

УДК 616.432+616.45+618.1]-008-055.2-092.9-06:616.395

*Н.Б. Гринцова, А.М. Романюк, Ю.В.Сміянов*

*Сумський державний університет, медичний інститут*

**ПЕРЕБІГ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН  
ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРКОВОЗАЛОЗНОЇ ТА РЕПРОДУКТИВНОЇ  
СИСТЕМИ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ-САМИЦЬ  
В ПЕРІОД РЕАДАПТАЦІЇ ПІСЛЯ ВАЖКОГО СТУПЕНЯ  
ПОЗАКЛІТИННОГО ЗНЕВОДНЕННЯ**

Експериментальне дослідження проведено на 12 білих статевозрілих щурах-самицях масою 250–300 г віком 7–8 місяців. Підслідні щури знаходились у стані розвитку загального адаптаційного синдрому, стадії виснаження до дії пошкоджуючого агента. Процеси репаративної регенерації, що діють в організмі експериментальних тварин протягом семи діб, є недостатніми для повної нормалізації функціональної активності гіпофізарно-наднирковозалозної системи та андрогенної ланки репродуктивної панелі статевозрілих щурів-самиць.

**Ключові слова:** гіпофіз, позаклітинна дегідратація, дегідроепіандростерону сульфат, тестостерон, яєчники.

Біологічним системам на різноманітних рівнях властива адаптація – процес пристосування до конкретних умов як внутрішнього, так і зовнішнього середовища [1]. Проблема адаптації організму до різних стресорних факторів викликає постійну зацікавленість науковців, проте існує ще чимало питань стосовно характеру і природи формування пристосувальних реакцій [2]. Гіпофіз – це центральна ланка ендокринної системи, що регулює діяльність органів-мішеней та відіграє провідну і координаційну роль у формуванні реакції організму на різні стресорні впливи, у тому числі і порушення водно-сольового гомеостазу [3, 4]. Вивчення морфофункціональних особливостей органів ендокринної системи є одним із напрямів сучасної екологічної морфології [5, 6]. Патологія водно-сольового обміну супроводжує більшість хвороб серцево-судинної системи, нирок та ендокринних залоз. За даними літератури, сталі порушення водно-сольового балансу призводять до неспецифічних змін будови всіх органів і систем [4]. Зазвичай прояв тих чи інших ознак патології нелегко пов'язати із визначеними структурними змінами, оскільки патологія обміну має комплексний характер [2]. Із літературних джерел відомо про активацію клітин Лейдига сім'яників статевозрілих щурів-самців в умовах

впливу солей важких металів [7] та про участь тестостерону у стресорних реакціях [8, 9]. Як відомо, у жінок джерелом С19-стероїдів, включаючи дегідроепіандростерон, андростендіон та тестостерон, є яєчник. Ці гормони виробляються тека-клітинами та клітинами оваріальної стромы яєчника. Крім того, андростендіон також синтезується і в надниркових залозах. С-19 стероїди, дегідроепіандростерон та дегідроепіандростерону сульфат наднирковозалозного та яєчникового походження сприяють формуванню тестостерону. Тестостерон є андрогеном, а дегідроепіандростерону сульфат – біологічно інертним стероїдом. Відомо, що різноманітні захворювання яєчників і надниркових залоз приводять до збільшення рівня андрогенів у жінок репродуктивного віку [10]. Тому метою нашого дослідження було вивчення функціональних особливостей гіпофізарно-надниркової та андрогенної панелі репродуктивної системи щурів-самиць в умовах адаптації організму після важкого ступеня позаклітинного зневоднення.

**Матеріал і методи.** Експеримент проведений на 12 білих статевозрілих щурах-самицях масою 250–300 г, віком 7–8 місяців, що були розподілені на дві групи: контрольну і експериментальну. Щури контрольної групи утримувалися в звичайних умовах віварію.

© Н.Б. Гринцова, А.М. Романюк, Ю.В.Сміянов, 2016

Тваринам експериментальної групи протягом 90 діб моделювали важкий ступінь позаклітинного зневоднення та протягом семи діб вивчали процеси репаративної регенерації [11]. Групи піддослідних тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом на 97-му добу від початку експерименту, у відповідності до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та ін. Функціональний стан гіпофіза, кори надниркових залоз та репродуктивної системи оцінювали шляхом визначення у сироватці периферійної крові дослідних тварин (методом ІФА та автоматичного імунохемилюмінесцентного аналізу) наступних гормонів: лютеїнізуючого гормону (ЛГ), вільного та загального тестостерону (TES), адренкортикотропного гормону (АКТГ), кортизолу (COR) та дегідроепіандростерону сульфату (DHS). Рівні вказаних гормонів визначали з використанням наборів реагентів фірми Siemens (серії 324 для ЛГ, серії 0225 для DHS, серії 0252 для АКТГ, серії 0433 для TES та 0388 для COR) на автоматичному імунохемилюмінесцентному аналізаторі Immulite 1000 Siemens Healthcare Global. Кількісне визначення концентрації вільного TES проводили з використанням реагентів фірми DRG, Німеччина, серія 4078, дата граничного використання 28.02.17. Забір крові проводили шляхом пункції хвостової вени безпосередньо перед декапітацією, в ранковий час, з 6 до 8 год. Кров забирали в пробірки, центрифугували 20 хв при +4 °C (1000 g), після чого відбирали сироватку. Всі зразки були проаналізовані в двох повторях.

Отримані дані статистично обробили з використанням критерію Стьюдента–Фішера. Значущими вважали відмінності при  $p \leq 0,05$ .

**Результати.** Внаслідок довготривалої дії позаклітинного зневоднення на організм піддослідних тварин концентрація АКТГ підвищилася в 2,3 раза ( $p < 0,001$ ;  $t = 20,42087$ ), а рівень кортизолу зменшився на 33,7 % ( $p < 0,001$ ;  $t = 18,72117$ ) у порівнянні з показниками інтактних тварин (табл. 1). Дослідження репродуктивної панелі щурів-самців базувалося на аналізі функціональної активності гонадотропоцитів аденогіпофізу (ЛГ), ендокриноцитів сітчастої зони кори надниркових залоз (DHS), тека-клітин та клітин оваріальної строми яєчника (TES, DHS). Аналізуючи функціональний резерв репродуктивної панелі гіпофізарно-наднирниковозалозної та гіпофізарно-яєчникової системи та її чутливості до порушень водно-сольового балансу в організмі, встановили, що рівень лютеїнізуючого ЛГ у сироватці крові піддослідних і інтактних щурів залишався практично незмінним і був  $< 0,1$  мМОд/мл. Однак показники оптичної щільності цього гормону все ж знизилися на 8,6 % ( $t = 12,39955$ ;  $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками контрольних тварин (табл. 2).

Рівень статевого гормону дегідроепіандростерону сульфату (DHS), що є неактивною формою основного попередника андрогену (дегідроепіандростерону), залишався практично незмінним і мав показники  $< 0,407$  мкмоль/л в сироватці крові як піддослідних, так і інтактних щурів. Однак показник оптичної щільності цього гормону

Таблиця 1. Вміст гормонів у сироватці крові експериментальних і контрольних тварин ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )

Показник	Контрольна група	Експериментальні тварини
АКТГ, пг/мл	52,600±3,167	123,000±1,362***
COR, нмоль/л	175,000±2,475	116,000±1,951***
DHS, моль/л	< 0,407	< 0,407
Загальний TES, нмоль/л	0,950±2,048	< 0,693
Вільний TES, пг/мл	0,146±0,516	0,167±0,920
ЛГ, мМОд/мл	<0,1	<0,1

Примітка. Різниця між показниками в контролі та експерименті; \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

Тут і в табл. 2.

Таблиця 2. Оптична щільність гормонів у сироватці крові експериментальних і контрольних тварин ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )

Показник	Контрольна група	Експериментальні тварини
DHS, умоль/л	30,741±0,410	31,388±1,220
ЛГ, мМОд/мл	118,084±0,520	107,955±0,630***

все ж зазнав незначного підвищення у порівнянні з показниками контрольних тварин – на 2,1 % ( $t = 0,5027$ ;  $p \geq 0,05$ ). Показник загального TES у експериментальних тварин склав  $< 0,693$  нмоль/л, що на 27 % менше, ніж у інтактних тварин ( $t = 0,125488$ ;  $p \geq 0,05$ ). Рівень вільного TES в сироватці крові піддослідних тварин на 14,4 % більший ( $t = 0,019909$ ;  $p \geq 0,05$ ), ніж у контрольних тварин (див. табл. 1).

**Обговорення результатів.** В результаті проведених імуноферментних досліджень встановлено, що функціональний стан гіпофіза, кори надниркових залоз та репродуктивної системи експериментальних тварин зазнає функціональних змін в контексті перебігу загального адаптаційного синдрому. Прослідковується негативний зворотний зв'язок між зниженим рівнем кортизолу в крові і підвищеним рівнем секреції АКТГ гіпофізом; зниженням оптичної щільності ЛГ і підвищенням показників дегідроепіандростерону сульфату та вільного тестостерону. Ці факти вказують на виснаження адаптаційних можливостей гіпофізарно-наднирковозалозно-ооцитарної вісі організму статевозрілих щурів-самиць під впливом сильного та довготривалого стресорного чинника, котрим для організму протягом 90 діб виступала позаклітинна дегідратація [12]. Загальновідомо, що ЛГ стимулює продукцію андрогенів тека-інтерстиціальними клітинами яєчників. Специфічна активність властива лише вільному тестостерону, тому підвищення показників цього гормону в експерименті вказує на участь тестостерону в компенсаторних реакціях організму на дію стресорного фактора. При цьому дія стресора на 7-му добу репаративних змін не виходить за межі компенсаторних можливостей організму. Зменшення рівня загального тестостерону може бути пов'язано зі зменшенням процесу активного

зв'язування TES з протеїнами і за рахунок цього – збільшенням вмісту вільного тестостерону, необхідного для активації відновних і компенсаторно-приспосувальних процесів в організмі. Незначне збільшення оптичної щільності дегідроепіандростерону сульфату можливо віднести за рахунок збільшеної потреби організму в андрогенах, бо DHS опосередковано сприяє екстраваріальній продукції тестостерону.

#### Висновки

1. Порушення водно-сольового балансу організму (змодельоване позаклітинне зневоднення важкого ступеня) чинить на гіпофізарно-наднирковозалозну систему та андрогенну ланку репродуктивної панелі щурів-самиць загальний негативний вплив.

2. На 7-му добу репаративних змін експериментальні щури знаходяться в стані розвитку загального адаптаційного синдрому, стадії виснаження до дії пошкоджуючого агента. Спостерігається порушення механізму зворотного зв'язку в системі регуляції «гіпофіз-надниркові залози» та «гіпофіз-яєчники».

3. Збільшений рівень андрогенів в організмі піддослідних щурів-самиць, крім участі в адаптивних стресорних реакціях, може провокувати в подальшому розвиток ряду захворювань репродуктивної системи.

4. Процеси репаративної регенерації, що діють в організмі експериментальних тварин протягом семи діб, є недостатніми для повної нормалізації взаємовідношень та функціональної активності гіпофізарно-наднирковозалозної системи та андрогенної ланки репродуктивної панелі статевозрілих щурів-самиць.

**Перспективним** є проведення морфологічних і імуногістохімічних досліджень гіпофіза та яєчників щурів в умовах репаративних змін після експериментальної позаклітинної дегідратації важкого ступеня.

#### Література

1. Шовдра Н.В. Ріст і формування кісток скелету тварин, адаптованих до клітинного зневоднення, та у відновний період: автореф. дис. ... канд. мед. наук; спец. «14.03.01 – нормальна анатомія» / Н.В. Шовдра. – Тернопіль, 1998. – 18 с.
2. Бензар І.М. Морфологічні зміни в кістках скелета при адаптації організму до позаклітинної дегідратації // І.М. Бензар / Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – Біла Церква, 1998. – В. 6 ч. Ч. 1. – С. 40–43.
3. Ковешников В.Г. Алгоритм дифференцировки різних популяцій кліток аденогіпофіза інтактних крыс на основі порівняльного ультраструктурного аналізу / В.Г. Ковешников, К.А. Фомина // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 130–134.

4. Корнійкова І.П. Ультраструктурні зміни клітин гіпофіза за умов гіпоосмолярної гіпергідрії при застосуванні тивортину / І.П. Корнійкова // Матер. наук-практ. конф. СумДУ. – Суми, 2012. – С. 58.

5. Использование статистических методов исследования при изучении влияния неблагоприятных экологических факторов на строение гипофиза и его коррекцию антиоксидантами / К.А. Фомина, М.А. Воробьев, Т.В. Воробьева и др. // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 2. – С. 174–176.

6. Наконечная О.А. Влияние техногенных химических факторов на гормональный профиль и активность NO-зависимых процессов в организме теплокровных животных / О.А. Наконечная, С.А. Стеценко, В.И. Жуков // Проблемы эндокринной патологии. – 2008. – № 1. – С. 76–83.

7. Романюк А.М. Морфологічні особливості становлення ендокринного компонента сім'яників щурів у ранньому постнатальному онтогенезі в умовах впливу сполук важких металів / А.М. Романюк, Ю.В. Москаленко // Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. – 2014. – № 2 (2). – С. 224–236.

8. Survey of some heavy metals in sediments from vehicular service stations in Jordan and their effects on social aggression in prepubertal male mice / М. Homady, Н. Hussein, А. Jiries, et al. // Environmental Research. – 2002. – Vol. 89 (1). – P. 43–49.

9. Bataineh H. Assessment of aggression, sexual behavior and fertility in adult male rat following long-term ingestion of four industrial metals salts / H. Bataineh, M.H. Al-Hamood, A.M. Elbetieha // Human and Experimental Toxicology. – 1998. – Vol. 17 (10). – P. 570–576.

10. Репродуктивная эндокринология // Г.М. Кроненберг, Ш.М. Кеннет С. Полонски и др. / под ред. акад. РАН и РАМН И.И. Дедова, чл.-кор. РАМН Г.А. Мельниченко. – Москва: «Рид Элсивер», 2011. – 410 с.

11. Сучасні уявлення про водно-сольовий обмін (огляд літератури та методи власних досліджень) / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач та ін. / Вісник проблем біології і медицини. – 2009. – № 2. – С. 8–14.

12. Патолофизиология / под. ред. А.И. Воложина, Г.В. Порядина. – Москва: Академия, 2006. – Т. 2. – С. 52–58.

**Н.Б. Гринцова, А.Н.Романюк, В.Ю.Смиянов**

**ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ И РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС-САМОК В ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ СТЕПЕНИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ОБЕЗВОЖИВАНИЯ**

Экспериментальное исследование проведено на 12 белых половозрелых крысах-самках массой 250–300 г в возрасте 7–8 месяцев. Крысы находились в состоянии развития общего адаптационного синдрома, стадии истощения к действию повреждающего агента. Процессы репаративной регенерации, действующие в организме экспериментальных животных в течение семи суток, недостаточны для полной нормализации функциональной активности гипофизарно-надпочечниковой системы и андрогенного звена репродуктивной панели половозрелых крыс-самок.

**Ключевые слова:** гипофиз, внеклеточная дегидратация, дегидроэпиандростерона сульфат, тестостерон, яичники.

**N.B. Grintsova, A.M. Romaniuk, V.Yu. Smiyanov**

**DYNAMICS OF FUNCTIONAL CHANGES IN PITUITARY-ADRENAL AND REPRODUCTIVE SYSTEM OF MATURE FEMALE RATS DURING THE PERIOD OF REHABILITATION AFTER SEVERE EXTRACELLULAR DEHYDRATION**

The experimental study was performed on 12 white adult female rats weighing 250–300 g at the age of 7–8 months. We used conventional methods of enzyme immunoassay research. The test rats are in a state of general adaptation syndrome, exhaustion step to action damaging agent. The processes of reparative regeneration, acting in the body of the experimental animals within 7 days, are insufficient for a full normalization of the functional activity of the pituitary-adrenal system and the androgen level panel reproductive adult female rats.

**Key words:** pituitary gland, extracellular dehydration, dehydroepiandrosterone sulfate, testosterone, ovary.

Поступила 28.04.16