

УДК 591.3:591.8

Шакало О.Б., Спринь О.Б.

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В АДЕНОГІПОФІЗИ ПІСЛЯ ХІМІОТЕРАПІЇ

Херсонський державний університет

*Ключові слова:* аденогіпофіз, ацидофіли, базофіли, карциносаркома Уокера W-256, цитостатичні препарати.

У зв'язку з поширенням онкологічних захворювань [6], значно зріс попит на медичні засоби лікування з цитостатичною дією. Не дивлячись на значний арсенал протипухлинних препаратів, сучасний стан консервативних методів лікування злоякісних пухлин залишається незадовільним. Більшість препаратів мають ряд значних недоліків, а саме, низьку вибірковість дії, невелику терапевтичну широту, токсичну дію на різні органи та системи органів[9]. В онкологічних медичних закладах при лікуванні пухлин найбільш часто використовується схема СМФ (циклофосфан, метотрексат, 5-фторурацил)[2].

Онкологічне захворювання вважається сильним дезорганізатором гомеостаза організму[6]. Важливу роль в розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій організму до дії стресорів будь-якого походження відіграє ендокринна система[5]. Відомо, що при розвитку злоякісного процесу, завжди є загроза порушення будь-яких з етапів системної та локальної гормональної відповіді. У загальному переліку різних причин, які сприяють цьому (саме захворювання, цитостатична терапія, що застосовується, психологічні фактори), одне із провідних місць належить розвитку дисбалансу в ендокринній системі з неоднозначною реалізацією її біологічних функцій[5].

Наукові дані свідчать, що нормальний ріст, диференціювання і секреторна активність ендокринних залоз, а саме гіпофіза, який, як відомо, морфологічно та функціонально пов'язаний з відділами центральної нервової системи, має велике значення в становленні периферичних залоз внутрішньої секреції та вчасному біологічному дозріванню організму людини і тварин [5].

Дослідження морфологічних змін в центральних та периферичних ендокринних органах після гіпоксії, опроміненні, застосуванні медичних препаратів наводять на думку про можливе порушення гормональної продукції та зміни їх функціонального стану також в процесі хіміотерапії [1,8].

Таким чином, недостатнє висвітлення в літературних джерелах питань побічної дії протипухлинних фармакологічних препаратів, їх шкідливого впливу на ендокринну систему, а саме на гіпофіз, який об'єднує в єдине

ціле всі ендокринні органи і приймає участь в підтриманні сталості внутрішнього середовища організму, і зумовило вибір теми нашого дослідження.

Об'єктом для вивчення зміни морфофункціонального стану аденогіпофіза контрольних щурів та щурів з перевитою пухлиною під впливом дії цитостатичних препаратів були білі беспородні лабораторні щури масою 100 - 120 гр.

Усі тварини були поділені на три групи:

1. Контрольна група інтактних тварин;
2. I - Піддослідна група тварин з перевитою карциносаркомою Уокера W-256.
3. II - Піддослідна група щурів, хворих на карциносаркому Уокера W-256, що отримувала цитостатичні препарати. Ця група поділялась на 4 підгрупи: тварини, що отримували метотрексат (МТ); тварини, що отримували циклофосфан (ЦФ); тварини, що отримували 5-фторурацил (5-ФУ); тварини, що отримували комбіновано препарати (МТ+ЦФ+5-ФУ).

Перевивочним матеріалом для трансплантації була пухлина – карциносаркома Уокера W-256. Перевивочний матеріал вводили щурам під шкіру тіла з дотриманням асептики. Далі на 5-6 день після перевивки пухлини тваринам проводили хіміотерапію [3].

Дозу ін'єкції розраховували в мг/м<sup>2</sup> поверхні тіла за формулою:

$$D_{m^2} = D \text{ мг/кг} \times K, \text{ де}$$

$D_{m^2}$  – доза в міліграмах на метр поверхні тіла;  $D$  мг/кг – доза в міліграмах на кг маси тіла;  $K$  – коефіцієнт, для дорослого організму – 37, для молодого – 25[9].

Піддослідним щурам вводили препарати за схемами: МТ– 0,013 мг через тиждень (всього три ін'єкції) у м'язи задньої кінцівки, 5-ФУ – 10-15 мг/кг в день внутрішньовенно, ЦФ – 0,18 мг з інтервалом в один тиждень, протягом трьох тижнів у черевну порожнину та одночасна хіміотерапія комбінована дія відразу трьох препаратів (МТ+ЦФ+5-ФУ).

У роботі використовувалися гістологічні, гістохімічні і морфометричні методи досліджень гістологічного матеріалу аденогіпофіза контрольних і піддослідних щурів. Шматочки досліджуваної залози були зафіксовані в рідині Буена з подальшою заливкою матеріалу в парафін. Серійні фронтальні зрізи товщиною 4-5 мкм готували на ротаційному мікротомі. Для приготування оглядових гістологічних препаратів зрізи залоз фарбували гематоксиліном і еозином, залізним гематоксиліном та хромотропом 2В [7].

Препарати розглядали у світловий мікроскоп. За допомогою окуляр-мікрометра вимірювали діаметри тіл, ядер та ядерць секреторних клітин аденогіпофіза контрольних та піддослідних щурів.

У передніх долях контрольних і піддослідних щурів визначали відсоткове співвідношення таких типів клітин, як ацидофільні та базофільні.

Об'єми тіл клітин, ядер та ядерець вираховували за формулою:

$$V=(\pi/6)*D^3, \text{ де}$$

D – середній діаметр тіл та ядер, виражали в мкм<sup>3</sup>  $\pi=3,14$ .

Під час проведення досліджень, зверталась увага на кількість і стан кровоносних судин, враховувалась їх топографія. Визначали ступінь потовщення сполучнотканинних септ в передній долі гіпофіза й утворення в паренхімі залози колоїду.

Функціональну активність секреторних клітин аденогіпофіза оцінювали за такими ознаками: а) динаміка зміни середніх об'ємів клітин, їх ядер та ядерець в ацидофілах та базофілах; б) змінні кількості ацидофільних і базофільних клітин; в) кількість та розташування секреторних гранул в цитоплазмі аденоцитів; г) контакт аденоцитів з судинами.

Отримані дані обробляли за допомогою загальновизнаних методів варіаційної статистики. Одержані цифрові різниці приймали за вірогідні у випадку  $P<0,05$ . Значення P знаходили за таблицею Стьюдента.

Дослідження виявило, що ацидофільні клітини передньої долі гіпофіза контрольних щурів розташовані по всій залозі рівномірно, поблизу кровоносних капілярів. Вони мають круглу форму тіла та ядер, які розташовані в центрі. Хроматин в ядрах утворює невеликі глибки та розміщується рівномірно. Ядерця компактні, локалізовані в центрі ядра. Об'єми клітин, ядер і ядерець становлять відповідно:  $755,4\pm 39,8$ ;  $242,5\pm 8,2$ ;  $14,81\pm 0,32$  (мкм<sup>3</sup>). Середня кількість ацидофілів у контрольних щурів у полі зору складає  $56,0\pm 1,0$  (77%). ЯЦС ацидофільних клітин у контрольних щурів становить 1:3,12 (Табл.1).

Базофіли у контрольних тварин мають полігональну форму та відносно великі розміри. Розташовані дифузно по всій залозі поблизу капілярів серед ацидофілів. Їх середня кількість у полі зору значно менша –  $16,0\pm 1,0$  (23%). Базофіли щурів мають крупні ядра, розташовані трохи ексцентрично, які рівномірно заповнені дрібними гранулами хроматину. Ядерця великі, розташовані в центрі ядер. Середні об'єми клітин, ядер і ядерець базофілів контрольних щурів становлять відповідно:  $1088,3\pm 40,2$ ;  $262,5\pm 18,5$ ;  $16,9\pm 0,42$  (мкм<sup>3</sup>) (табл. 1). Середня кількість базофілів у полі зору становить  $16,0\pm 2,0$  (23%). ЯЦС базофільних клітин у контрольних щурів становить 1:4,15. В аденогіпофізі контрольних щурів кількість судин помірна, вони знаходяться в негіперемірованому стані. В цитоплазмі ацидофілів та базофілів спостерігається невелика кількість гранульованих елементів. В нейрогіпофізі спостерігається велика кількість судин та велика кількість нейрогліальних та нейроваскулярних контактів.

Таблиця 1

**Морфологічні зміни в клітинах аденогіпофіза після хіміотерапії**

Група	Підгрупа	Тип СК	V тіла M±m, мкм <sup>3</sup>	P	V ядра M±m, мкм <sup>3</sup>	P	V ядерця M±m, мкм <sup>3</sup>	P
К		А	755,4±39,8	P < 0,05	242,5±8,2	P < 0,05	14,81±0,32	P < 0,05
I - П		А	360,39± 21,6		188,79±4,9		11,8±0,26	
П	1 (МТ)	А	299,16± 6,1		111,49±8,2		5,98± 0,40	
П	2 (ЦФ)	А	394,1±1,9		160,12±3,3		10,4± 0,26	
П	3(5-ФУ)	А	348,5±4,8		114,96±5,7		5,02±0,41	
П	4(МТ+ЦФ+5-ФУ)	А	374,1±5,7		126,74±6,6		8,2± 0,36	
К		Б	1088,3±40,2		262,5±18,5		16,9±0,42	
П - П		Б	798,99± 8,6		439,62±7,4		15,8± 0,10	
П	1(МТ)	Б	599,39± 11,5		295,45±4,9		7,35± 0,29	
П	2 (ЦФ)	Б	703,39± 5,2		339,95±5,9		15,2± 0,20	
П	3(5-ФУ)	Б	721,58±11		374,1±10		7,05±0,31	
П	4(МТ+ЦФ+5-ФУ)	Б	685,3±8,6		355,5±7,4		11,3± 0,54	

Примітка: Об'єми (V), секреторні клітини (СК), ацидофільні (А) і базофільні (Б) клітини, контрольна група (К), піддослідна група (П), метотрексат (МТ), циклофосфан (ЦФ), 5-фторурацил (5-ФУ), комбіновані препарати (МТ+ ЦФ +5-ФУ).

Дослідженнями було виявлено, що структурна організація секреторних клітин аденогіпофіза щурів I - піддослідної групи істотно відрізняється від секреторних клітин щурів контрольної групи. Так, при обчисленні об'ємів тіл, ядер і ядерця секреторних клітин аденогіпофіза щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256 виявлено, що середні об'єми ацидофільних клітин, їх ядер і ядерця відповідно складають: 360,39±21,6; 188,79±4,9; 11,8±0,26 (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС становить 1:1,9. При цьому, ці секреторні клітини розташовуються в центральній частині залози, мають округлу форму тіла, ексцентрично розташоване ядро та 1-2 ядерця.

Морфофункціональний стан базофільних клітин аденогіпофіза щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256 виглядає інакше. Клітини мають великі розміри, полігональну форму. Ядра округлі, мають рівномірно розташовані гранули хроматину. Ядерця цих секреторних клітин компактні, знаходяться у центрі ядра. Середні об'єми тіл, їх ядер і ядерця складають 798,99±8,6; 439,62±7,4; 15,8±0,1(мкм<sup>3</sup>). ЯЦС базофільних клітин аденогіпофіза становить 1:1,8. Звертає увагу велика кількість дрібних кровоносних судин в аденогіпофізі щурів.

Ацидофільні клітини аденогіпофіза щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом метотрексату, на відміну від I - піддослідної групи, стають більш овальними, розташовуються компактно (на периферії залози), кількість клітин зменшується. Їх середня кількість, у полі зору, по відношенню до кількості ацидофільних клітин контрольної групи, зменшується і становить: 58±1,0. Ядра ацидофілів щурів II-піддослідної групи 1-підгрупи світлі, мають круглу форму, розташовуються

в центрі клітини. Гранули хроматину заповнюють ядро нерівномірно, а утворюють скупчення невеликих глибок. Ядерця компактні, розташовані ексцентрично. Середні об'єми тіл, ядер і ядерця ацидофільних секреторних клітин, в порівнянні з об'ємами таких клітин щурів контрольної та піддослідної групи, зменшуються, при цьому становлять:  $299,16 \pm 6,1$ ;  $111,49 \pm 8,2$ ;  $5,98 \pm 0,4$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС ацидофільних клітин становить 1:2,34. Ці секреторні клітини розташовуються в центральній частині аденогіпофіза, мають округлу форму тіла, ексцентрично розташоване ядро та 1-2 ядерця.

Базофільні клітини щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256, що отримували метотрексат розміщені невеликими групами в центральній зоні. Вони мають відросчасту форму. Ядра крупної форми, з дрібними зернами хроматину. Ядерця компактно знаходяться в центрі ядер. У порівнянні з контрольними та піддослідними щурами, у II-піддослідної групи 1-підгрупи тварин тіла базофільних клітин, їх ядер і ядерця змінюються і становлять  $599,39 \pm 11,5$ ;  $295,45 \pm 4,9$ ;  $7,35 \pm 0,29$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС базофільних клітин становить 1:2,07. Середня кількість базофільних клітин збільшується, що становить  $19,0 \pm 1,0$ . В аденогіпофізі щурів II-піддослідної групи спостерігається збільшення неправильної форми гранульованих елементів на периферії клітин та дуже велика кількість судин значних розмірів, які знаходяться в гіперемірованому стані.

За результатами об'ємів тіл, ядер і ядерця секреторних клітин аденогіпофіза щурів II - піддослідної групи 2-ї підгрупи, яким вводили циклофосфан, виявлено, що відбувається зміна середніх об'ємів ацидофільних клітин, їх тіл, ядер і ядерця відповідно до клітин як піддослідної групи, що складає:  $394,1 \pm 1,9$ ;  $160,12 \pm 3,3$ ;  $10,4 \pm 0,26$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС становить 1:2,46. Так, секреторні клітини розташовуються в центральній частині залози, мають округлу форму тіла, ексцентрично розташоване, не великого розміру ядро з дрібними гранулами хроматину та 1-2 ядерця.

Морфологічний стан базофільних клітин аденогіпофіза щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256, яким вводили циклофосфан суттєво відрізняється від показників I - піддослідної групи. Клітини мають невеликі розміри, полігональну форму. Ядра округлі, містять рівномірно розташовані гранули хроматину. Ядерця цих секреторних клітин компактні, знаходяться в центрі ядра. Об'єми тіл, їх ядер та ядерця складають  $703,39 \pm 5,2$ ;  $339,95 \pm 5,9$ ;  $15,2 \pm 0,2$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС базофільних клітин аденогіпофіза становив 1:2,18. Спостерігається збільшення мілких кровоносних судин в залозі, хоча стан судин не змінюється.

За даними об'ємів тіл, ядер і ядерця секреторних клітин аденогіпофіза щурів II – піддослідної групи 3-підгрупи, яким вводили фармакологічний препарат 5-фторурацил, виявлено, що відбувається зміна середніх об'ємів ацидофільних клітин, їх ядер і ядерця відповідно до клітин I - піддослідної

групи. Їх клітини стають більш овальної форми, розташовуються компактно на периферії залози, кількість судин зменшується. Їх середня кількість у полі зору зростає, по відношенню до кількості ацидофільних клітин піддослідної групи, і становить:  $58 \pm 1,0$ . Ядра ацидофілів II-піддослідної групи 3-підгрупи світлі, мають круглу форму, розташовуються в центрі клітини. Гранули хроматину заповнюють ядро нерівномірно, а утворюють скупчення невеликих глибок. Ядерця компактні, розташовані ексцентрично. Середні об'єми тіл, ядер і ядерця ацидофільних секреторних клітин в порівнянні з об'ємами таких клітин щурів піддослідної групи зменшуються удвічі, при цьому, становлять відповідно:  $348,5 \pm 4,8$ ;  $114,96 \pm 5,7$ ;  $5,02 \pm 0,41$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС ацидофільних клітин становить 1:3,03.

Базофільні клітини щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256, що отримували 5-ФУ, розміщені невеличкими групами в центральній зоні аденогіпофіза. Вони мають форму зірки. Ядра великі, з дрібними зернами хроматину. Ядерця знаходяться в центрі ядер, компактні. У порівнянні з контрольними та піддослідними щурами, у II-піддослідної групи 3-підгрупи тварин тіла базофільних клітин, їх ядер і ядерця змінюються і становлять  $721,58 \pm 11,0$ ;  $374,1 \pm 10,3$ ;  $7,05 \pm 0,31$  (мкм<sup>3</sup>).

ЯЦС базофільних клітин становить 1:1,9. Середня кількість базофільних клітин збільшується, що становить  $19,0 \pm 1,0$ . В аденогіпофізі щурів II-піддослідної групи 3-підгрупи (тварини, що отримували 5-ФУ) спостерігається велика кількість судин значних розмірів, які знаходяться в гіперемірованому стані. У нейрогіпофізі також спостерігається велика кількість великих судин. Вони знаходяться у стані гіперемії.

При вивченні топографії секреторних клітин аденогіпофіза і стану його судин, піддослідної групи, яка отримувала комбіноване введення препаратів МТ, ЦФ та 5-ФУ було виявлено, що середня кількість ацидофільних клітин в аденогіпофізі зростає і складає  $57,0 \pm 1,0$  (76%). Однак об'єми цих клітин, їх ядер і ядерця зменшуються і становлять  $374,1 \pm 5,7$ ;  $126,74 \pm 6,6$ ;  $8,2 \pm 0,36$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС дорівнює 1:2,95. При цьому, ацидофільні секреторні клітини щурів цієї підгрупи розташовуються щільно по всій залозі. За формою вони стають більш овальними. В їх цитоплазмі спостерігається невелика кількість гранульованих елементів. Ядра округлі, розташовані ексцентрично, рівномірно заповнені хроматином. Ядерця компактні, розташовані на периферії ядра.

Базофільні клітини розташовуються в центральній зоні аденогіпофіза та мають зірчасту форму. Їх цитоплазма заповнена дрібними зернами хроматину. Ядра округлої форми з 1-2 ядерцями. Об'єм тіла, ядер та ядерця базофілів становить  $685,3 \pm 8,6$ ;  $355,5 \pm 7,4$ ;  $11,3 \pm 0,54$  (мкм<sup>3</sup>). ЯЦС складає 1:1,9, що менше, ніж показники ЯЦС цих клітин у I - піддослідної групи, це вказує на значну гіпофункцію базофільних клітин. Кількість цих клітин в полі зору збільшується і дорівнює  $18,0 \pm 1,0$  (24%). Кровоносні судини

аденогіпофіза щурів піддослідної групи 4-ї підгрупи знаходяться в гіперемірованому стані.

**Висновки:** завдяки проведеним дослідженням було встановлено, що протипухлинні препарати здійснюють виражену негативну дію на процеси розвитку і диференціювання секреторних клітин передньої долі гіпофіза. Це проявляється в зміні топографії, порушенні форми та типу секреторних клітин аденогіпофіза, а саме зменшенні об'ємів їх тіл, ядер та ядерця, затримці диференціації секреторних клітин, уповільнення росту, а також зменшенні їх ЯЦС, порушенні кровонаповнення та стану судин (гіперемія), що свідчить про порушення секреції клітин гіпофіза, а саме, їх збільшеної секреції, що спричиняє виснаження секреторних клітин та залози в цілому.

**Перспективи дослідження:** дослідити зміну морфофункціонального стану секреторних клітин периферичних ендокринних залоз щурів з перевитою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом протипухлинних препаратів.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Баженов Е.Л. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы животных и человека в раннем постнатальном онтогенезе в норме и в условиях гипоксии. – Автореф. дис. канд. мед. наук, Симферополь, 1982. – 36с.
2. Булкина З.П. Противоопухолевые препараты: Справочник /З.П.Булкина. – К.: Наукова думка, 1991.- С.118-125, 263-271.
3. Васильева Г.С. Биология трансплантируемых опухолей /Г.С.Васильева. – Алма-Ата: Казахстан., 1982. – 215 с
4. Гістологія з основами гістологічної техніки / За редакцією В.П.Пішака. Підручник. - Київ: КОНДОР, 2008. - 400 с.
5. Лейкок Дж.Ф. Основы эндокринологии / Дж. Лейкок. - М.: Медицина, 2000.- 502 с.
6. Онкологічні захворювання в Україні. Проблема та шляхи подолання: матеріали парламентських слухань у Верховній Раді України. – К.: Парламентське видавництво, 2004. – 87 с.
7. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М.: Издательство иностранной литературы, 1961. – 963 с.
8. Рожков І.М. Аденогіпофіз – периферичні ендокринні залози людини і тварин у нормі і в умовах нітратної інтоксикації організму та її корекції. – Миколаїв: МДУ, 2005. – 224 с.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. - М., 2005. - С. 674-682.

Шакало О.Б., Спринь О.Б.

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН В  
АДЕНОГІПОФІЗИ ПІСЛЯ ХІМІОТЕРАПІЇ**

*Ключові слова:* аденогіпофіз, ацидофіли, базофіли, карциносаркома Уокера W-256, цитостатичні препарати.

У статті розглядаються особливості гістологічних змін в аденогіпофізі щурів з трансплантованою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом цитостатичних препаратів. Проведено порівняльний аналіз структур аденогіпофіза контрольних тварин та щурів з трансплантованою карциносаркомою Уокера W-256 під впливом цитостатичних препаратів.

O. Shakalo, O. Sprin

**COMPARATIVE ANALYSIS OF HISTOLOGICAL CHANGES IN THE  
ADENOHYPHYSIS AFTER CHEMOTHERAPY**

*Key words:* adenohipophysis, acidophilae, basophilae, carcinosarcoma of Wolker W – 256, citostatic preparation.

In the article the special features of histological changes in the adenohipophysis of rats with vaccinated carcinosarcoma of Wolker W – 256 down the injection of cytostatic preparations are examined.

The comparative analysis of the structure of adenohipophysis of control animals and rats with vaccinated carcinosarcoma of Wolker W – 256 down the injection of cytostatic preparations is carried out.

Tanks to research conducted found that protpuhlyni drugs carry a strong negative effect on the development and differentiation of sekretory cells of the anterior pituitary. This manifests itself in the changing topography, shape and type of violation of the sekretory cells adenohipofisis, namely reducing ob'emiv their bodies, nuclei and nucleoli delay differentiation sekretory cells, sloving growth, violation blood supply and condition of vessels indication a violation of secretion of pituitary cells, namely their increased secretion. What causes depletion of sekretory cells and cancer in general.