ячміняків, і особливо у зернистому шарі, з'являються і розширюються некротичні зони. Гальмування секретотворення у клітинах ячмінника, падіння їх енергетичного потенціалу при одночасному розвитку стромальних компонентів свідчать про різке зниження специфічної функціональної активності цього органа. Сукупність таких змін порушує і гальмує овогенез.

Через 2 місяці після опромінювання у тканинах ячміняків є досить багато ділянок із зруйнованими клітинами, гомогенізованими структурами, велика кількість тучних клітин, макрофагів, різних видів лейкоцитів, лімфоцитів та фібробластів, що локалізуються у міжклітинних просторах. Крім того у клітинах ячміняків, які руйнуються, спостерігається утворення специфічних комплексів, котрі складаються з ліпідних крапель, поглинутих аутосомами. Кількість мітохондрій знижена, що відображає морфометричний показник об'ємних долей: він складає лише $6,18 \pm 0,13$. Деструктивні процеси позначилися на ендоплазматичному ретикулумі. Цей показник відображає подальше пошкодження і складає лише $3,00 \pm 0,01$ мкм³. На тканинному рівні спостерігаються достовірні збільшення об'ємних долей строми, що поглиблюються, починаючи з 10-ї доби.

Отримані факти можна тлумачити вельми однозначно: загальне рентгенівське опромінення викликає руйнування структурних компонентів ячміняків, порушує обмінні процеси, різко послаблює синтез стероїдних гормонів і, безумовно, гальмує розвиток яйцеклітин. Дані про деструктивну роль променевої дії були отримані ще у 70-ті роки (В.І.Рябенко, А.М.Лячипська, Е.П.Овчаренко, 1971, І.В.Гаччиладзе, К.Д.Гелашвілі, І.В.Толурія, 1977). Причому, незважаючи на те, що в експериментах було використано різні види променевої дії

та різні дози радіації, загальний висновок про її руйнівну роль єдиний. У наших експериментах застосовано одноразову сублетальну дозу опромінювання організму. Встановлено, що така дія у тканинах ячмичків також викликає деструктивні процеси, котрі не припиняються протягом 2-х місяців. В літературі існують повідомлення, що й у віддалені строки після опромінювання (до 2-х років) у ячмичках тривають дисфункційні процеси (Casarett G.W. 1980).

Таким чином, нами було досліджено, на якій стадії та в яких клітинах починаються деструктивні процеси після рентгенівського впливу на ультраструктурному рівні.

Наступна серія експериментів була поставлена з метою дослідження впливу лазерного поромінювання на ячмички щурів як методу стимуляції морфофункціональних процесів. Це було необхідно для подальшого аналізу можливої корегуючої дії лазера на деструктивні процеси у тканинах ячмичків, що мали місце після впливу рентгенівського опромінювання.

Першими на лазерне опромінювання реагували ендостеліоцити. В їх цитоплазмі зростала кількість мікровезикул, ядра збільшувалися і в них зростала кількість еухроматину, в численних мітохондріях збільшувалася кількість добре розвинених крист.

Лазерне опромінювання як точок акупунктури, так і рефлексогенних зон ячмичків стимулює мітотичний поділ фолікулоцитів у кірковій зоні, особливо у первинних та вторинних фолікулах. Наслідком цього стає швидке розростання розвиненого зернистого шару клітини. Причому остани, маючи хороші міжклітинні контакти між собою, а також спрямовуючи вирости цитоплазми до овоцитів, сприяють розвиткові статевих клітин. У виростах фолікулоцитів, що сточують овоцит, виявляється велика кількість мітохондрій, мікровезикул, мікрофіламентів та ліпідних включень.

Ядра овоцитів округлої правильної форми з численними брилками

вухроматину, кількість гетерохроматину зменшена. Об'єм ядер овоцитів, починаючи з 10-ї доби опромінювання лазером, зростає і досягає $2617,32 \pm 28,34 \text{ мкм}^3$ (в нормі - $2083,14 \pm 16,34 \text{ мкм}^3$). Канальці ендоплазматичного ретикулула добре розвинені та нерівномірно розширені. Морфометричне дослідження виявило, що вже на 5-ту добу опромінювання гелій-неоновим та напівпровідниковим (інфрачервоним) лазером спостерігається статистично вірогідне збільшення об'єму ЕПС. Об'єми долі мітохондрій збільшуються прогресивно, починаючи з 5-ї доби до 15-ї.

Стимулюючий ефект лазерного опромінювання позначається і на інтерстиціальних клітинах внутрішньої оболонки вторинних фолікулів - текоцитах. Вони збільшуються в об'ємі. Серед інтерстиціальних клітин, як відомо, виділяють дві гетерогенні популяції: світлі та темні клітини. Світлі клітини - електронопрозорі, функціонально активні. Після сеансів лазерного опромінювання їх чисельність зростає. У літературі наводяться дані щодо можливої трансформації темних клітин у світлі (Moor R. M., 1977, O. B. Volkova, 1983). В умовах лазерного опромінювання власне у інтерстиціальних клітинах, розташованих поряд з капілярами, формуються численні контакти: збільшується кількість цитоплазматичних виростів, які утримують пухирці, що мають на кінцях потовщення. В інтерстиціальних клітинах внутрішньої оболонки вторинних фолікулів (текоцитах) після лазерного опромінювання зростають об'єми долі органелів мітохондрій та мембран агранулярного ендоплазматичного ретикулула.

Після одноразового загального рентгенівського опромінювання щурі одержували вплив лазера, починаючи вже з перших 3 - 12 годин. У інших групах лазерне опромінювання починалося після інтервалу 24,48 годин, а далі - 5, 15 та 60 діб після рентгенівського.

Якщо лазерна дія починалася з першої години після впливу рентгена, то деструктивні процеси не розвивалися так, як після ізольованої дії рентгена. Овоцити в основному зберігали свої морфофункціональні

властивості, фрагментації хроматину не відбувається. Об'ємні доли органел (мітохондрій та ЕПС) порівняно з контролем практично не відрізняються від норми, що свідчить про достатньо високий енергетичний потенціал, який може забезпечити функціональні потреби клітини. На тканинному рівні відсутні геморагії та діapedези.

Через 5 діб рентгенівського опромінювання вплив лазера не дає таких позитивних наслідків. В ячнниках вже виступили проявитися деякі деструктивні процеси, особливо в ендотеліоцитах та фолікулоцитах. Однак позитивний профілактуючий вплив лазера всеж позначається на овоцитах: якщо після впливу рентгена об'єм ядер становив $1577,32 \pm \pm 42,08 \text{ мкм}^3$, то після гелій-неонового лазера (дія на точки акупунктури $\sqrt{60, C, An, G, Ty}$) - $2018,36 \pm 30,06 \text{ мкм}^3$. В текоцитах і латецитах спостерігається гальмування морфофункціональних процесів. Мозкова зона ячнників збільшується порівняно з кірковою.

В серіях експериментів, де лазерна дія починалася через 10, 15 і 20 діб після рентгенівського опромінювання, спостерігалася погіршення протекторного ефекту лазера. Це стосується всіх досліджених морфометричних показників. Об'ємні доли мітохондрій через 15 діб значно нижчі, ніж у нормі ($10,40 \pm 0,17 \text{ мкм}^3$), хоч деякою мірою перевищують аналогічний показник після дії рентгена ($9,12 \pm 0,12 \text{ мкм}^3$).

Щури, що знаходилися у віварії 60 діб після рентгенівського впливу і вже потім одержали лазерне опромінювання, мали глибокі структурні зміни в тканинах. Майже припинився поділ клітин фолікулярного епітелію. Визнали ушкодження і текоцити. Можна було спостерігати клітини в каріопікнозом, хоч в окремих зонах ячнників зберігалася структура фолікулів і органел внаслідок структурозберігаючого ефекту лазера. Застосування лазерної терапії дає тим значніший ефект, чим раніше одержували її тварини після дії рентгена.

Отже, застосування лазерного опромінювання організму після іонізуючого можна вважати ефективним засобом збереження працюючих та відновлення ушкоджених структур ячнника.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що характерними ознаками яєчників самиць білих дур' є вікова мінливість їх форми, ваги та ростового показника. Показано, що найзначніше зростання маси яєчників відбувається в інтервалі до 6-ти місяців, після чого має місце зменшення цього показника.

2. Після загального рентгенівського опромінювання у досліджуваній дові у перші години (до 12-ти) у фолікулоцитах та ендотеліоцитах тварин спостерігається ініціація мітозів, перехід хроматину у деспіралізовану форму. Має місце збільшення числа мембранних органел та ліпідних включень, а також гранул жовтка, що свідчить про активізацію клітин яєчників.

3. Після 12-ти годин у тканинах яєчників розвивається деструктивні процеси на ультраструктурному рівні. Найвища радіочутливість властива фолікулоцитам та ендотеліоцитам; у цих клітинах раніше, ніж у інших порушується структура ядерного апарата, відбувається перехід еухроматину в гетерохроматин, руйнування структури мітохондрій, ендоплазматичного ретикулума, що призводить до порушення розвитку яйцеклітини та синтезу статевих гормонів.

4. Лазерне опромінювання у всі періоди експерименту викликає гіперплазію органел, проліферацію клітин у яєчниках дурів, що є морфологічним субстратом для активізації синтезу стероїдних гормонів.

5. Найкращий стимулюючий ефект спостерігається при використанні гелій-неонового лазера та опромінювання точок акупунктури (№0, Слн, G34) на ранніх стадіях. Менш ефективним виявилось вастювання напівпровідникового лазера при дії його променями на проєкційні зони яєчників.

6. Лазерне випромінювання стимулює гіперплазію органел у фолікулоцитах, що забезпечує їх високу морфофункціональну активність.

7. Поєднана дія іонізуючого та лазерного опромінювання характеризується структурооберігаючим та стимулюючим ефектом, що виявля-

ється у відновленні морфонукціональної та ультраструктурної організації яєчників. Найбільш високий стимулюючий вплив забезпечував гелій-неоновий лазер при дії на точки акупунктури.

8. Одержані результати, що свідчать про протекторний вплив опромінювання гелій-неоновим та інфрачервоним лазером на структуру організації яєчників можуть бути використані в морфологічних і експериментальних дослідженнях, а також у клінічній практиці як метод, що нормалізує на ультраструктурному та клітинному рівнях морфологічний субстрат ово- та стероїдогенезу.

СПИСОК ПРАЦЬ, НАДРУКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Эффективность лазерной терапии при лучевой поражении яичников // Сб. тр. науч.-практ. конф. "Функциональные и прикладные аспекты нетрадиционной медицины". - Харьков, 1992. - С. 58 - 59.


2. Морфологическое состояние скелетных мышц и продуктивной системы самок-крыс при гипо-, гиперкинезии и лазерном облучении // Сб. тр. науч.-практ. конф. "Фундаментальные и прикладные аспекты нетрадиционной медицины". - Харьков, 1993 (в сбавт.), - С. 270 - 271.

3. Ультраструктурний стан яєчників у щурів після загального рентгенівського опромінення в напівлетальній дозі // Укр. радіол. журн. - 1993. - Т. I. - № 3. - С. 163 - 193.

4. Диалектические аспекты проблемы выживания в условиях общего лучевого поражения: Тез. докл. науч.-практ. конф. "Философия выживания". - Харьков, 1993. - С. 6 - 8.

5. Некоторые философские вопросы нетрадиционного использования лазерного излучения в медицине: Тез. док. Харьков. обл. конф. "Философия выживания". - Харьков, 1993 (в соавт.). - С. 5 - 6.

Відповідальний за випуск С.В.Жукова



Підписано до друку 16.03.94. Формат 60 x 84 I / I6.
Умовн. друк. арк. I,0. Тираж 100 прим. Зам № 268

AB 29.555

AB 29.555