

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ПЕРЕБУДОВИ ГІПОФІЗ-СІМ'ЯНИКІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

**О. Я. Жураківська, В. А. Левицький, Ю. І. Попович,
Т. В. Князевич-Чорна**

*Івано-Франківський національний медичний університет; 76000,
м. Івано-Франківськ, вул. Галицька 2; тел. +380 (3422) 4-51-24;
e-mail: ifdmu@ifdmu.edu.ua*

Наукова робота присвячена питанням вивчення морфофункціональної організації гіпофіз-сім'яників при цукровому діабеті 1-го типу. Для дослідження використали гіпофіз, яєчка, яєчники 60 щурів лінії Вістар, 20 з яких послужили контролем, а в 40-ка моделювали стрептозотоциновий цукровий діабет та забирали матеріал через 2 і 4 тижні після експерименту. Експериментальний ЦД викликає гостру асептичну деструкцію сім'яників, яка має стадійний характер (альтерацію, ексудацію та гіпотрофію) та відбувається на тлі розвитку діабетичної мікроангіопатії. В них прослідковуються морфологічні ознаки пригнічення активності клітин інтерстицію, зменшуються кількість та об'єм клітин Лейдига, спостерігаються гіоплазія і гіпотрофія сперматогенного епітелію: зменшується кількість сперматогоній – на 29,3%, сперматоцитів I та II порядків – на 40,1%, сперматид – на 26,5% відносно контрольних показників, що спричиняє зниження висоти сперматогенного епітелію до $(40,29 \pm 1,42)$ мкм ($p < 0,01$). За таких умов за механізмом зворотного зв'язку відбувається активація гормональної активності гонадотропів аденогіпофіза, що проявляється описаними нами їх морфологічними змінами, а саме: світлі гонадотропи за ультраструктурною організацією нагадують клітини кастрації, збільшуються їх ядерно-цитоплазматичний індекс та об'ємна щільність СГ у них. Поряд із цим, функціональне перевантаження цих клітин у кінцевому результаті приводить до їх деструктивних змін.

Ключові слова: цукровий діабет, гіпофіз, яєчка.

Вступ

Цукровий діабет (ЦД) є однією з найбільш актуальних проблем клінічної медицини, що зумовлено широкою поширеністю, клінічним поліморфізмом, тяжкістю ускладнень. З кожним роком його частота неухильно зростає і сьогодні у світі на ЦД хворіють більше 110 млн. осіб [2]. В Європі питома вага таких хворих становить близько 4% [4]. В Україні офіційно зареєстровано більше мільйона хворих на цукровий діабет (2,4% від всього населення), проте реально кількість людей з не-

діагностованою патологією перевищує цю цифру у 3-4 рази [2]. Поза увагою дослідників залишилися морфофункціональні зміни гіпофізарно-гонадної системи при цукровому діабеті, хоча за оцінювальними даними в Україні спостерігається біля 1 млн. безплідних подружніх пар [4, 6], що розглядається як прямі репродуктивні втрати, оскільки за умови сучасного показника дітородної активності (1,2 на одну жінку), щорічно втрачається біля 1,2 млн [4, 6] бажаних ненароджених дітей. Дослідження змін у гіпофіз-гонади при цій патології дозволить вирішити проблему репродуктивного здоров'я населення.

Враховуючи вище сказане, **метою** дослідження є встановлення закономірностей морфофункціональних змін гонадотропів гіпофізу, гермінативного епітелію яєчок та паренхіми яєчників при експериментальному цукровому діабеті 1-го типу.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалом для дослідження служили шматочки аденогіпофізу, яєчок 20-ти 12-міс. щурів-самців лінії Вістар. Всі тварини були поділені на дві групи: контрольну (10 тварин) та експериментальну (10 тварин), в якій моделювали стрептозотоциновий цукровий діабет (шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозоточину (7 мг на 100 г маси тіла) розчиненого в 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5) та забирали матеріал на 28 добу після експерименту. Для електронної мікроскопії матеріал готували за загальноприйнятою методикою і розглядали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при прискорювальній напрузі 75 кВ. Для гістологічного дослідження матеріал фіксували в 10% нейтральному формаліні виготовляли парафінові блоки, зрізи фарбували гематоксилін-еозином, напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки. Для гістологічного дослідження шматочки гіпофіза фіксували в розчині Буена, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали «азаном» за Гейденгайном. Гістологічні препарати вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900.

Процес морфометрії здійснювався на вказаному фотоматеріалі за допомогою програмного забезпечення NIH USA «Image J» (США) в ручному режимі з урахуванням збільшень. Структурні зміни на певному етапі дослідження ми аналізували в 50 полях зору і визначали показники площі профільного поля різних типів ендокриноцитів і їх ядер, ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ) (співвідношення площі профільного поля ядра до площі профільного поля цитоплазми). Секреторний процес оцінювали за показниками об'ємної щільності секреторних гранул (СГ) в ендокриноцитах ($V_i = P_i / P_t$ [1]).

Результати дослідження та їх обговорення.

На 28-у добу експерименту рівень глюкози у 12-міс. щурів продовжує зростати і становить $(15,13 \pm 0,37)$ ммоль/л (контроль – $(5,29 \pm 0,18)$ ммоль/л, $p < 0,001$), а рівень інсуліну знижується до $(1,26 \pm 0,07)$ Од/мл

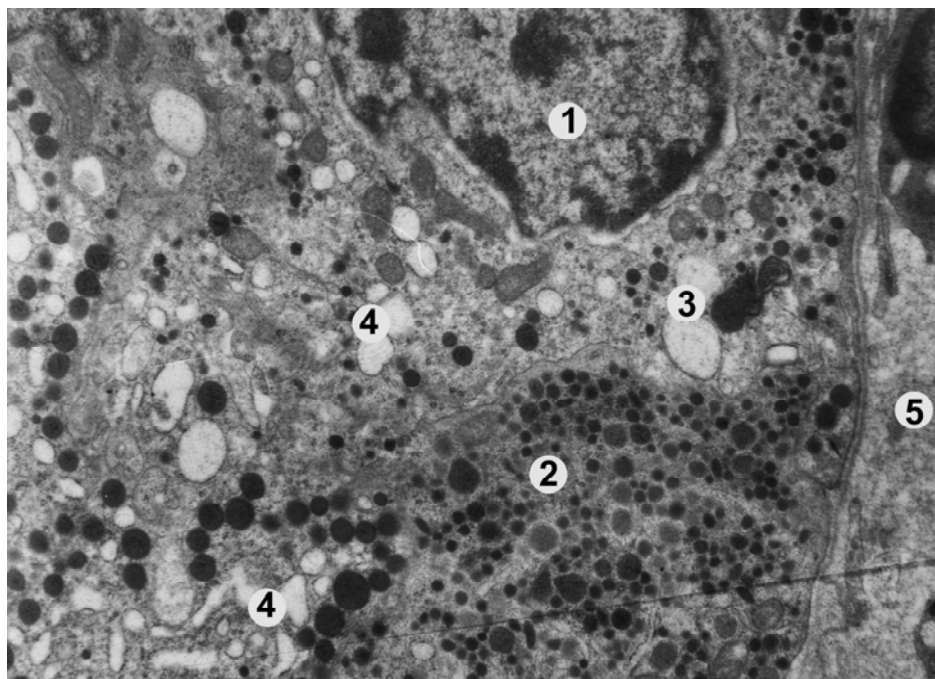
(контроль – $(3,91 \pm 0,14)$ Од/мл, $p < 0,001$). Зростає в крові вміст HbA1c до $(8,15 \pm 0,18)\%$ (контроль – $(2,03 \pm 0,08)\%$, $p < 0,001$).

У 12-міс. тварин кількість гонадотропів на площі $0,01 \text{ мм}^2$ достовірно не змінюється, порівняно з контрольними показниками, і становить $8,64 \pm 0,06$ (контроль – $10,5 \pm 1,02$). Площа ядер та ЯЦІ гонадотропів зростають відповідно до $(52,86 \pm 1,29) \text{ мкм}^2$ (контроль – $(31,75 \pm 1,43) \text{ мкм}^2$, $p < 0,05$) та $0,41 \pm 0,05$ (контроль – $0,23 \pm 0,04$, $p < 0,05$). При цьому площа клітин залишається незмінною і становить $(181,74 \pm 7,54) \text{ мкм}^2$ (контроль – $(176,38 \pm 6,52) \text{ мкм}^2$, $p > 0,05$).

У світлих і темних гонадотропах на ультраструктурному рівні відмічаються ознаки підвищення їх секреторної активності, які проявляються збільшенням протяжності цистерн, каналців та кількості пухирців комплексу Гольджі (КГ), цистерн і вакуолей гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) та рибосом на їх поверхні (рис. 1). У цитоплазмі, поряд із деструктивно зміненими мітохондріями, є із збереженою ультраструктурою. СГ у дегранульованих клітинах локалізуються біля люмінальної плазмолемі (див. рис. 1), а у гіпергранульованих заповнюють всю цитоплазму. СГ є різної форми: від сферичної до овальної помірної електронної щільності. Одні з них мають чітко виражену мембрану і відносяться до зрілих, інші мають розмиту периферію і відносяться до дифундуючих СГ. Відмічається зростання об'ємної щільності СГ у світлих гонадотропах 12-ї 24-міс. тварин до $(11,23 \pm 0,56)\%$ ($p < 0,05$) та $(8,53 \pm 0,47)\%$ ($p < 0,01$), натомість у темних клітинах вона достовірно не змінюється: $(11,42 \pm 0,33)\%$ ($p > 0,05$) та $(5,24 \pm 0,23)\%$ ($p > 0,05$). Така структура СГ та наявність різних типів гонадотропів (гіпер-, помірно- і дегранульованих) вказують на посилений синтез та виведення секрету із клітин.

На 28-у добу розвитку стрептозотоциніндукованого цукрового діабету мікросудини яєчка формують розріджену сітку з деформованими петлями навколо звивистих сім'яних трубочок. В артеріолах спостерігається облітерація просвіту, деструкція ендотелію, склероз базальної мембрани і гіаліноз гладком'язових клітин, посилюється звивистість артеріол. У гемокапілярах значно звужується діаметр просвіту. При цьому виявляються набряк і десквамація ендотелію. Базальна мембрана нерівномірно потовщується, зменшується щільність і чіткість її контурів: в одних ділянках вона має звивисті контури, в інших – порушується її цілісність. Ядра ендотеліоцитів набувають неправильної форми, пікнотичні, в деяких клітинах спостерігається їх лізис. Ядерна оболонка утворює інвагінації різної глибини. Нуклеоплазма ендотеліоцитів має незначну електронну щільність. В ній відмічається периферійне розміщення хроматину, перинуклеарний простір не визначається. Ядерце не диференціюється. Спостерігається виражений набряк цитоплазми ендотеліоцитів, розрідження і просвітлення її матриксу, вакуолізація. У ве-

нулах відмічається посилення звивистості, витонщення стінок, облітерація просвіту.



1 – ядро світлого гонадотропа, 2 – секреторні гранули в цитоплазмі темного гонадотропа, 3 – вакуолі, 4 – розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, 5 – просвіт капіляра

Рис. 1. Субмікроскопічна перебудова гонадотропів на 28-у добу стрептозотоцинового діабету. Зб.: 8000

У цей термін у паренхімі яєчок відмічається потовщення базальної мембрани сім'яних звивистих каналців та зміщення шарів сперматогенного епітелію в бік їх просвіту. В частині сперматогоній виявляється деструкція крист мітохондрій, збільшується кількість дрібних вакуолей.

У сперматоцитах та сперматидах на стадії прелептотени цитоплазма має низьку щільність, в деяких клітинах відмічаються частково зруйновані мітохондрії. Найбільш виражених змін зазнають сустентоцити, в цитоплазмі яких з'являється велика кількість різних розмірів вакуолей, ліпідних крапель і лізосом. Поряд з цим, контакти між підтримуючими клітинами не порушуються. У гландулоцитах відмічаються подібні ультраструктурні зміни, а їх особливою ознакою є зменшення кількості СГ. Таким чином, наступають гіпоплазія і гіпотрофія сперматогенного епітелію, які є наслідком застійних явищ у венолярній ланці судин яєчка, ішемії органа через звуження приносних судин. Також спостерігається велика варіація в процесі сперматогенезу, а саме, передчасне відшарування сперматид, далі розвивалось відшарування сперматоцитів, що в

кінцевому рахунку призводило до повної атрофії гермінативного епітелію.

Морфометричне дослідження ячок при стрептозотоциніндукованому цукровому діабеті показало достовірне зменшення площі поперечного перерізу звивистих сім'яних каналців до $(209,16 \pm 3,78)$ мкм² (контроль – $(215,68 \pm 2,72)$ мкм², $p < 0,05$) за рахунок зменшення висоти сперматогенного епітелію до $(40,29 \pm 1,42)$ мкм (контроль – $(55,83 \pm 1,27)$ мкм, $p < 0,01$). В просвіті сім'яних каналців визначалось поступове зменшення кількості шарів та клітин сперматогенного епітелію: сперматогоній до $122,94 \pm 4,04$ (контроль – $186,58 \pm 4,83$, $p < 0,001$), сперматоцитів – до $129,13 \pm 4,77$ (контроль – $142,77 \pm 2,75$, $p < 0,05$), сперматид – до $214,68 \pm 7,53$ (контроль – $318,70 \pm 7,60$, $p < 0,01$).

Морфофункціональні зміни аденогіпофізу і ячок експериментальних тварин при експериментальному цукровому діабеті у більшим чинном є взаємозв'язаними [8, 10]. Дистрофічно-деструктивні зміни ячок, включаючи гормонопродукуючі структури (гландулоцити ячок), проявляються порушенням не тільки гермінативної, а і гормональної функції даного органа. Це підтверджується і даними інших дослідників [6, 8, 9], які відмічали зниження в крові щурів рівня тестостерону при стрептозотоциновому ЦД. У таких умовах за механізмом зворотного зв'язку, відбувається активація гормональної активності гонадотропів аденогіпофіза, що проявляється описаними нами їх морфологічними змінами. Поряд з цим функціональне перевантаження гонадотропів аденогіпофіза в кінцевому результаті призводить до їх деструктивних змін. Такі ж морфологічні зміни в фолікулотропах гіпофізу щурів виявляли інші дослідники [7] після односторонньої кастрації. Вони вказують на збільшення в крові рівня фолікулостимулюючого гормону у відповідь на низький рівень в крові тестостерону та фактора, який виробляється сперматогоніями і за нормальних умов гальмує секрецію фолікулостимулюючого гормону. Спираючись на вище вказані дані, ми припускаємо, що така активація гонадотропів пов'язана не з гіперглікемією, а з деструктивними змінами гландулоцитів та сперматогенного епітелію ячок.

Висновки. Експериментальний ЦД викликає гостру асептичну деструкцію сім'яників, яка має стадійний характер (альтерацію, ексудацію та гіпотрофію) та відбивається на тлі розвитку діабетичної мікроангіопатії. В них прослідковуються морфологічні ознаки пригнічення активності клітин інтерстицію, зменшуються кількість та об'єм клітин Лейдіга, спостерігаються гіпоплазія і гіпотрофія сперматогенного епітелію: зменшується кількість сперматогоній – на 29,3%, сперматоцитів I та II порядків – на 40,1%, сперматид – на 26,5% відносно контрольних показників, що спричиняє зниження висоти сперматогенного епітелію до $(40,29 \pm 1,42)$ мкм ($p < 0,01$). За таких умов за механізмом зворотного зв'язку, відбувається активація гормональної активності гонадотропів аденогіпофіза, що проявляється описаними нами їх морфологічними

змінами, а саме: світлі гонадотропи за ультраструктурною організацією нагадують клітини кастрації, збільшується їх ядерно-цитоплазматичний індекс та об'ємна щільність СГ у них. Поряд і з цим функціональне переваження цих клітин у кінцевому результаті приводить до їх деструктивних змін.

Література

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Діагностика і лікування переддіабету в континуумі гіперглікемії: коли починається ризик розвитку цукрового діабету? / А.І. Garber [та ін.] // Ліки України. – Київ: ТОВ «Інформаційний центр Медпромінфо». – 2009. – №1. – С. 8-15.
3. Лучицький Є.В. Ерекtilьна дисфункція у чоловіків, хворих на цукровий діабет / Є.В. Лучицький, О.В. Качура // Ендокринологія. – 2001. – Т.6. – №1. – С. 121-123.
4. Паньків В.І. Сучасна медична допомога хворим на цукровий діабет / В.І. Паньків // Практична ангіологія: видання для лікаря-практика. – 2008. – №3. – С. 12-18.
5. Подольський В.В. Визначення медико-соціального впливу сучасних технологій ведення вагітних із цукровим діабетом на стан репродуктивного здоров'я жінок фертильного віку / В.В. Подольський, Т.В. Авраменко, Т.В. Коломійченко // Здоров'я жінки: Всеукраїнський науково-практичний журнал. – 2009. – №4. – С. 112-114.
6. Vaccetti B. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality / B. Vaccetti, A. La Marca, P. Piomboni // Hum. Reprod. – 2002. – Vol.17, №10. – P. 2673-2677.
7. The effect of callosotomy on testicular steroidogenesis in hemiorchiectomized rats: a pituitary-independent regulatory mechanism / P. Banczewski, Z. Csaba, V. Csernus, I. Gerendai // Brain Res Bull. – 2000. – Vol.53, № 2. – P.227-232.
8. Chabrolle C. Effects of high levels of glucose on the steroidogenesis and the expression of adiponectin receptors in rat ovarian cells / C. Chabrolle, E. Jeanpierre, L. Tosca // Reprod Biol Endocrinol. – 2008. – Vol.19. – P. 6-11.
9. Pituitary-testicular axis function, biological to immunological ratio and charge isoform distribution of pituitary LH in male rats with experimental diabetes / A. Olivares, J.P. Míndez, M. Córdenas [et al.] // Gen. Comp. Endocrinol. – 2009. – Vol.161, №3. – P. 304-312.
10. Rabbani S.I. Inhibitory effect of glimepiride on nicotinamide-streptozotocin induced nuclear damages and sperm abnormality in diabetic Wistar rats / S.I. Rabbani, K. Devi, S. Khanam // Indian J. Exp. Biol. – 2009. – Vol.47, №10. – P. 804-810.

Стаття надійшла до редакційної колегії 21.11.2014 р.

Рекомендовано до друку д.м.н., професором Волковим К.С. (м. Тернопіль), д.м.н., професором Абрамовим А.В. (м. Запоріжжя)

STRUCTURAL FEATURES OF PITUITARY-GONADS REARRANGEMENTS DURING DIABETIC EXPERIMENT

**O. J. Zhurakivska, V. A. Levitsky, Y. I. Popovych,
T. V. Knyazevych-Chorna**

Ivano-Frankivsk National Medical University; 76018, Ivano-Frankivsk, Galytska str. 2; ph. +380 (3422) 4-51-24; e-mail: ifdmu@ifdmu.edu.ua

Scientific research is devoted to studying of morphological and functional organization of pituitary-gonads in type 1 diabetes. During the research, pituitary gland, testes, ovaries of 60 Wistar rats were used, 20 of which served as control, and 40-modeled streptozotocin-induced diabetes. The material were taken after 2 and 4 weeks after the experiment. Experimental diabetes causes acute aseptic destruction of gonads with phases characteristics (alteration, exudation and malnutrition) and takes place against the backdrop of diabetic microangiopathy. They traced the morphological features of inhibition of interstitial cells, reduced the number and volume of Leydig cells, hypoplasia and malnutrition of spermatogenic epithelium are observed: there is decrease in the quantity of spermatogonia – by 29.3%, spermatocytes of I and II orders – by 40.1%, spermatids – by 26.5% as compared to the controlled, which causes a reduction in level of spermatogenic epithelium ($40,29 \pm 1,42$) mm ($p < 0.01$). Under these conditions, by the mechanism of feedback activation of hormonal activity of gonadotrophs of adenohypophysis takes place, it was manifested as described in their morphological changes, in addition: light gonadotrophs remind castration cells by the ultrastructural organization, their nuclear-cytoplasmic index and bulk density in SG increased. Among these functional overload of these cells eventually leads to their destructive changes.

Key words: *diabetes, pituitary, gonads.*