

ЭНДОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У КАСТРИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОВАРИАЛЬНОЙ ТКАНИ

Тищенко Ю. О.¹, Киروشка В. В.², Бондаренко Т. П.²

¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина;

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

На сегодняшний день одной из задач клинической эндокринологии является восстановление функций желез внутренней секреции. Особенно актуальным этот вопрос остается для женских половых желез в связи с прогрессирующим ростом случаев угасания функции яичников или необходимостью овариоэктомии (хирургическая менопауза). По мнению ряда авторов [1–3], хирургическая менопауза приводит не только к бесплодию и дефициту половых гормонов, но и к функциональным нарушениям других систем организма. Так, у 60–80 % женщин наблюдается постовариэктомический синдром [3, 4], сопровождающийся развитием обменно-эндокринных изменений, таких как эндотелиальная дисфункция, нарушение липидного и углеводного обменов, метаболизма костной ткани, ухудшение реологических свойств крови [5, 6]. Прогрессирующая утрата гормональной активности вызывает формирование нарушений липидного спектра, таких как повышение уровней общего холестерина, липопротеидов низкой плотности и триглицеридов, влияющих на увеличение риска развития заболеваний сердечно-сосудистой систе-

мы [2, 7], а также нарушения метаболизма глюкозы и перераспределение натрия в организме.

До недавнего времени уровень секреции половых гормонов восстанавливали преимущественно методом заместительной гормональной терапии. Однако не всегда возможно применять назначенное лечение в полном объеме из-за длительных курсов терапии, побочных реакций, противопоказаний и т. д.

Новым перспективным способом коррекции гормональной недостаточности и связанных с нею системных нарушений стала трансплантация овариальной ткани [8, 9]. Однако сейчас практически отсутствуют данные о влиянии трансплантации овариальной ткани различной степени зрелости на динамику показателей обмена веществ и гормонального статуса кастрированных животных-реципиентов.

Целью данной работы было изучение эндокринной функции и некоторых показателей обмена веществ кастрированных животных при ауто- и аллотрансплантации половозрелой овариальной ткани и неонатальных яичников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения экспериментов использованы 66 самок крыс линии Вистар в возрасте 3 месяцев, весом 120–165 г, которые

содержались в стандартных условиях вивария ИПКиК НАН Украины.

Содержание и использование лаборатор-

ных животных соответствовало положениям «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и иной научной целью» (г. Страсбург, 1985) и национальными нормам биоэтики (I Национальный конгресс по биоэтике, г. Киев, 2001).

Животные-реципиенты были разделены на 3 группы: крысы, которым осуществляли аутотрансплантацию; крысы, которым выполняли аллотрансплантацию половозрелой овариальной ткани; крысы, которым осуществляли аллотрансплантацию неонатальных яичников (неонатальные яичники выделяли из новорожденных крыс в течение первых 24 часов после рождения).

Всем животным экспериментальной группы трансплантацию выполняли под капсулу левой почки одновременно с овариоэктомией. Время проведения трансплантационной процедуры составляло 20 мин.

Контролем для экспериментальных групп служили интактные животные и животные с двухсторонней овариоэктомией.

Операции проводили в стерильных условиях под комбинированным наркозом (кетамин, ксилазин), который вводили внутривентриально. Для трансплантации зрелой овариальной ткани яичники, выделенные в процессе овариоэктомии половозрелых крыс, фрагментировали (0,5–1 мм³) и помещали в стерильную среду 199 при комнатной температуре. Неонатальные яичники трансплантировали целиком.

На 30, 60 и 100 сутки после трансплантации проводили эвтаназию животных при помощи эфирного наркоза. Кровь для анализа брали внутрисердечной пункцией, центрифугировали при 3000g 20 мин. Часть со-

бранного супернатанта использовалась для определения содержания натрия, глюкозы, холестерина, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триглицеридов, а другую часть подвергали замораживанию при температуре –18°C для дальнейшего определения концентрации эстрадиола и прогестерона.

Концентрацию натрия в сыворотке крови определяли колориметрическим методом с помощью «Набора реагентов для определения концентрации натрия в сыворотке или плазме крови» («Ольвекс Диагностикум»). Для определения концентрации глюкозы использовали «Набор реагентов для определения концентрации натрия в глюкозы» («Филисит-Диагностика»).

Концентрацию холестерина, ЛПВП, триглицеридов в сыворотке крови определяли колориметрическим методом с помощью «Набора реагентов для определения содержания холестерина, липопротеинов высокой плотности, триглицеридов» (ЗАО «Диакон-ДС»).

Содержание эстрадиола и прогестерона в плазме крови животных-реципиентов определяли методом радиоиммунологического анализа с использованием стандартных тест-наборов РИА-эстрадиол-СТ и РИА-прогестерон-СТ (Беларусь) согласно инструкции.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного приложения Excel. Данные представлены как среднее арифметическое со стандартной ошибкой ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$). Статистическую достоверность оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа, достоверными считались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований показано, что у экспериментальных животных при ауто- и аллотрансплантациях половозрелой овариальной ткани на 30 сутки концентрации эстрадиола и прогестерона, а также все исследуемые показатели обмена веществ в плазме крови находились в преде-

лах значений, характерных для интактных животных (рис. 1–4, табл. 1).

При трансплантации неонатальных яичников на этом сроке наблюдения уровень половых гормонов был достоверно снижен, однако оставался высоким относительно кастрированных крыс. Следует отметить, что

Концентрация холестерина, ЛПВП и триглицеридов в плазме крови животных-реципиентов на ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Срок наблюдения	Группа животных	Холестерин, ммоль/л	ЛПВП, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
	Интактные животные (n = 6)	1,73 ± 0,35	0,5 ± 0,05	1,18±0,30
	Кастрированные животные (n = 6)	2,96 ± 0,39*	0,37 ± 0,05*	2,12 ± 0,36*
30 суток	Животные с аутотрансплантатами (n = 6)	1,75 ± 0,35**	0,49 ± 0,04**	1,15 ± 0,29**
	Животные с аллотрансплантатами половозрелой овариальной ткани (n = 6)	1,82 ± 0,38**	0,48 ± 0,06**	1,32 ± 0,25**
	Животные с аллотрансплантатами неонатальных яичников (n = 6)	2,12 ± 0,32**	0,45 ± 0,04**	1,25 ± 0,20**
60 суток	Животные с аутотрансплантатами (n = 6)	1,75 ± 0,36**	0,49 ± 0,05**	1,22 ± 0,24**
	Животные с аллотрансплантатами половозрелой овариальной ткани (n = 6)	2,26 ± 0,27* **	0,44 ± 0,04* **	1,46 ± 0,20**
	Животные с аллотрансплантатами неонатальных яичников (n = 6)	2,24 ± 0,25* **	0,41 ± 0,04*	1,85 ± 0,17*
100 суток	Животные с аутотрансплантатами (n = 6)	1,79 ± 0,37**	0,48 ± 0,05**	1,22 ± 0,25**
	Животные с аллотрансплантатами половозрелой овариальной ткани (n = 6)	2,26 ± 0,27* **	0,42 ± 0,05*	1,65 ± 0,18* **
	Животные с аллотрансплантатами неонатальных яичников (n = 6)	2,62 ± 0,33*	0,40 ± 0,05*	1,85 ± 0,21*

Примечание. * — P < 0,05 относительно интактных животных, ** — P < 0,05 относительно кастрированных животных.

в этой экспериментальной группе отмечалось понижение уровня натрия и повышение глюкозы (рис. 3, 4), тогда как содержание холестерина, ЛПВП и триглицеридов оставалось в пределах физиологических значений (табл. 1).

На 60 сутки наблюдения при аутотрансплантации у животных концентрация эстрадиола была $0,31 \pm 0,04$ нмоль/л, а прогестерона — $71,94 \pm 9,77$ нмоль/л, при норме $0,35 \pm 0,05$ и $88,57 \pm 15,55$ нмоль/л, соответственно (рис. 1, 2). Исследованные показатели обмена веществ оставались на уровне интактной группы.

При аллотрансплантации половозрелой овариальной ткани и неонатальных яичников у животных уровень эстрадиола снижался до $0,24 \pm 0,04$ и $0,12 \pm 0,02$ нмоль/л, а прогестерона — $52,01 \pm 6,41$ и $17,35 \pm 3,26$ нмоль/л, соответственно. У этих животных отмечено также достоверное уменьшение содержания натрия и ЛПВП.

В случае аллотрансплантации половозрелой овариальной ткани концентрации глюкозы и триглицеридов соответствовали показателям интактных животных, тогда как содержание холестерина достоверно увеличивалось (рис. 3, 4, табл. 1), но не достигало значений овариоэктомированных крыс.

У животных с имплантацией неонатальных яичников отмечен значительный рост уровня глюкозы, холестерина и триглицеридов.

При увеличении сроков наблюдения до 100 дней было установлено, что содержание эстрадиола и прогестерона, а также исследуемые показатели обмена веществ находились в пределах значений интактных животных только при аутотрансплантации (рис. 1–4, табл. 1), в то время как в остальных экспериментальных группах наблюдалось достоверное снижение этих показателей.

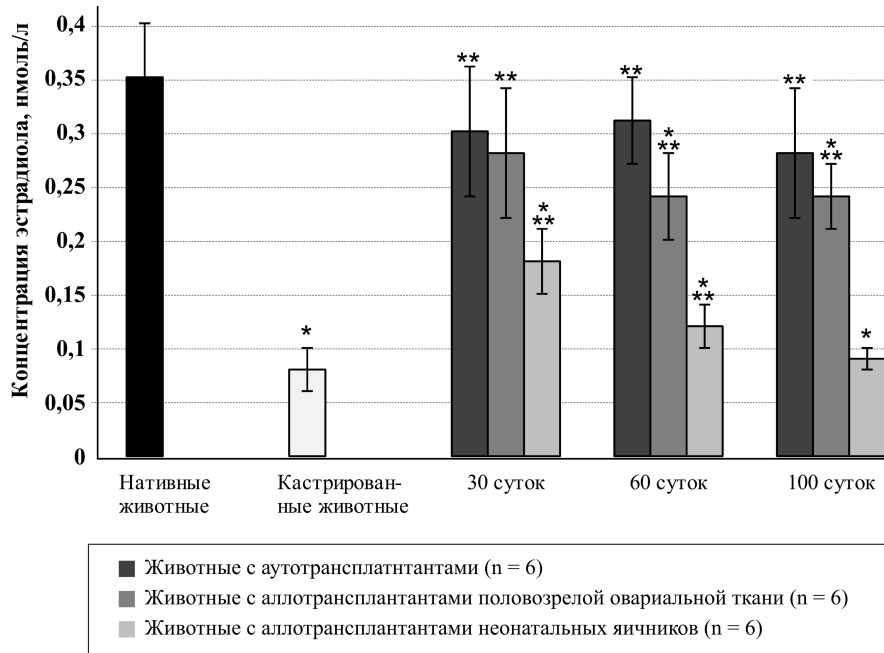


Рис. 1. Концентрация эстрадиола в плазме крови животных-реципиентов.

* — P < 0,05 относительно интактных животных; ** — P < 0,05 относительно кастрированных животных.

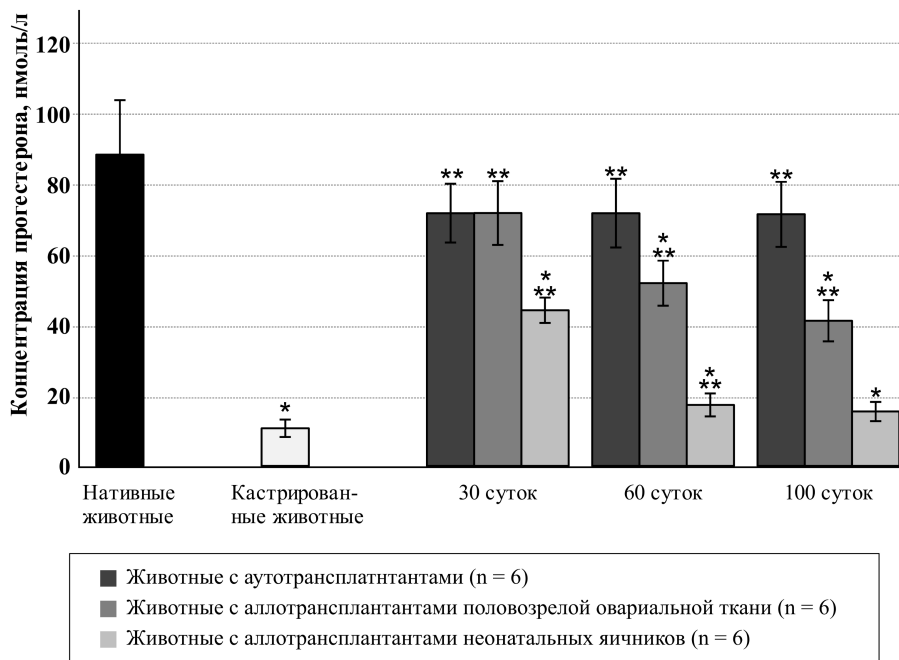


Рис. 2. Концентрация прогестерона в плазме крови животных-реципиентов.

* — P < 0,05 относительно интактных животных; ** — P < 0,05 относительно кастрированных животных.

Аллотрансплантация половозрелой овариальной ткани привела к достоверному изменению всех показателей обмена веществ у животных относительно интактной группы. Так, концентрация натрия составляла $135,20 \pm 5,59$ ммоль/л (против $150,52 \pm 6,08$ ммоль/л у интактных жи-

вотных), глюкозы — $8,86 \pm 1,10$ ммоль/л (против $6,05 \pm 0,62$ ммоль/л), холестерина — $2,26 \pm 0,27$ ммоль/л (против $1,73 \pm 0,35$ ммоль/л), ЛПВП — $0,42 \pm 0,05$ ммоль/л (против $0,5 \pm 0,05$ ммоль/л), триглицеридов — $1,65 \pm 0,18$ ммоль/л (против $1,18 \pm 0,3$ ммоль/л).

При аллотрансплантации овариальной ткани на 100 сутки наблюдается снижение уровня половых гормонов относительно интактных животных. При этом показатели обмена веществ изменяются следующим образом: уровень натрия достоверно уменьшается, холестерин и триглицеридов увеличивается относительно показателей нормы, а концентрация глюкозы и ЛПВП находится в пределах значений овариоэктомированных животных. Это свидетельствует о взаимосвязи гормонального статуса и уровня метаболизма животного-реципиента и, по всей видимости, может обуславливаться реакцией хронического отторжения аллотрансплантатов на длительных сроках функционирования.

При трансплантации неонатальных яичников показано, что на 30 сутки уровень эстрадиола и прогестерона достоверно вы-

ше, чем у овариоэктомированных животных, что свидетельствует о функционировании данного трансплантата. Однако следует отметить, что эти показатели значительно ниже по сравнению с животными других экспериментальных групп. Имплантация неонатальных яичников приводит к тому, что на 100 сутки наблюдения как уровень гормонов, так и показатели обмена веществ у реципиентов находятся в пределах, характерных для кастрированных животных. Следовательно, можно сделать вывод, что при увеличении сроков наблюдения отмечается динамика угасания функционирования данных трансплантатов. Очевидно, это связано с особенностями развития и функционирования трансплантата неонатальных яичников в организме половозрелого реципиента.

ВЫВОДЫ

1. Ауто- и аллотрансплантация половозрелой овариальной ткани приводит к восстановлению уровня половых гормонов и показателей обмена веществ у кастрированных животных-реципиентов на длительных сроках наблюдения.

2. Заместительный гормональный эффект неонатальных яичников наблюдается только на ранних этапах после трансплантации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаров О. В. Функциональное состояние яичников и метаболические изменения у женщин репродуктивного возраста после гистерэктомии [Текст] / О. В. Макаров // Рос. мед. жур. — 1998. — № 6. — С. 26–29.
 2. Сметник В. П. Менопауза и сердечно-сосудистая система [Текст] / В. П. Сметник, И. Г. Шестакова // Терапевтический архив. — 1999. — Т. 71, № 10. — С. 61–65.
 3. Юренева С. В. Синдром постовариэктомии [Текст] / С. В. Юренева // Materia Medica. — 1999. — Т. 22, № 2. — С. 3–10.
 4. Мануилова И. А. Клиника, патогенез и лечение посткастрационного синдрома [Текст] / И. А. Мануилова. — М.: [б. и.], 1980.
 5. Алиханова З. М. Патофизиология системных изменений у женщин репродуктивного возраста после тотальной овариэктомии [Текст] / З. М. Алиханова // Акушерство и гинекология. — 1996. — № 1. — С. 11–14.
 6. Дзяк Г. В. Дисметаболический постменопаузаль-

ный синдром [Текст] / Г. В. Дзяк, Н. К. Крыжановская // Журн. АМН Украины. — 2000. — № 3. — С. 485–495.
 7. Losordo D. W. Estrogen receptors and cardiovascular disease [Text] // Hypertension in postmenopausal women / F. U. Messeril. — New York: Marsel Dekker Inc., 1996. — P. 13–42.
 8. Використання ауто-трансплантації овариальної тканини у лікуванні посткастраційного синдрому [Текст] / Д. В. Салтовський, О. С. Прокопюк, В. В. Лазуренко [та ін.] // Трансплантологія. — 2003. — Т. 4, № 1. — С. 186–188.
 9. Кустов Д. Ю. Ксенотрансплантация культур овариальной ткани как способ коррекции нарушений водно-солевого обмена при экспериментальной овариальной недостаточности [Текст] / Д. Ю. Кустов, А. А. Слюсарев, Ю. Г. Друпп, Е. А. Ракша-Слюсарева // Трансплантологія. — 2005. — Т. 8, № 4. — С. 46–50.

ЕНДОКРИННА ФУНКЦІЯ ТА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ РЕЧОВИН КАСТРОВАНИХ ТВАРИН ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ОВАРІАЛЬНОЇ ТКАНИНИ

Тищенко Ю. О.¹, Кірошка В. В.², Бондаренко Т. П.²

¹Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна;

² Інститут проблем криобіології і криомедицини НАН України, м. Харків

Досліджено динаміку ендокринної функції та деякі показники обміну речовин у кастрованих тварин за умов ауто- і алотрансплантації статевозрілої оваріальної тканини та неонатальних яєчників. Встановлено, що ауто- і алотрансплантації статевозрілої оваріальної тканини призводять до відновлення рівня статевих гормонів та показників обміну речовин у кастрованих тварин-реципієнтів на тривалому терміні спостереження. Замісний гормональний ефект неонатальних яєчників спостерігається тільки на ранніх етапах після трансплантації.

К л ю ч о в і с л о в а : яєчник, трансплантація, овариоектомія, естрадіол, прогестерон.

ЭНДОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ И НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ У КАСТРИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОВАРИАЛЬНОЙ ТКАНИ

Тищенко Ю. О.¹, Кірошка В. В.², Бондаренко Т. П.²

¹Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина;

² Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Исследована динамика эндокринной функции и некоторых показателей обмена веществ у кастрированных животных при ауто- и аллотрансплантиции половозрелой овариальной ткани и неонатальных яичников. Установлено, что ауто- и аллотрансплантиции половозрелой овариальной ткани приводят к восстановлению уровня половых гормонов и показателей обмена веществ у кастрированных животных-реципиентов на длительных сроках наблюдения. Заместительный гормональный эффект неонатальных яичников наблюдается только на ранних этапах после трансплантиции.

К л ю ч е в ы е с л о в а : яичник, трансплантиция, овариоектомия, эстрадиол, прогестерон.

ENDOCRINE FUNCTION AND SOME METABOLIC PARAMETERS OF CASTRATED ANIMALS WITH TRANSPLANTATED OVARIAN TISSUE

Ju. O. Tischenko¹, V. V. Kiroshka², T. P. Bondarenko²

¹V. N. Karazin Kharkiv National University;

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

In this study we investigated the dynamics of the endocrine function and some metabolic indices of castrated animals with auto- and allotransplantation of matured ovarian tissue and neonatal ovaries for a long observation period. Auto- and allotransplantations of matured ovarian tissue were found to lead to the restoration of the sex hormone level and metabolic parameters in castrated recipient animals for a long period, whereas in the transplantation of neonatal ovaries the hormone substitution effect is observed only at the early stages after transplantation.

K e y w o r d s : ovary, transplantation, ovariectomy, estradiol, progesterone.