

**Аннотация диссертационной работы на соискание ученой степени доктора  
PhD на тему: «Оценка фолликулогенеза и геномной нестабильности у самок белых  
крыс и их потомства при ингаляционном воздействии химическими загрязнителями  
(экспериментальное исследование)»**

Турдыбековой Ясминур Габдулхаковны

**Актуальность**

Было показано, что загрязнение воздуха связано с многочисленными патологиями, обычно сердечно-сосудистыми и респираторными. Атмосфера является общим ресурсом, поэтому масштаб воздействия загрязнения воздуха может варьироваться от местного до трансграничного [1].

Известно, что многие загрязнители воздуха оказывают вредное воздействие при следовых концентрациях, в то время как потенциальные последствия хронического воздействия низких концентраций некоторых видов в атмосфере еще не определены. Это требует постоянной разработки чувствительных методов исследования для регистрации возможных нарушений по всем органам и системам, чтобы развивать научное понимание и систему профилактики в здравоохранении [1,2].

Репродуктивный потенциал страны включает в себя способность популяции к росту при оптимальных условиях в стабильном возрастном составе [3,4]. Следовательно, на репродуктивный потенциал напрямую оказывает влияние состояние фолликулярного запаса и процесса фолликулогенеза в целом. По данным некоторых авторов установлено, что загрязнители окружающей среды являются одним из этиологических факторов преждевременного истощения яичников основным механизмом этого, является увеличение количества атрезированных фолликулов [5-7].

Основными показателями репродуктивного здоровья являются способность к зачатию, рождаемость, репродуктивные потери. Так же показателем репродуктивного здоровья можно считать временные показатели наступления менархе, раннюю или преждевременную менопаузу.

Возможно негативное влияние на репродуктивную систему опосредуется через нарушение равновесия в системе ПОЛ-АОЗ.

Перекисное окисление липидов модифицирует липиды и жирные кислоты в мембранах сперматозоидов и ооцитов. Эти модифицированные побочные продукты в значительной степени влияют на жизнеспособность и общее качество репродуктивных клеток, увеличивая вероятность бесплодия. Ооциты содержат большое количество липидов, которые могут быть затронутым перекисным окислением липидов.

В мировой литературе имеются данные, что более 30 % эмбрионов погибает до рождения из-за наличия генетических дефектов несовместимых с жизнью [8]. К этой же группе относятся пациентки с повторяющимися выкидышами в анамнезе, неразвивающимися беременностями и рождением детей с множественными пороками развития. Возможно повреждение материнского генома происходит в период длительного покоя до повторной активации мейоза в процессе фолликулогенеза на стадии примордиальных фолликулов, или повреждение ооцита происходит под действием окислительного стресса на последних стадиях роста.

Считается, что одни и те же антропогенные факторы могут влиять по-разному в разных климатических условиях.

Пыле - солевые аэрозоли Аральского моря по своему составу представляют сложную многокомпонентную смесь химических веществ, которая распространяется на тысячи километров, и десятилетиями вдыхается населением, проживающим в регионе Аральского моря и не только. Частицы пыли оседают на растениях, попадают в почву и путем использования растительной пищи и воды, так же попадают в организм человека.

Накапливающиеся в организме чужеродные вещества, оказывают повреждающее влияние на формирование репродуктивной функции, созревание яйцеклетки [9-11].

Отдельные компоненты этих аэрозолей были изучены в разрезе изучения эффектов горнодобывающей и других промышленности [12]. Есть работы по изучению накопления вредных веществ в волосах, грудном молоке у населения, проживающего в Аральском регионе [13]. Также имеются ряд экспериментальных работ, посвященных изучению влияния экологических факторов на мужскую репродуктивную систему [14,15].

С целью оценки здоровья населения, проживающего в экологически неблагоприятном регионе, было проведено масштабное клиническо- лабораторное исследование в рамках НТП «Комплексные подходы в управлении состоянием здоровья населения Приаралья» 2014-2016гг. По данным этого исследования: мы выявили, что у женщин, проживающих в районе Аральского кризиса и катастрофы, отмечается тенденция к ранней или преждевременной менопаузе, позднее наступление менархе. Средний возраст наступления менопаузы у жительниц Актюбинской области составил по данным наших исследований 41,5 лет [16,17].

Несмотря на многочисленные клинико-экспериментальные исследования из данных анализа литературных источников, мы сделали вывод, что нет полноценной картины о влиянии солевых аэрозолей на организм, репродуктивное здоровье населения на молекулярно- клеточном уровне, прослеживаемые в поколениях.

Однако, оценить морфологические изменения репродуктивных органов на тканевом и клеточном уровне не всегда представляется возможным. А также, в период одного исследования с участием людей не получается изучить несколько поколений, в силу продолжительности такого исследования. С этими задачами хорошо справляются экспериментальные работы, в которых можно оценить обладает ли экологический фактор репродуктивной токсичностью, снижая фертильность организмов, и мутагенной активностью. Также, изучение фолликулогенеза в поколениях, безусловно, дает нам возможность получения более глубоких знаний, для решения гинекологических проблем и возможности прогнозирования репродуктивного потенциала населения.

На основе вышесказанного, нами проведено экспериментальное исследование влияния пыле-солевых аэрозолей Аральского моря на организм экспериментальных животных.

**Цель исследования:** Оценить состояние фолликулогенеза, геномной нестабильности и окислительного стресса у самок белых крыс, и их потомства при воздействии химическими загрязнителями.

#### **Задачи исследования.**

1. Изучить фолликулогенез у самок белых крыс и их потомства при воздействии химическими загрязнителями
2. Изучить влияние химических загрязнителей на наследственный материал самок белых крыс и их потомства на хромосомном и клеточном уровне
3. Оценить влияние химических загрязнителей на окислительный стресс в крови и гомогенате яичников самок белых крыс и их потомства

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1.Определено накопление репродуктивно-токсичных тяжелых металлов, входящих в пыле- солевые аэрозоли Аральского моря, в тканях яичников крыс при ингаляционном воздействии.

2.Под воздействием пыле - солевых аэрозолей Аральского моря, происходят количественные и качественные изменения фолликулярного и овариального состояний яичников. Пыле-солевые аэрозоли Аральского моря приводят к уменьшению количества

первичных фолликулов и желтых тел, с усилением выраженности данных процессов в поколении.

3. Установлена геномная нестабильность, характеризующаяся хромосомным дисбалансом на уровне качественного и количественного показателей хромосомных aberrаций. Изучен мутагенный эффект пыли-солевых аэрозолей Аральского моря на организм самок крыс, с повышением количества клеток с микроядрами в костном мозге животных.

4. Выявлены разнонаправленные изменения уровня продуктов окислительной деструкции липидов, снижение активности ферментов антиоксидантной защиты, которые приводят к развитию нарушений на клеточном, органном и системном уровнях при воздействии пыли-солевых аэрозолей Аральского моря в течение 30 дней.

### **Научная новизна**

Впервые проведено экспериментальное исследование с изучением влияния пыли-солевых аэрозолей Аральского моря на организм самок белых крыс и их потомства.

Впервые методом атомно-абсорбционной спектроскопии определено накопление солей тяжелых металлов, входящих в пыли-солевые аэрозоли Аральского моря в тканях яичников крыс при ингаляционном воздействии.

Впервые дана характеристика процессу фолликулогенеза при воздействии химических загрязнителей в поколениях в условиях эксперимента и установлено, что пыли-солевые аэрозоли Аральского моря приводят к значимому снижению первичных фолликулов, желтых тел, повышению количества атретичных фолликулов, а также усугублению данных процессов в поколениях.

Впервые изучено влияние химических загрязнителей на показатели окислительного стресса в гомогенате яичников у крыс и их потомства.

Впервые дана оценка влиянию пыли-солевых аэрозолей Аральского моря на геномную нестабильность на клеточном и хромосомном уровне в поколениях в условиях эксперимента.

### **Практическая значимость работы**

По материалам диссертационной работы получено свидетельство о регистрации прав авторского права №2721 от 17 ноября 2017 года «Оценка окислительного стресса в крови и тканях экспериментальных животных при воздействии пыли-солевыми аэрозолями Аральского моря». Имеется внедрение в практическую деятельность:

- «Института Общественного здоровья и Профессионального здоровья», клиника профессионального здоровья «Методика проведения биохимических методов исследования тканей» (Приложение Ж).

Данное внедрение позволяет повысить навыки практикующих врачей в выполнении биохимических и цитогенетических исследований.

А также основные результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс Медицинского Университета Караганды:

- кафедра морфологии и физиологии «Методика проведения структурной оценки фолликулярного состояния яичников у экспериментальных животных» (Приложение Е)

- Кафедра биологии «методика цитогенетического исследования мазков костного мозга лабораторных животных» (Приложение Д)

Данные внедрения расширяют знания студентов при изучении дисциплины морфологии и физиологии, медицинской генетики, а также повышают квалификацию магистрантов при проведении научно-исследовательских работ, помогают систематизировать материал для проведения научно-исследовательских работ, позволяет

расширить знания по направлению влияния экологических факторов на репродуктивную систему.

### **Апробация работы**

Основные положения и результаты диссертационной работы были представлены на: XXII Международной научной конференции «Актуальные научные исследования в современном мире» Переяслав-Хмельницкий, Украина 26-27 января 2017года;

на «OCC World Congress and Annual SFRR Conference Metabolic Stress and Redox Regulation» Берлин, Германия, 21-23 июня 2017г;

на Международной научно- практической конференции «Актуальные вопросы фундаментальной и прикладной морфологии человека и животных», посвященной 80-летию академика АМН РК, доктора медицинских наук, профессора Умбетова Туракбая Жукеновича, Актобе, 31 мая 2018 года;

на международной конференции: Актуальные вопросы медицины труда в Казахстане «хризотил и здоровье», Караганда 1-2 ноября 2018 года;

на XIV Конгрессе Международной Ассоциации Морфологов, Астрахань, Россия 19-22 сентября 2018 года;

на международной конференции «The Leiden International (Bio) Medical Student Conference», Лейден, Нидерланды, 13-17 март 2019 год.

### **Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации**

По материалам диссертации опубликовано 5 статей и 8 тезисов на русском, казахском и английском языках. В изданиях, рекомендованных комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК 4 статьи. В изданиях, имеющих ненулевой Impact Factor и входящих в базу данных Scopus, опубликовано 2 работы, в том числе 1 статья и 1 тезис. Работа апробировалась на 7 международных конференциях, 1 республиканской конференции с международным участием. Имеется 1 свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, 1 акт внедрение в практическое здравоохранение, 2 акта внедрения в учебный процесс.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация содержит 140 страниц машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, основной части (материалы и методы исследования, главы собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, 40 таблиц, 43 рисунков и списка литературы, включающего в себя 209 источников, 7 приложений.

### **Материалы и методы:**

На базе биологической лаборатории кафедры биологии КМУ, вивария КМУ и Лаборатории коллективного пользования КМУ было проведено экспериментальное исследование, которое включало в себя постановку эксперимента на самках белых беспородных крыс и их потомства женского пола, морфологическое исследование ткани яичников, цитогенетическое исследование костного мозга животных и показатели перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной защиты в крови и гомогенате яичников экспериментальных животных. Всего изучено 4 группы животных (контрольная, исходные животные опытной группы, первое поколение и второе поколение). Конечная выборка составила 92 животных. Предварительно была рассчитана доза для ингаляционной затравки крысы исходя из Гигиенических нормативов к атмосферному воздуху в городских и сельских населенных пунктах в РК. Оценили накопление химических веществ в ткани яичника методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Морфологическое исследование яичников включало в себя изучение ткани на электронномикроскопическом уровне и

светооптическом уровне (показатели размеров яичников, количественные и качественные характеристики фолликулогенеза). Цитогенетическое исследование костного мозга включало в себя подсчет микроядер в полихромных эритроцитах костного мозга по методике J.A.Heddle и W.Schmid, а также анализ метафазных пластин с подсчетом aberrаций хромосомного и хроматидного типов. Показатели липоперекисного каскада оценивали уровнем МДА и уровнем ферментов ГПО и КАТ в крови и гомогенате яичников экспериментальных животных. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета Статистика 8. При проверке статистических гипотез принят 5%-ный уровень значимости.

На основании результатов экспериментального исследования можно сделать **следующие выводы:**

1. Установлено накопление солей тяжелых металлов, относящихся к классу репродуктивных токсикантов, в тканях яичников крыс при ингаляционном воздействии пыле-солевыми аэрозолями Аральского моря, которые приводят к изменениям на клеточном, тканевом и органном уровне.

2. В результате ингаляционного воздействия пыле – солевыми аэрозолями Аральского моря на фолликулогенез у самок белых крыс и их потомства отмечается статистически значимые качественные и количественные изменения коркового и мозгового слоев яичника опытных групп в сравнении с группой контроля.

Выявлено уменьшение площади коркового слоя и фолликулярного запаса яичников в первом и втором поколениях опытной группы в сравнении с группой контроля и исходной опытной группой ( $p < 0,05$ ).

Структурные качественные изменения яичников от крыс опытных групп ассоциировались с дистрофическими изменениями тяжелой степени, характеризующиеся вакуолизацией цитоплазмы, некробиотическими изменениями структурно-функциональных клеток желтых тел и фолликулов в сравнении с контрольной группой. Более тяжелые изменения выявляются у последующих поколений в сравнении с исходной группой.

Установлена обратная тесная и обратная средняя корреляционная зависимость между повышением уровня МДА в крови и в гомогенате соответственно и количеством первичных фолликулов в яичниках экспериментальных животных ( $r = -0,78$ ,  $r = -0,71$  при  $p < 0,05$ ).

3. При изучении влияния химических загрязнителей, входящих в состав пыле-солевых аэрозолей Аральского моря, на наследственный материал у самок белых крыс и их потомства, выявлено увеличение количества гиперхроматофильных эритроцитов в мазках костного мозга у исходных животных опытной группы в 3,5 раза по сравнению с группой контроля ( $6,9 \pm 0,4$  и  $2,0 \pm 0,2$  при  $p < 0,05$ ). В поколениях происходит нарастание количества клеток с микроядрами в первом поколении животных опытной группы по сравнению с исходной группой на 22% ( $8,8 \pm 0,2$ ;  $p < 0,05$ ).

Наблюдается рост хромосомных aberrаций у исходных животных опытной группы в 2,8 раза по сравнению с группой контроля ( $4,7 \pm 0,9$  и  $1,7 \pm 0,7$  соответственно при  $p < 0,05$ ). Рост обусловлен aberrациями хроматидного типа. Количество хромосомных aberrаций у животных первого поколения увеличивается на 16%, а у животных второго поколения на 23%, в сравнении с животными исходной группы ( $5,6 \pm 0,9$  и  $6,1 \pm 0,8$ ;  $p < 0,05$ ).

Данные показатели имеют сильную корреляционную взаимосвязь с уровнем МДА в крови животных ( $r = 0,93$  для количества клеток с микроядрами и протрузиями, и  $r = 0,87$  для количества хромосомных aberrаций, при  $p < 0,05$ ).

4. Уровень малонового диальдегида в крови исходных животных опытной группы в 2,4 раза больше, чем в группе контроля ( $1,79 \pm 0,15$  и  $0,7 \pm 0,06$   $p < 0,05$ ). В поколениях этот показатель возрастает на 14% в первом и 13% во втором поколении по сравнению с исходными животными опытной группы. Уровень малонового диальдегида в гомогенате

яичников у исходных животных опытной группы превысил значения контроля в 2,6 раза ( $5,3 \pm 0,3$  и  $2,05 \pm 0,2$ ;  $p < 0,05$ ).

Активность каталазы уменьшился в крови исходных животных по сравнению с контрольной группой в 2,5 раза, в группах первого и второго поколений в 3 раза. В гомогенате исходной группы животных активность каталазы в 2,3 раза меньше, чем в контрольной группе.

**Исполнитель: Турдыбекова Я.Г.**