

УДК 576.2:618.11/.14-053.31-092.9:616.36-008.5

# МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЯИЧНИКОВ, ЯЙЦЕВОДОВ, МАТКИ 15-СУТОЧНЫХ КРЫСЯТ, РОДИВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ ХОЛЕСТАЗА

Я.Р. Мацюк, С.Я. Гудинович

УО «Гродненский государственный медицинский университет»



**МАТЮК Ярослав Романович** – д.б.н., профессор,  
заведующий кафедрой гистологии, цитологии и  
эмбриологии ГрГМУ



**ГУДИНОВИЧ Светлана Ярославовна** – врач,  
акушер-гинеколог 4-ой женской консультации  
г. Гродно

Эксперимент проведен на 17 крысятах 15-суточного возраста, 10 из которых родились в условиях обтурационного холестаза, вызванного в завершающий период обособления у эмбрионов зачатков органов (12-ые сутки беременности). Применяв в комплексе гистологические и гистохимические методы исследования с последующим морфо- и цитофотометрическим анализом, установлено, что у 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза, имеют место задержки становления структур яичников, яйцеводов и матки, сопровождаемые снижением в них активности СДГ, ЛДГ, НАДН- ДГ, КФ и содержания гликопротеинов и гликозаминогликанов.

**Ключевые слова:** беременность, холестаз, потомство, яичники, яйцеводы, матка.

The experiment was performed in 17 rat pups (aged 15 days); 10 from them were born under the conditions of obstruational cholestasis induced during the final stage of embryonal pre-organ distinction (the 12th day of pregnancy). Using the combined histologic and histochemical methods of investigation followed by morpho- and cytophotometric analysis, we have established that in such pups the retarded formation of ovaries, ovary ducts and uterus is observed; it is accompanied by the reduction of enzymatic activities (succinate, lactate and NADH dehydrogenases, and acid phosphatase) and lower glycoprotein and glycosaminoglycan contents.

**Key words:** pregnancy, cholestasis, posterity, ovaries, ooducts, uterus.

## Аналитический обзор

В условиях холестаза, зачастую развивающегося как осложнение заболеваний печени, имеет место увеличение содержания в сыворотке крови холестерина, билирубина, щелочной фосфатазы и особенно желчных кислот [10, 12]. Последние, ввиду высокой способности встраиваться в липидный комплекс мембран, могут оказывать существенное влияние на течение мембранных процессов в клетке и, естественно, функции органов в целом [2]. Установлено, что при нарушении энтерогепатической циркуляции во взрослом организме происходит накопление продуктов ПОЛ [11, 13], сопровождающееся выраженными структурными и метаболическими изменениями во многих паренхиматозных органах [4, 6, 9]. Каков характер изменений в органах потомства, родившегося в условиях холестаза беременных, изучено недостаточно [1, 3, 5]. Известно лишь, что холестаз, развивающийся в период обособления зачатков органов, вызывает задержку прироста массы тела у родив-

шегося потомства, его физического развития и структурно-метаболической дифференцировки клеток паренхимы многих органов [7]. Как развивается в ранний постнатальный период структура органов женской половой системы, ее цитохимические свойства, не изучены, несмотря на практическую и научную значимость затронутого вопроса.

В связи с этим была поставлена цель: установить в эксперименте особенности структурных и цитохимических свойств органов женской половой системы в ранние сроки постнатального развития у потомства, родившегося в условиях холестаза, вызванного в период эмбриогенеза.

## Материал и методы

Эксперимент проведен на 17 крысятах 15-суточного возраста, 10 из которых родились от 10 беспородных белых крыс-самок, которым на 12 сутки беременности, т.е. в период завершения обособления органов у эмбрионов, вызывали экспериментальный обтурационный холестаз путем нало-

жения лигатуры на верхнюю часть общего желчного протока. 7 других крысят, родившихся от самок, которым производилась лишь лапоротомия, служили контролем. Всего в опыте использовано 16 беременных самок массой 180-200 г. Опытные и контрольные самки и родившиеся от них крысята находились в одинаковых условиях вивария и под тщательным наблюдением.

На 15-ые сутки после рождения опытных и контрольных крысят взвешивали и подвергали эктаназии парами эфира. Быстро извлекали яичники (взвешивали), яйцеводы, матки и иссекали кусочки. Одни из них после фиксации в жидкости Карнуа заключали в парафин по принципу «контроль-опыт». Изготовленные срезы толщиной 5 мкм использовали для гистологических и морфометрических исследований, а толщиной 10 мкм - для гистохимических, с целью определения в развивающихся структурах женской половой системы содержания гликопротеинов и гликозаминогликанов (сиало- и сульфомуцинов) [8]. Другие кусочки после глубокого замораживания в жидком азоте монтировали по вышеназванному принципу на объектодержателях и помещали в криостат при  $-15^{\circ}\text{C}$ . Изготовленные криостатные срезы толщиной 10 мкм использовали для определения в структурах вышеуказанных органов локализации и активности оксидоредуктаз (СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ) и кислой фосфатазы [8]. Гистологические препараты после изучения подвергали тщательной морфометрической обработке с использованием системы компьютерного анализа изображения «BIOSKAN». Количественную оценку активности ферментов на гистохимических препаратах проводили на приборе МФТХ-2. Полученный цифровой материал статистически обрабатывался на персональном компьютере с применением пакета программ «Statistika 6.0» для «Windows».

### Результаты и их обсуждение

Результаты изучения гистологических препаратов яичников, яйцеводов и матки и их морфометрического анализа представлены в таблице 1. Анализируя представленные в ней данные, становится очевидным, что в корковом веществе яичника 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза, проявляется тенденция к уменьшению общего числа фолликулов, происходящих преимущественно за счет растущих и вторичных. Количество примордиальных фолликулов, наоборот, значительно увеличено. Притом, в отличие от контрольных животных, они располагаются не группами, а поодиночке и в непосредственной близости от белочной оболочки. В расположенных между ними соединительнотканых прослойках находится обилие мелких кровеносных сосудов. Растущие, тем более, вторичные фолликулы, располагаются в более глубоких слоях коркового вещества. Первые из них окружены одним или двумя слоями фолликулярных клеток и, как правило, у опытных животных отличаются меньшими размерами и имеются в меньшем количестве. Притом фолликуляр-

ные клетки, прилежащие к ооциту, отличались микровакуолизированной цитоплазмой, оксифильные свойства которой снижены. Хроматин в их ядрах конденсированный, гиперхромный. Периферически расположенные в фолликуле фолликулярные клетки имели нормальные структурные и тинкториальные свойства. Диаметр ооцитов растущих фолликулов меньше чем таковых в контроле. Гранулы вителлина в них немногочисленны и неравномерно распределены по ооплазме. Между скоплениями вителлиновых гранул в ооплазме наблюдались явления микровакуолизации. Блестящая оболочка вокруг ооцитов не обнаруживается. Тека, окружающая растущий фолликул хорошо различима, но гемокапилляры в ней также не обнаруживаются.

Меньшими размерами у опытных крысят отличались и вторичные фолликулы. Некоторые из них содержат по два или три ооцита, что свидетельствует о задержке их деления в период формирования фолликулов. Между фолликулярными клетками, количество которых в фолликуле значительно меньше, чем в контроле, появляются менее заметные, чем у контрольных животных, межклеточные пространства, что свидетельствует о задержке их секреторной деятельности. Ооциты во вторичных фолликулах у опытных крысят отличаются также меньшими размерами. Крупноглыбчатый хроматин неравномерно распределен по кариоплазме, которая иногда также подвержена явлению микровакуолизации. В ооплазме количество гранул вителлина возрастает медленнее, чем у контрольных животных, и распределение их по ооплазме из-за явлений микровакуолизации неравномерное. Встречаются ооциты с пикнотическими ядрами или лизирующей ооплазмой, что свидетельствует о начале процесса атрезии. Вокруг ооцита уже четко определяется блестящая оболочка, однако последняя, в отличие от таковой у контрольных животных, тоньше. В теке вторичных фолликулов, в ее внутреннем слое, обнаруживаются немногочисленные кровеносные капилляры. Между ними появляются клетки округлой формы с наличием в цитоплазме слабооксифильной зернистости. Фолликулярные клетки лучистого венца также меньше по размерам, как и размеры их ядер, в сравнении с таковыми в контроле. Количество фолликулов, имеющих те или иные изменения в структуре ооцитов и фолликулярных клетках, выше, чем у контрольных животных. Мозговое вещество яичников опытных крысят отличается обилием расширенных кровеносных сосудов, но последние, как правило, не полнокровны.

Задерживается развитие структур в стенке яйцеводов и матки. В яйцеводе уменьшено количество складок слизистой, короче их длина. Высота их эпителиоцитов снижена. В слизистой матки значительно меньше число развивающихся желез. Последние короче, чем в контроле. Снижена и высота эпителиоцитов, выстилающих слизистую оболочку. Значительно меньшая и толщина мышечной оболочки матки (таблица 1).

Таблица 1. Морфометрические показатели структур развивающихся органов женской половой системы 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза

| Показатели  | Контроль     | Опыт           |
|---|--------------|----------------|
| <b>Яичник</b>                                     | 23,79 ± 3,46 | 21,5 ± 2,09    |
| Общее количество фолликулов в поле зрения (20x10) |              |                |
| Из них  | 11,21 ± 2,88 | 12,13 ± 0,55   |
| <b>примордиальных</b>                             | 6,37 ± 0,54  | 5,25 ± 0,98    |
| <b>растущих</b>                                   | 31,29 ± 1,34 | 28,0 ± 2,72    |
| диаметр их ооцита (мкм)                           | 6,21 ± 0,24  | 4,13 ± 0,59*   |
| <b>вторичных</b>                                  | 43,13 ± 1,58 | 42,77 ± 1,72   |
| диаметр ооцита (мкм)                              | 6,28 ± 0,04  | 5,73 ± 0,63    |
| диаметр ядра фолликулярных клеток (мкм)           |              |                |
| <b>третичных</b>                                  | 0            | 0              |
| <b>атретических</b>                               | 1,02 ± 0,19  | 3,04 ± 0,24    |
| <b>Яйцевод</b>                                    |              |                |
| Число складок слизистой                           | 5,5 ± 0,57   | 2,81 ± 0,43*   |
| Длина складок (мкм)                               | 54,93 ± 1,49 | 27,36 ± 1,73*  |
| Высота эпителиоцитов (мкм)                        | 17,62 ± 0,41 | 14,76 ± 0,84*  |
| Толщина мышечной оболочки (мкм)                   | 16,55 ± 1,42 | 18,30 ± 1,17*  |
| <b>Матка</b>                                      |              |                |
| Число желез                                       | 6,50 ± 0,94  | 3,25 ± 0,61    |
| Длина желез (мкм)                                 | 67,44 ± 1,39 | 40,33 ± 1,17*  |
| Высота эпителиоцитов слизистой (мкм)              | 18,50 ± 0,37 | 12,32 ± 0,71 * |
| Толщина миометрия (мкм)                           | 74,85 ± 0,92 | 51,33 ± 1,09   |

Примечание \* - показатели достоверны  $P < 0,005$

Изменены и цитохимические свойства развивающихся структур яичников, яйцеводов и матки. Активность СДГ не высокая. В яичнике контрольных животных она наиболее значительная в фолликулярных клетках вторичных фолликулов и особенно прилежащих к ооциту, меньшая - в первичных и тем более примордиальных. В яйцеводе, как и в матке, последняя наиболее высокая в апикальном отделе эпителиоцитов слизистой. В миоцитах мышечных оболочек активность фермента в виде следов. У опытных 15-суточных крысят активность фермента снижена, особенно в фолликулярных клетках примордиальных и растущих фолликулов, в апикальном отделе эпителиоцитов слизистой яйцеводов и матки. В миоцитах мышечной оболочки закономерных изменений в активности СДГ не обнаружено (рис. 1).

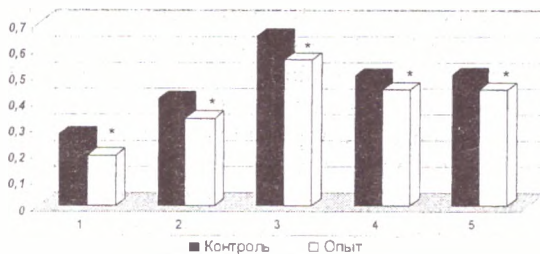


Рис 1. Активность СДГ в развивающихся фолликулах и эпителии яйцеводов и матки 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза.  
1 - Фолликулярные клетки примордиальных.  
2 - растущих и 3 - вторичных фолликулов.  
4 - эпителиоциты яйцеводов и 5 - матки.  
Примечание: \* - показатели достоверны ( $p < 0,05$ )

Активность же ЛДГ более высокая, но по распределению и локализации среды структур яичника, яйцеводов и матки весьма напоминает СДГ. При этом надо отметить, что в фолликулярных клетках она наиболее высокая во вторичных фоллику-

лах, расположенных в самой периферической части коркового вещества. Активность фермента высокая и в интерстициальных клетках теки фолликулов. У крысят, родившихся в условиях холестаза, активность фермента снижена, особенно в фолликулярных клетках фолликулов и в меньшей степени в эпителиоцитах слизистой яйцеводов и матки (рис. 2).

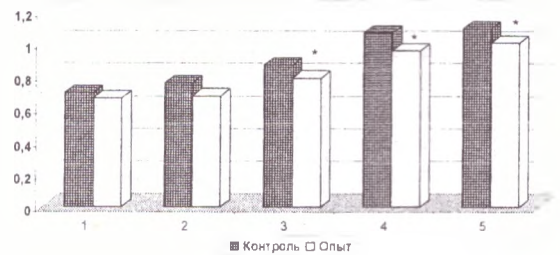


Рис 2. Активность ЛДГ в развивающихся фолликулах и эпителии яйцеводов и матки 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза.  
1 - Фолликулярные клетки примордиальных.  
2 - растущих и 3 - вторичных фолликулов.  
4 - эпителиоциты яйцеводов и 5 - матки.  
Примечание: \* - показатели достоверны ( $p < 0,05$ ).

По активности НАДН-ДГ занимает промежуточное положение между СДГ и ЛДГ. Наиболее высокая ее активность обнаруживается в цитоплазме фолликулярных клеток растущих фолликулов яичников и в апикальных отделах эпителиоцитов яйцеводов и матки. В базальных отделах эпителиоцитов, как и в фолликулярных клетках вторичных фолликулов, активность фермента ниже, а в миоцитах яйцеводов, матки - в виде следов. У опытных крысят наблюдалось снижение активности, наиболее значительное в растущих фолликулярных клетках и менее - во вторичных фолликулах. Незначительное уменьшение активности НАДН-ДГ имело место в эпителиоцитах яйцеводов и матки, а в их миоцитах активность фермента существенно не менялась (рис. 3).

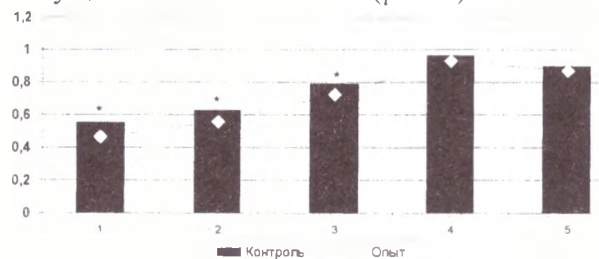


Рис 3. Активность НАДН-ДГ в развивающихся фолликулах и эпителии яйцеводов и матки 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза.  
1 - Фолликулярные клетки примордиальных.  
2 - растущих и 3 - вторичных фолликулов.  
4 - эпителиоциты яйцеводов и 5 - матки.  
Примечание: \* - показатели достоверны ( $p < 0,05$ ).

Активность КФ-азы также невысокая, но более значительная в фолликулярных клетках лучистого венца вторичных фолликулов. В направлении к периферии фолликула активность КФ немного падает и приравнивается к таковой у интерстициальных клеток теки. Немного ниже, нежели в фолли-

кулярных клетках, активность фермента обнаруживается в ооплазме ооцитов вторичных фолликулов. В яйцеходах, матке активность КФ наиболее высокая в апикальном отделе эпителиоцитов, а в эпителиоцитах маточных желез немного слабее. В миоцитах активность фермента незначительная.

У опытных крысят активность КФ снижена, притом в ооцитах более значительно, нежели в фолликулярных клетках. Значительное уменьшение активности фермента имело место в эпителиоцитах яйцеходов, и особенно матки, и полярность ее распределения сглаживается. В миоцитах миоэпителиоцитов активность фермента существенно не меняется (рис. 4).



Рис 4. Активность КФ в развивающихся фолликулах и эпителии яйцеходов и матки 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза.

1 - фолликулярные клетки примордиальные  
2 - растущих и 3 - вторичных фолликулов  
4 - эпителиоциты яйцеходов и 5 - матки.

Примечание: \* - показатели достоверны ( $p < 0,05$ ).

Невысокое содержание у контрольных 15-суточных крысят и рибонуклеопротеидов, притом в цитоплазме фолликулярных клетках, особенно вторичных фолликулов, их немного больше, чем в ооплазме ооцитов. Наиболее пиронинофильны их ядрышки. В цитоплазме эпителиоцитов матки в сравнении с таковыми яйцеходов их содержание незначительно выше. У опытных крысят во всех указанных структурах содержание рибонуклеопротеидов незначительно меньше.

Гликопротеины у контрольных животных выявляются в небольших количествах в ооплазме ооцитов развивающихся фолликулов, меньше их в блестящей оболочке, а также в цитоплазме фолликулярных клеток, окружающих полости во вторичных фолликулах. В атретических фолликулах содержание гликопротеинов в фолликулярных клетках, ооцитах весьма незначительное. Они обнаружены и в апикальных отделах эпителиоцитов яйцеходов и матки. У крысят, родившихся в условиях холестаза, имеет место уменьшение содержания гликопротеинов в первую очередь в ооплазме ооцитов, особенно вторичных фолликулов, а в примордиальных - не выявляются совсем. Значительное уменьшение их содержания имеет место и в блестящей оболочке. В фолликулярных клетках, окружающих полости во вторичных фолликулах содержание гликопротеинов незначительно возрастает. Значительное уменьшение гликопротеинов наблюдается и в апикальном отделе эпителиоцитов яйцеходов и матки.

Сиаломуцины у контрольных животных обнаруживаются главным образом в плазмолемме фол-

ликулярных клеток лучистого венца в виде следов в блестящей оболочке и в фолликулярной жидкости вторичных фолликулов, а также в апикальном отделе эпителиоцитов яйцеходов, матки и в основном веществе слизистых оболочек. У опытных животных имеет место уменьшение содержания этого биополимера в цитоплазме фолликулярных клеток, блестящей оболочке и в эпителиоцитах яйцеходов, вплоть до исчезновения. В эпителиоцитах матки их количество существенно не менялось.

Сульфомуцины у контрольной группы крысят выявлены в небольших количествах лишь в фолликулярной жидкости вторичных фолликулов и в гранулах тканевых базофилов яичников, яйцеходов и матки. У опытных животных их содержание в фолликулярной жидкости уменьшалось, но неоднозначно в разных фолликулах, а в гранулах тканевых базофилов наоборот увеличивалось. Незначительное их увеличение наблюдалось и в основном веществе слизистой матки.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что экспериментально вызванный у крыс обтурационный холестаз в завершающий период обособления у эмбрионов зачатков органов (12-ые сутки беременности) приводит к торможению в яичниках 15-суточных крысят процесса фолликулогенеза при усилении в нем атретических изменений, задержке развития структур яйцеходов и матки, сопровождаемых снижением в них активности СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ, КФ и содержания гликопротеинов и гликозаминогликанов.

#### Литература

1. Гришюк Р. И. Особенности развития детей при хронических заболеваниях печени у матери // Педиатрия. - 1970. - С. 59-61
2. Ганиткевич Я. В. Роль желчи и желчных кислот в физиологии и патологии организма // Киев: Наукова думка - 1980. - 178 с.
3. Дахно А. Н. Определение функционального состояния желчевыводящей системы у новорожденных детей первых дней жизни // Физиол. и биохим. аспекты патол. процессов: Сб. науч. тр. Витебск. мед. у-та. - Смоленск. - 1990. - С. 44-46
4. Кизюкевич Л. С., Туревский А. А., Шелестная Е. А. Показатели метаболизма почек при экспериментальном холестазах и последующей хирургической декомпрессии желчных путей // Морфология. - 2000. - Т. 117, №3. - С. 56-57.
5. Кизюкевич Л. С., Мацюк Я. Р. Экстрапеченочный обтурационный холестаз матери и развитие организма потомства. // Педиатрия. - 2002. - №3. С. 75-78.
6. Мацюк Я. Р., Туревский А. А., Кизюкевич Л. С., Морголь С. К. Морфологические изменения фолликулов щитовидной железы в ранние сроки холестаза // Вестн АН Беларуси. - 1995. - №2. - С. 96-100
7. Мацюк Я. Р., Кизюкевич Л. С., Закурдаева М. Н., Михальчук Е. Ч. и др. Структурные особенности органов пищеварительной и мочеполовой систем 15-суточного, потомства родившегося в условиях холестаза // Ж. Гродн. гос. мед. ун-та. - 2004 - №3(7). - С. 22-25.
8. Пирс А. Г. Гистохимия теоретическая и прикладная // М.: Иностранная литература. - 1962. - 962с.
9. Туревский А. А., Можейко Л. А., Кизюкевич Л. С., Емельяник С. В. и др. Структурно-функциональные сдвиги при экспериментальной ахолии // Актуал. вопр. морфол.: тез. докл. III съезда анат., гистол., эмбр. и топографоанатомов УССР, Черновцы. - 1990. - С. 321.
10. Шехтман М. М. Экстрагенитальная патология и беременность // Л.: Медицина. - 1987. - 296 с.
11. Kountourous S., Schener P., Billing B. Effect of prolonged bile duct obstruction in the rat on hepatic transport of bilirubin // Clin. Sci. - 1985. - V. 68 - N. 3 - P. 341-347.
12. Nokila K., Rikonen S., Lindfors M., Miettinen T. Serum squalene and noncholesterol sterols before and after delivery in normal and cholestatic pregnancy // J. Lipid Res. - 1996. - V 37. - N. 12 - P. 2687-2695
14. Sing Li, Yanbang Chi, Xuesun F. Zhongguo puwai sicu yu linchuang zazhi // Clin. S. Bases and Clin. Seery. - 1998. - V. 5 - N. 3 - P. 148-149.