

В. А. ВАРДАНЯН

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ВЛИЯНИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ОВОГЕНЕЗ

Вопрос образования новых овоцитов в постнатальной жизни и после полового созревания у человека и животных до настоящего времени является предметом дискуссии. В ряде существующих работ по этому вопросу [8, 24 и др.] высказывается мнение о вероятности продолжающегося овогенеза из зачаткового эпителия в постэмбриональной жизни и даже после наступления полового созревания у млекопитающих. Другие авторы—Хофлигер [8], Генриксон и Раякоски [17], придерживаются противоположного мнения, они отрицают возможность образования новых овоцитов у взрослых животных. Таким образом, данные, полученные различными авторами, крайне противоречивы и не исчерпывают вопроса овогенеза—образования овоцитов заново как в постэмбриональной жизни, так и в течение репродуктивного периода жизни животных. Настоящая работа преследовала цель при воздействии ионизирующей радиации выявить возможность образования новых овоцитов из покровного зачаткового эпителия в уже оформившемся яичнике домашней птицы.

М е т о д и к а

Под опытом были две группы неполовозрелых кур в возрасте 82 дней (24 головы) и 112 дней (30 голов). Контрольная группа состояла из 20 голов птиц-аналогов. Условия облучения были следующие: напряжение 187 кв, сила тока 20 ма, фильтры 0,1 мм Al и 0,5 мм Cu, фокусное расстояние 50 см, мощность дозы 27 р/мин.

Птицы были подвергнуты однократному тотальному облучению ранее установленными нами дозами в 4, 12, 20 р, оказывающими стимулирующее влияние на репродуктивную функцию птиц, и дозами в 100, 300 и 500 р подавляющими эту функцию [2].

Яичники подопытных и контрольных птиц подвергались гистологическим исследованиям в различные сроки опытного периода от 6 до 15 месяцев после момента облучения. Фиксация гонад производилась 10% нейтральным формалином, материал заливали в парафин. Серийные срезы окрашивались гематоксилин-эозином. Гистологические термины приведены по А. А. Заварзину и С. М. Щелкунову [1], а также Г. С. Кроку [4].

Результаты исследования

При дозах облучения в 4, 12 и 20 р на препаратах отмечались зоны из коркового вещества, содержащие большое количество примордиальных фолликулов. В корковом слое они тесно располагались в несколько рядов и отграничивались друг от друга чаще одним слоем плоских эпителиальных клеток (рис. 1). Большинство из этих молодых примордиальных фолликулов было одинаковой величины, они имели нормальное строение. Молодые овоциты были окружены одним фолликулярным кольцом, состоящим из одного слоя плоских эпителиальных клеток. Овоциты, содержащиеся в этих фолликулах, признаков альтерации не обнаруживали. В ряде из них ядро находилось в центре овоцита, в других оно располагалось несколько эксцентрично, имело округлую, пузыревидную форму, ядерная мембрана вырисовывалась четко, в центре ядра отмечалось наличие хроматина, состоящего из мелких бледноокрашенных зернышек, окруженных светлой нуклеоплазмой. Цитоплазма этих молодых овоцитов была мелкозернистой, слабо эозинофильной окраски, признаков альтерации в ней не было обнаружено.

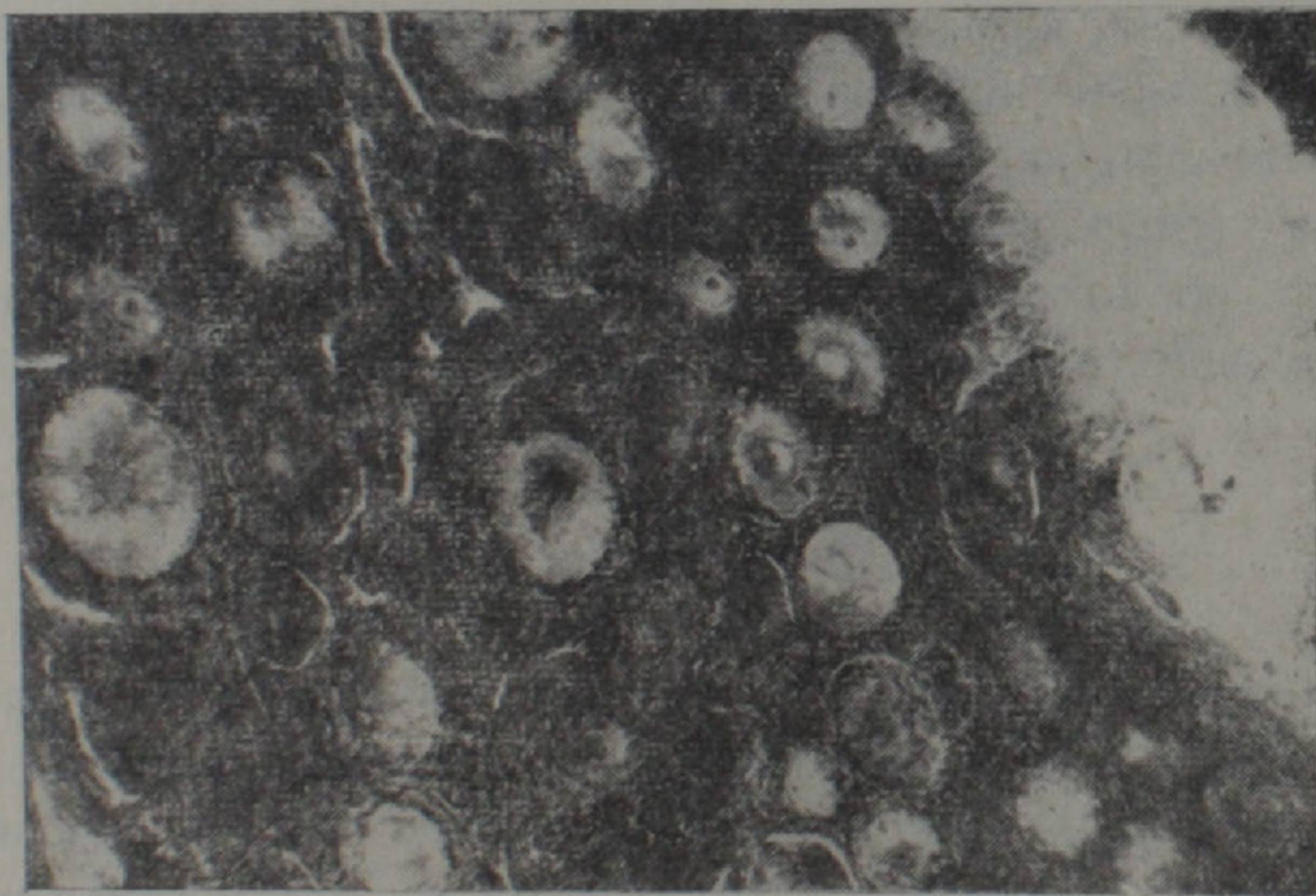


Рис. 1. Доза облучения в 4 р. Зона коркового вещества яичника, содержащая большое количество примордиальных фолликулов.

В гонадах птиц, облученных дозами в 100, 300 и 500 р, редко встречались участки, содержащие много молодых примордиальных фолликулов. Примордиальные фолликулы в виде небольших групп наблюдались в корковом веществе чаще в один ряд. Некоторые из них имели нормальную структуру, они состояли из одного слоя плоских эпителиальных клеток, окружающих овоцит. Эти фолликулы были в непосредственном контакте друг с другом. Овоциты имели нормальное пузыревидное ядро, содержащее хроматин, цитоплазма была мелкозернистой, светлоокрашенной. Большая часть молодых примордиальных фолликулов нахо-

дилась в состоянии атрезии. В этих атретических фолликулах отмечалась дегенерация фолликулярного эпителия, проявляющаяся в виде нечеткости контуров эпителиальных клеток, их гиперхромное окрашивание.

Овоциты, находящиеся в атретических фолликулах, были альтерированы. Некоторые из них ядра не содержали, в других отмечалось частичное исчезновение ядерной мембраны и хроматолиз. Цитоплазма этих овоцитов окрашивалась неравномерно, была вакуолистой.

При изучении зачаткового эпителия, покрывающего свободную поверхность гонад облученных животных, микроскопия показала следующее: при дозах облучения в 4, 12, 20, 100, 300 и 500 р поверхность яичников как и в норме была покрыта неповрежденными мелкими плоскими клетками уже недействительного зачаткового эпителия (рис. 2). Однако обнаруживались небольшие участки, в которых можно было видеть значительное увеличение размеров относительно большого количества клеток зачаткового покровного эпителия. Это преобразование покровного эпителия при малых дозах облучения (4, 12, 20 р) наблюдалось со значительной частотой и редко при больших дозах (100, 300 и 500 р).

На ряде препаратов можно было видеть миграцию ядер этих преобразованных клеток зачаткового эпителия. Преобразования в зачатковых эпителиальных клетках чаще всего локализовались в зонах, в которых корковое вещество больше не содержало фолликулярных структур или же в непосредственной близости атретических фолликулов.

Ниже приводятся наиболее часто встречающиеся на наших препаратах изменения в зачатковых эпителиальных клетках. На препаратах при дозе облучения в 4 р наблюдается увеличение размеров клеток покровного эпителия. Эти клетки тесно прилегали друг к другу, имели более или менее цилиндрическую форму, густую сильно окрашенную протоплазму, их ядра были едва заметны, из-за наличия в протоплазме большого количества гранул, интенсивно принимающих окраску гематоксилином. Ядра некоторых из этих клеток зачаткового эпителия еще более увеличивались в размерах, они имели округлую форму, содержали небольшое количество хроматина. Эти ядра иногда относительно четко вырисовывались на фоне интенсивной окраски окружающих клеток зачаткового эпителия.

На препаратах при дозе облучения в 500 р (рис. 3) обнаруживаются небольшие зоны из покровного эпителия, состоящие из теснорасположенных крупных зачатковых клеток, имеющих несколько продолговатое очертание и более или менее цилиндрическую форму с крупными ядрами, густой протоплазмой, содержащей базофильные гранулы. Клеточная мембрана вырисовывалась относительно четко. В некоторых из них ядра были бледноокрашены, контурировались недостаточно четко, содержали мало хроматина. Между белковой оболочкой и этими клетками зернистой оболочки отмечалось наличие крупных ядерных структур с неопределенными еле видимыми контурами и небольшим количеством хроматина. Вокруг некоторых из этих ядер отмечалось образование небольшого количества цитоплазмы, слабо принимающей окраску.



Рис. 2. Доза облучения в 4 р. Увеличение размеров клеток покровного зачаткового эпителия.

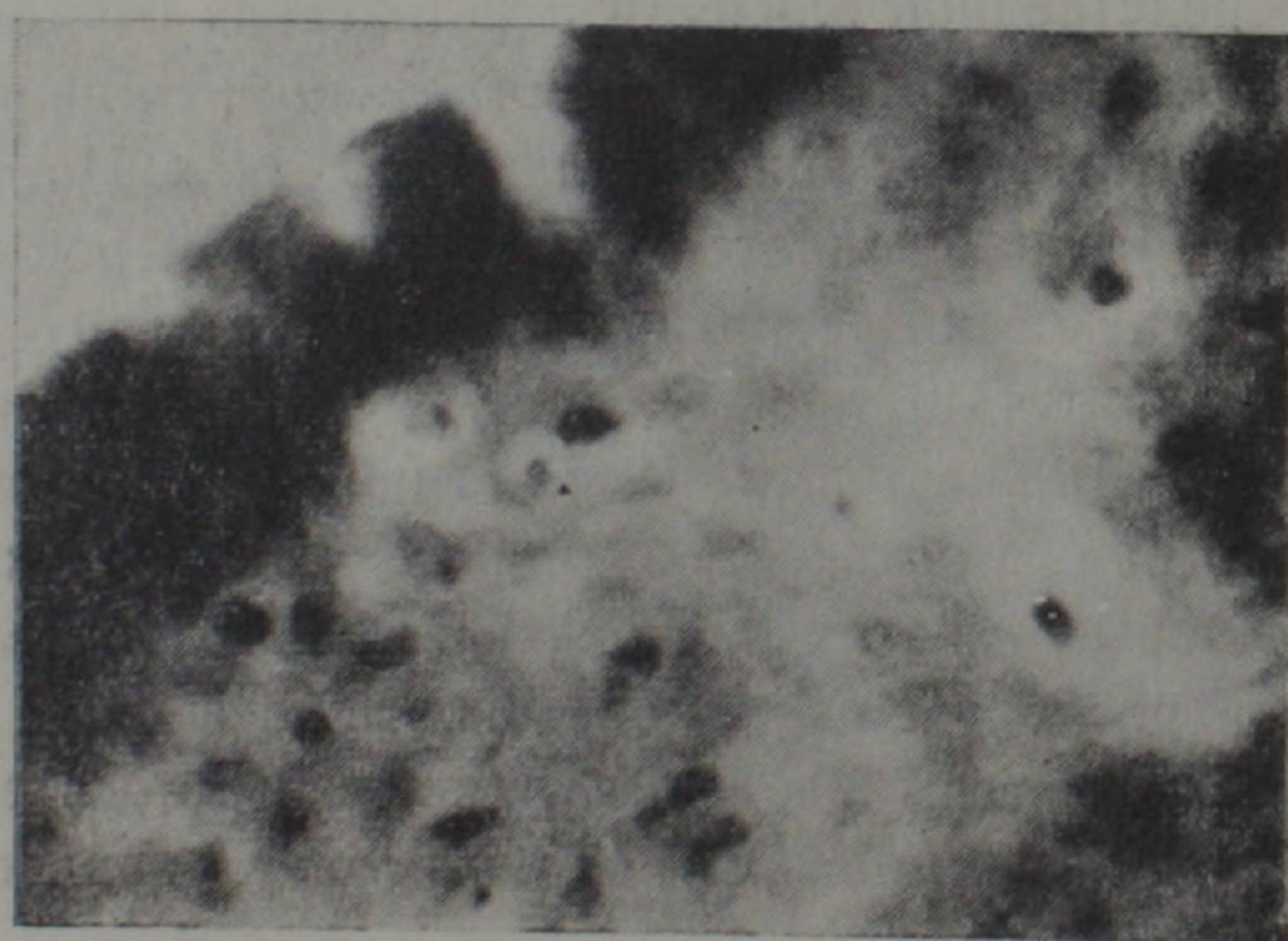


Рис. 3. Крупные ядерные структуры с неопределенными контурами и небольшим количеством хроматина.

Обсуждение результатов

Имеющее место после облучения преобразование мелких уплощенных клеток покровного недеятельного зачаткового эпителия в крупные цилиндрические, а также миграция в сторону белковой оболочки значительно увеличившихся в размерах ядер некоторых из этих клеточных элементов дает основание полагать, что тесно расположенные молодые примордиальные фолликулы, находящиеся в корковом слое гонад облу-

ченных птиц, возникли вследствие дальнейшей дифференциации преобразованных клеточных элементов зачаткового эпителия.

Ряд исследователей при помощи различных экспериментальных методов задался целью пролить свет на проблему овогенеза в постэмбриональной и постпубертальной жизни у млекопитающих. Так была произведена полная стерилизация яичника мыши при помощи рентгеновских лучей [5], в конце эмбрионального периода жизни, перед наступлением полового созревания и в половозрелом состоянии. При этом все молодые овоциты дегенерировались и исчезли после облучения в течение нескольких часов. Большие овоциты у взрослых животных дегенерировались более медленно, небольшое количество из которых достигало созревания и овуляции. Половозрелые животные, спаренные после облучения, могли забеременеть, однако нормальное потомство они давали редко. После того, как все овоциты дегенерировались или же были овулированы, яичники большинства животных становились стерильными. Некоторые животные, забеременевшие после облучения, были забиты. При микроскопии их яичники оказались совершенно лишенными овоцитов. Эстральный цикл у стерильных животных продолжался до тех пор, пока ткань яичника сохраняла функциональную способность. При этом альтерации в покровном зачатковом эпителии не обнаруживалось. У облученных неполовозрелых животных зачатковый эпителий пролиферировал в две последующие эпителиальные тяжи. У животных, забитых более чем через пять месяцев после облучения, яичники оставались стерильными, новообразования зачатковых клеток в них не было обнаружено.

На основании этих данных авторы приходят к выводу, что после полового созревания в яичниках мыши образование зачатковых клеток не имеет места.

На наш взгляд мало вероятно, чтобы дозы ионизирующей радиации, стерилизующие яичники, не оказывали угнетающее действие и на другие составные тканевые элементы яичника, а также на пролиферационную способность зачаткового эпителия. Очевидно, что при подавлении пролиферационной способности зачаткового эпителия новообразование овоцитов не может иметь места.

Геллер [13], Гентер [14], Дезев [10] получили аналогичные данные. Они поддерживают концепцию Брамбея, Перкеса и Фиелдинга об отсутствии новообразования овоцитов после наступления полового созревания.

Феномен регенерации яичника после двусторонней овариотомии широко известен в гинекологической практике. Работы, проведенные в этом направлении [9, 15, 16, 23], были посвящены проблеме образования зачатковых клеток у половозрелых животных.

Исследования показали, что в различные сроки у некоторых из оперированных животных появлением эструса заново и гистологическим методом была обнаружена регенерация яичниковой ткани. Регенерированная ткань содержала овоциты, большие фолликулы и даже желтые тела.

Однако численность овоцитов была несравнимо малой, по сравнению с нормальными яичниками. Подобная регенерация была приписана, как обычно, гипертрофии небольших тканевых фрагментов яичника, оставшихся после операции. Однако это объяснение не было удовлетворительным. Второе заключение, сделанное по этому поводу, гласило, что яичниковая ткань возникает не обязательно из ранее существующих фрагментов яичника. Допускалось, что зачатковые клетки, содержащиеся в регенерированной ткани, возникали из экстрарегиональных первичных зачатковых клеток, сохранившихся в инактивном состоянии в смежной соматической ткани и часто образующих островки, состоящих из тканей яичника [19].

Другие работы [20] при частичной овариотомии показали, что новообразование овоцитов не имеет места. Эти исследования не дали окончательного ответа, ввиду противоречивости выводов, сделанных разными авторами. Другие исследователи обратили внимание на регенеративную способность зачаткового эпителия, изучение которого, как они полагают, должно внести определенную ясность в проблему новообразования овоцитов. Так, Бутшер [7], а позднее Мартынович [21] утверждали, что перевязка сосудов яичника приводит к дегенерации зачаткового эпителия в течение 6—8 дней, но некоторые выжившие эпителии формируют новые овоциты. Однако после частичной или полной деструкции зачаткового эпителия образование заново зачатковых клеток не было обнаружено.

Педерсону [22] удалось прижизненно окрасить клетки зачаткового эпителия у крысы путем введения чернила (китайской туши) в капсулу яичника. Автор заявляет, что частицы краски могут быть идентифицированы последовательно в овоцитах и фолликулярных клетках, что говорит о вероятности их происхождения из поверхностных клеток зачаткового эпителия. Вероятность образования зачатковых клеток в течение взрослой жизни наблюдали при половом метаморфозе у амфибий и птиц. Так, Фут и Витчи [12] отметили, что личинка женского пола может быть преобразована в самца путем введения тестостерона пропионата. В течение этой метаморфозы в яичниках все овоциты дегенерируются, но овогонии выживают, включаются в образовавшиеся половые тяжи и становятся сперматогониями. Происхождения мужских зачатковых клеток и сперматических канальцев в яичниках, преобразованных в яичники, гистологически было исследовано Фелом [11] у курицы Брамбелем и Марианом [6] у голубя. Зачатковый эпителий яичника курицы пролиферирует половые тяжи, которые дифференцируются в сперматические канальцы, содержащие зачатковые клетки. Авторы считают, что сперматические канальцы и зачатковые клетки возникают из светлых островковых интерстициальных клеток стромы яичника, которые являются аналогами сперматических канальцев.

Анализ приведенных литературных источников показывает, что в вопросе об овогенезе у взрослых животных существуют две противоположные концепции. Одни исследователи считают возможным образование

новых овоцитов у взрослых животных из покровного зачаткового эпителия, а другие придерживаются противоположной точки зрения.

Полученные нами экспериментальные данные подтверждают факт новообразования овоцитов в оформившихся яичниках позвоночных и пополняют наши представления о физиологическом механизме этой важной функции яичника.

Институт физиологии
им. акад. Л. А. Орбели АН АрмССР

Поступило 8.VI 1964 г.

Վ. Ա. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ԷՔՍՊԵՐԻՄԵՆՏԱԼ ՏՎՅԱԼՆԵՐ ԶՎԱԲՋԻՋՆԵՐԻ ԳՈՅԱՑՄԱՆ (ՕՎՈԳԵՆԵԶ) ՎՐԱ ԻՈՆԱՑՎՈՂ ՃԱՌԱԴԱՅԹՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. լ. մ.

Հեղինակի մանրակրկիտ մորֆո-հիստոլոգիական հետազոտություններով հաստատված է, որ իոնացվող ճառագայթների որոշակի դոզաների ազդեցության տակ ձևավորված ձվարանում տեղի է ունենում նոր ձվաբջիջների գոյացում ծածկույթային սաղմնային էպիթելիալ շերտից:

Ստացված էքսպերիմենտալ փաստը ունի կարևոր գիտական նշանակություն, քանի որ այդ հարցում տարբեր հետազոտողների մոտ միասնական տեսակետ գոյություն չունի:

Հետազոտության արդյունքները միաժամանակ հարստացնում են մեր պատկերացումները ձվարանի այդ կարևոր ֆունկցիալի ֆիզիոլոգիական մեխանիզմի վերաբերյալ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Заварзин А. А. и Щелкунов С. И. Руководство по гистологии. Медгиз. 1954.
2. Карапетян С. К., Варданян В. А., Баласанян Р. Г. ДАН АрмССР, 1960, т. 30, 3, стр. 175.
3. Карапетян С. К., Варданян В. А. Материалы межвузовской конференции по проблеме влияния биостимуляторов на организм животных и их применение в сельскохозяйственной практике. Ереван, 1963, стр. 33.
4. Крок Г. С. Микроскопическое строение органов сельскохозяйственных птиц с основами эмбриологии. Киев, 1962.
5. Brambell F. M. R. and Fielding U. (1927). Proc. Roy. Soc. B, 101, 29.
6. Brambell F. M. R. and Marrian G. F. (1929). Proc. Roy. Soc. B, 104, 459.
7. Butcher E. O. (1932) Anat. Rec., 54, 87.
8. Evans H. M. and Swezy O. (1931). Mem. Univ. Calif., 9, 119.
9. Davenport C. B. (1925). J. expt. Zool., 42, 1.
10. Desaive P. (1941). Acta neer. Morph., 4, 10.
11. Fell H. B. (1923). J. exp. Biol., 1, 97.
12. Foote C. L. and Witschi E. (1939). Anat. Rec., 75, 75.
13. Geller F. C. (1930). Arch. Gynaek., 141, 61.
14. Genther J. T. (1931). Amer. J. Anat., 48, 99.
15. Hanson F. B. and Heys F. (1927). Proc. Soc. Biol., N. Y., 25, 183.
16. Haterius H. O. (1928). Physiol. Zool., 1, 45.
17. Henricson B. and Rajakoski E. (1959). Cornell. Vet., 49, 494.

18. Hofliger H. (1948). In: Festschrift Bürgi. Die follicelatresie im Ovar des Kalbes, Zürich.
19. Krohn P. L. (1951). J. Obstet. Gynaec., 58, 430.
20. Lipschütz A. (1925). Brit. J. exp. Biol., 3, 35.
21. Martinovitch P. N. (1934). C. R. Soc. Biol., Paris, 116, 1294.
22. Pederson E. S. (1951). Amer. J. Anat., 88, 397.
23. Pencharz R. I. (1929). J. exp. Zool., 59, 319.
24. Robinson A. (1918). In: Parkes A. S. Ed. Marshall's physiology of reproduction, Vol. 1, part 1, Ovarian changes. London (1962), 397.