

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М., Медицина, 1990.
2. Марченко Л.А. Желтое тело. Механизмы формирования и регресса. *Media Medica*, 2000, т. 2, № 5, с. 136.
3. Савицкий Г.А. и Савицкий А.Г. Миома матки (проблемы патогенеза и патологической терапии). СПб., ЭЛБИ, 2000.
4. Серов В.В., Журавлева Т.Б., Василевский Л.Н. и Мальникова Н.Г. Морфогенез миомы матки. *Акуш. и гин.*, 1973, № 1, с. 3–8.
5. Сметник В.П. и Тумилович Л.Г. Неоперативная гинекология. М., МИА, 1998.
6. Хмельницкий О.К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний. СПб., СОТИС, 1994.
7. Энциклопедия ультразвуковой диагностики в акушерстве и гинекологии. Допплерография в гинекологии. Под ред. Б.Зыкина и М.Медведева. М., Реальное время, 1999.
8. Anderson S. and Moghrabi N. Physiology and molecular genetics of 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenesis. *Steroids*, 1997, v. 62, №1, p. 143–147.
9. Kurjak A. and Kupesic S. Textbook on color doppler in Gynecology, Infertility and Obstetrics. Zagreb, University of Zagreb, 1999.
10. Zei Z.M., Ghagini N. and Rao C.V. Quantitative cell composition of human and bovine corpora lutea from various reproductive states. *Biol. Reprod.*, 1991, v. 44, p. 1148–1156.

Поступила в редакцию 10.01.2006 г.

MORPHO-FUNCTIONAL PARAMETERS OF CORPUS LUTEUM IN NORMAL WOMEN AND IN PATIENTS WITH UTERINE MYOMA

G.S. Danelia, M.V. Pailodze, M.A. Dgebuadze and S.G. Matitashvili

Ovarian corpus luteum of menstruation at the stage of its peak activity was studied in normal women and in patients with proliferative uterine myoma using ultrasonography (intravaginal color doppler imaging), laboratory analyses (progesterone and estrogen concentrations in peripheral blood) and morphological (histological, histochemical and morphometric) methods. In patients with proliferative uterine myoma, the defective corpus luteum was detected, as indicated by the prevalence of small granulosa lutein cells, insignificant amount and uneven distribution of lipid inclusions in their cytoplasm, marked reduction of progesterone concentration in peripheral blood, unechogenicity, low degree of vascularization and increase in the value of resistance index of ovarian stromal arteries.

Key words: *ovary, corpus luteum, uterine myoma.*

Department of Morphology, K.V. Chachava Institute of Perinatal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Tbilisi; Department of Department of Normal Anatomy, Tbilisi State Medical University, Georgia.

© Коллектив авторов, 2006
УДК 612.015.1:611.65/66:636.4

Е.Ю. Бессалова, Н.П. Барсуков и В.Н. Ивахненко

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ТКАНЯХ ОРГАНОВ ПОЛОВОЙ СИСТЕМЫ САМОК СВИНЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ КСЕНОГЕННОЙ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ (ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Кафедра нормальной анатомии человека (зав. — проф. В.С.Пикалюк) Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь, Украина

Проведено экспериментальное исследование биологических эффектов парентерально введенной спинномозговой жидкости (СМЖ) на матку, маточные трубы и яичник поросят в возрасте 60 сут. В качестве животных-доноров ликвора использовали лактирующих маточек после первого отела (4–6 лет), СМЖ которых содержит максимальный спектр биологически активных веществ (БАВ). Использовали цельный ликвор, ликвор, проведенный через бактериальные фильтры, и надфильтрат ликвора. Эффект СМЖ оценивали через 30 сут после ее введения при гистологическом и гистохимическом (выявление сукцинат- и лактатдегидрогеназы) исследовании. Обнаружено, что исследованные препараты ликвора по-разному влияют на окислительно-восстановительные процессы в тканях органов репродуктивной системы неполовозрелых свинок, что связано с наличием широкого спектра БАВ в СМЖ млекопитающих животных.

Ключевые слова: *матка, маточные трубы, яичники, спинномозговая жидкость, окислительно-восстановительные реакции.*

Спинномозговая жидкость (СМЖ), или ликвор, крупного рогатого скота по своим свойствам и составу наиболее близка ликвору человека [6, 7]. В литературе имеются многочисленные данные о влиянии ликвора при его парентеральном введении на обменные процессы и состояние микроциркуляторного русла за счет содержания в нем широкого спектра биологически активных веществ (БАВ). Это продукты секреции гипоталамуса, гипофиза, шишковидного тела: нейропептиды, ней-

ромедиаторы, гормоны, эндорфины, энкефалины, а также биогенные амины, аминокислоты, витамины, играющие важнейшую роль в регуляции функций женской репродуктивной системы [9, 10]. Ликвор, представляя собой биогенный продукт, не обладает токсичностью, в том числе эмбрио- и фетотоксичностью, неаллергенен, неанафилактогенен [6, 7]. СМЖ не свойственна кумуляция, отсутствует ее видоспецифичность [7], что позволяет использовать различные способы ее парентерального

введения в организм реципиента с целью получения определенного биологического эффекта, зависящего от соотношения в ней БАВ. Выбор препаратов, созданных на основе СМЖ, обусловлен тем, что в ней содержатся БАВ, оказывающие комплексное воздействие на организм, затрагивая все уровни регуляции. Гормоны в СМЖ находятся в уникальных соотношениях, в результате чего при введении ее в организм реципиента происходит моделирование физиологического состояния донора, а период полужизни большинства БАВ в ликворе больше, чем в сыворотке крови и других биологических жидкостях. Работа проведена на поросятах крупной белой породы. Данная работа представляет как теоретический (изучение свойств биологической жидкости — ликвора), так и практический интерес (комплексное изучение свойств различных препаратов на основе СМЖ с целью использования в медицине и ветеринарии). Поскольку активность дегидрогеназ отражает уровень интенсивности метаболических процессов, изучение динамики ферментативной активности в тканях органов половой системы самок является весьма перспективным, так как оно позволяет вскрыть механизм действия ликвора.

Материал и методы. В качестве животных-доноров ликвора использовали высокопродуктивных лактирующих коров красной степной породы после первого отела (возраст 4–6 лет), СМЖ которых содержит максимальный спектр БАВ [7]. Как известно, лактация вызывает временное физиологическое бесплодие, в связи с чем установлено ингибирующее воздействие СМЖ лактирующих коров, при парентеральном ее введении, на репродуктивную систему [6]. Ликвор получали прижизненно методом субокипитальной пункции без применения анестезии и сохраняли в жидком азоте, затем изготавливали следующие криоконсервированные биопрепараты: а) цельный ликвор (ЦЛ); б) ликвор, проведенный через бактериальные фильтры; в) надфильтрат ликвора, образовавшийся после вымывания остатка на фильтре дистиллированной апиrogenной водой в объеме 250 мл после проводки (фильтрации) 600 мл ЦЛ. Отличие между этими препаратами заключается в том, что, исходя из расчета размера пор фильтра и размеров молекул, проведенный ликвор содержит преимущественно низкомолекулярные БАВ (гипоталамические гормоны, аминокислоты, мелатонин и др.), а надфильтрат ликвора является более концентрированной жидкостью, содержащей крупномолекулярные гормоны гипофиза, некоторых периферических эндокринных желез. В связи с этим были сформированы 3 подопытные группы животных (по 20 поросят в каждой), которым в возрасте 60 сут эти жидкости вводили однократно внутримышечно из расчета 2 мл/кг массы тела. Контрольную группу составили 20 самок свиней того же возраста, им внутримышечно вводили 0,9% раствор NaCl в аналогичной дозе. Животных забивали в возрасте 90 сут.

Объектом исследований явились яичник, матка и маточные трубы. Материал замораживали и обрабатывали по общепринятой методике [3, 4]. Изготавливали криостатные срезы толщиной 15 мкм. Сукцинатдегидрогеназу (СДГ) выявляли по Нахласу, лактатдегидрогеназу (ЛДГ) — по Скарпелли, Гессу и Пирсу [4] с соответствующими субстратами и контролями. О степени активности дегидрогеназ судили по интенсивности окраски, концентрации и распределению в цитоплазме клеток гранул формазана. Часть срезов окрашивали гематоксилином—эозином.

Результаты исследования. Эндометрий свиней контрольной группы толстый, железы глубокие, расширенные и многократно ветвятся. Активность СДГ и ЛДГ высокая, прежде всего в эпителиоцитах желез и выстилающих эндометрий. В цитоплазме соединительнотканых клеток собственной пластинки слизистой обо-

лочка матки активность обоих ферментов умеренная. При этом степень заполнения ее гранулами продукта реакции при выявлении ЛДГ несколько большая, чем при реакции на СДГ. В миометрии обнаруживается отчетливо выраженная реакция на ЛДГ и умеренная — на СДГ.

Слизистая оболочка маточной трубы имеет большое количество складок, покрытых однослойным призматическим эпителием, в котором выявляется высокая активность СДГ. При этом продукт реакции настолько обильно распределен по всей цитоплазме клеток, что в них практически не просматриваются ядра. Клетки соединительнотканного компонента слизистой оболочки окрашены умеренно, активность фермента в миоцитах примерно такая же. Активность ЛДГ в эпителии слизистой оболочки маточной трубы также высокая, но все же уступает таковой СДГ, признаком чего является отчетливо видимая зона расположения ядер, менее окрашенная, чем апикальные и базальные части клеток. Клетки собственной пластинки слизистой оболочки дают более слабую реакцию на ЛДГ, чем на СДГ, а клетки мышечной оболочки — наоборот.

У подопытных животных, получавших ЦЛ, по сравнению с животными контрольной группы толщина эндометрия меньше, количество железистых трубочек в эндометрии незначительное, они слабо ветвятся. В эпителии, выстилающем полость матки, обнаруживается высокая активность ЛДГ. Продукт реакции в виде гранул мелких и средних размеров сосредоточен преимущественно в надъядерной зоне эпителиоцитов, но и в подъядерных их участках интенсивность окрашивания почти также значительна. В эпителиоцитах желез активность фермента несколько слабее, чем в покровном эпителии эндометрия, но она существенно выше, чем в клетках собственной пластинки эндометрия, которые проявляют слабую реакцию. В цитоплазме фибробластов гранулы формазана мелкие и распределены относительно равномерно, их количество уменьшается по мере удаления от перинуклеарной зоны. В миометрии реакция также умеренная. Активность СДГ довольно высокая как в покровном эпителии, так и в эпителиоцитах желез. Однако, в отличие от реакции на ЛДГ, реакция на СДГ в железах выражена значительно, чем в покровном эпителии. Распределение гранул продукта реакции неравномерное: в зоне расположения ядер определяется просветление. В покровном эпителии гранулы диформазана мелкие и средней величины и относительно одинаково плотно заполняют как апикальные, так и базальные части цитоплазмы эпителиоцитов, а в железах в базальной части клеток активность СДГ более высокая. В цитоплазме клеток миометрия и собственной пластинки эндометрия обнаруживается слабая реакция на СДГ.

Сравнительная оценка результатов реакции на ЛДГ в данной группе и у животных контрольной группы дает основание говорить о повышении активности фермента во всех структурных компонентах стенки маточной трубы и, прежде всего, в эпителии слизистой оболочки, а также в цитоплазме соединительнотканых клеток; в миоцитах мышечной оболочки, сосудов, в их эндотелии, в мезотелии серозной оболочки (рис. 1). Что касается активности СДГ, то в эпителии слизистой оболочки маточной трубы, по сравнению с контролем, она заметно слабее. Цитоплазма соединительнотканых клеток собственной пластинки слизистой

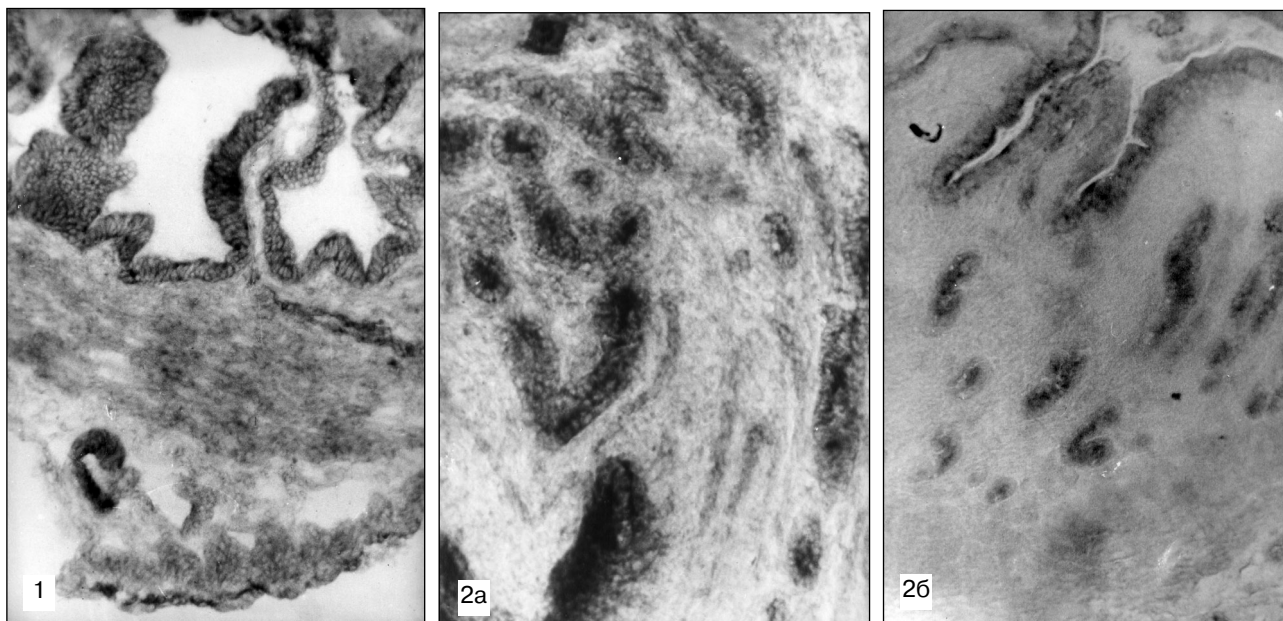


Рис. 1. Стенка маточной трубы свиньи при введении цельной спинномозговой жидкости.

Высокая активность лактатдегидрогеназы во всех структурных компонентах стенки маточной трубы. Реакция Пирса, Гесса, Скарпелли. Об. 10, ок. 10.

Рис. 2. Стенка матки свиньи при введении надфильтрата спинномозговой жидкости.

а — максимальная активность лактатдегидрогеназы в железистом и покровном эпителии матки; б — высокая активность сукцинатдегидрогеназы в эпителии желез и умеренная активность в покровном эпителии эндометрия. а — реакция Пирса, Гесса, Скарпелли; б — реакция Нахласа. а — об. 25, ок. 10; б — об. 10, ок. 10.

оболочки проявляет умеренную реакцию на СДГ, и она также несколько ниже, чем в контроле. Реакция на СДГ гладких миоцитов маточной трубы свиней данной группы примерно такая же, как и в контроле.

У подопытных животных, получавших надфильтрат ликвора в эндометрии, трубчатые железы имеют умеренно ветвящиеся концевые отделы, доходящие почти до миометрия. Реакция покровного эпителия эндометрия на ЛДГ очень высокая. Гранулы осадка продукта реакции различной величины и формы почти сплошь заполняют цитоплазму эпителиоцитов и лишь их ядра остаются ареактивными. В эпителии, выстилающем трубчатые железы, активность фермента также высокая, однако, по сравнению с таковой покровного эпителия — несколько

ниже. При этом надъядерная часть эпителиоцитов более плотно заполнена гранулами диформаза, чем подъядерная. На фоне интенсивно окрашенной цитоплазмы ядра выглядят в виде светлых ареактивных пузырьков (рис. 2, а). Клеточные элементы соединительной ткани дают положительную реакцию на ЛДГ. В миометрии активность ЛДГ умеренная. Мелкие гранулы продукта реакции сплошь заполняют цитоплазму миоцитов. В покровном эпителии эндометрия реакция на СДГ умеренная, а в эпителии желез она более выраженная. Продукт реакции выглядит в виде пылевидных гранул, сплошь заполняющих апикальные участки цитоплазмы эпителиоцитов, в небольшом количестве встречаются гранулы средних размеров, особенно в эпителиоцитах желез (см. рис. 2, б). В контроле активность фермента значительно выражена в надъядерной зоне эпителиоцитов, чем в подъядерной их части. Миоциты средней оболочки матки слабо окрашены, как и цитоплазма клеток соединительной ткани, но из-за компактного их расположения создается впечатление более выраженной в них реакции. Сравнительный анализ показывает, что активность ЛДГ в эпителии и маточной трубы очень высокая, а активность СДГ несколько слабее. В соединительнотканых и мышечных структурах маточной трубы реакция на ЛДГ и СДГ слабее, чем в контроле.

Активность дегидрогеназ в тканях матки и маточной трубы при введении проведенного через фильтры ликвора существенно не отличается от таковой в группе с ЦЛ.

При введении ЦЛ в строму яичника, окружающей растущие фолликулы, наблюдается функциональная перестройка по сравнению с контролем (рис. 3). Это проявляется увеличением активности ЛДГ, что свидетельствует о преобладании в ней гликолитических процессов над аэ-

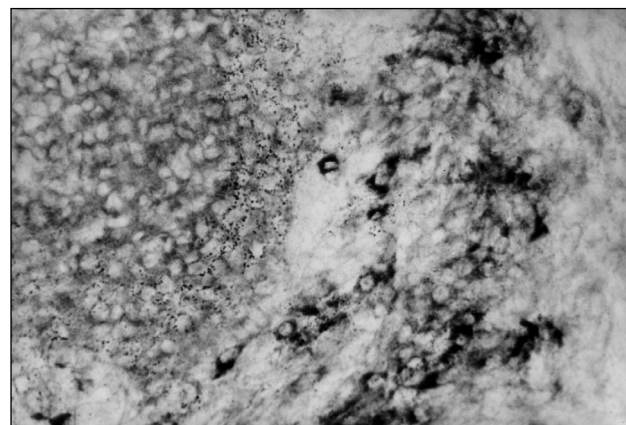


Рис. 3. Коровое вещество яичника свиньи при введении цельной спинномозговой жидкости.

Высокая активность лактатдегидрогеназы в клетках стромы вокруг растущих фолликулов. Реакция Пирса, Гесса, Скарпелли. Об. 25, ок. 10.

Результаты гистохимического анализа активности сукцинат- (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в тканях органов репродуктивной системы неполовозрелых подопытных и контрольных свиней (возраст 90 сут)

Органы	Исследованные структуры	ЛДГ				СДГ			
		Контроль	Опыт			Контроль	Опыт		
			ЦЛ	П	Н		ЦЛ	П	Н
Яичник	Белочная оболочка	++	+	+	—	—	+	+	+
	Эпителиоциты: примордиальных фолликулов	++	++	+++	++	+++	++	++	+++
	первичных фолликулов	++	++	++	++++	+++	++	+++	+++
	полостных фолликулов	++	++	+++	++++	+++	++	++	+++
	Внутренняя тека	++	++	++	++++	++	++	+++	++
	Наружная тека	+	++	+	+	+	+	+	++
	Цитоплазма овоцита	+	++	+	+	+	+	+	+
	Лучистый венец овоцита	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
	Строма коркового вещества вокруг примордиальных фолликулов	+	++	+	—	—	+	++	++
	Строма коркового вещества вокруг растущих фолликулов	++	+++	+	+	++	+	+++	+++
	Мозговое вещество	+	+	+	+	+	+	+	+
Матка	Эпителиоциты эндометрия	++	+++	+++	++++	+++	++	++	+
	Клетки собственной пластинки эндометрия	++	+	+	++	++	+	+	+
	Миоциты миометрия	+++	++	++	+	++	+/-	+/-	+
	Эпителиоциты маточных желез	+++	++	++	+++	++	+++	+++	++
Маточная труба	Эпителиоциты слизистой оболочки	++	+++	++	++++	+++	++	++	+++
	Клетки собственной пластинки слизистой оболочки	+	++	++	+	++	+	+	+/-
	Миоциты мышечной оболочки	++/+	++	++	+	++/+	++/+	+	+/-

Примечание. Интенсивность реакции: ++++ максимальная, +++ сильная, ++ умеренная, + слабая, — отсутствие реакции. ЦЛ — цельный ликвор; П — ликвор, проведенный через бактериальные фильтры; Н — надфильтрат ликвора.

робными. При введении животным проведенного через фильтры ликвора и особенно его надфильтрата имеет место преобладание активности ЛДГ в генеративных структурах яичника над активностью в клетках стромы. Отмечено значительное увеличение активности ЛДГ в цитоплазме овоцитов в опытах с ЦЛ, что свидетельствует об интенсивных процессах их роста. Активность СДГ в фолликулах всех типов снижается в опытах с ЦЛ по сравнению с таковой в контрольной группе. В опытах с проведенным через фильтры ликвором и его надфильтратом наблюдается повышение активности СДГ в клетках стромы при сохранении высокой активности этого фермента в генеративных структурах яичника. Максимальная интенсивность реакции ЛДГ внутренней теки наблюдается в опытах с надфильтратом ликвора, а СДГ — в опытах с проведенным через фильтры ликвором. Изменения активности дегидрогеназ представлены в таблице.

Обсуждение полученных данных. Известно, что в возрасте 2 мес в яичниках свиньи впервые начинают появляться полостные фолликулы, в матке происходит дифференцировка желез, начинается ранний этап полового созревания, находящийся под непосредственным контролем ЦНС [8]. Введение ксенотенной СМЖ вызывает морфофункциональные перестройки в органах половой системы, видимые уже через 30 сут после воздействия при постановке гистохимических реакций и при использовании обзорных методов окраски. Можно полагать, что находящиеся в СМЖ БАВ оказывают влияние на синаптогенез и интенсивность ароматизации стероидов в тканях мозга, что нарушает естественное течение про-

цесса наступления половой зрелости. На возможность такой модификации нейрохимических систем мозга при различных на него воздействиях в критические периоды онтогенеза указывают и другие авторы [5]. Обращает на себя внимание то, что сложные морфологические и функциональные изменения, происходящие в яичниках, коррелируют с морфологическими изменениями в матке и маточных трубах, являющихся мишенями овариальных гормонов [1, 2]. В строме коркового вещества яичников под воздействием СМЖ наблюдается изменение активности ферментов по сравнению с таковой в контроле. При этом, наряду с фолликулами, изменяется и часть стромы, претерпевающая перестройки в процессе фолликулогенеза, отмеченные и другими исследователями [1]. Таким образом, при парентеральном введении СМЖ происходят взаимосвязанные морфофункциональные изменения в генеративных и паренхиматозных гормонпродуцирующих структурах яичников, а также в органах-мишенях половых гормонов.

Итак, введение ЦЛ вызывает перестройки стромы коркового вещества яичников, стимулируя рост многочисленных групп фолликулов, что сопровождается усилением активности ЛДГ в овоплазме и эпителиоцитах эндометрия и слизистой оболочки маточной трубы. Введение проведенного через фильтры ликвора вызывает увеличение активности СДГ в текальных эндокриноцитах, клетках стромы коркового вещества яичника и в клетках маточных желез. Введение надфильтрата ликвора вызывает увеличение активности ЛДГ в генеративных структурах яичника, эпителии матки и маточной трубы, а также в клетках

желез. Таким образом, обнаружено отчетливо выраженное воздействие ликворных препаратов на ткани органов половой системы. При этом наблюдается различный эффект от введения ЦЛ и различных его фракций, не сводимый к суммации (более сложное дифференцированное влияние).

ЛИТЕРАТУРА

1. Волкова О.В. Функциональная морфология женской репродуктивной системы. М., Медицина, 1983.
2. Волкова О.В. и Боровая Т.Г. Морфогенетические основы развития и функции яичников. М., Медицина, 1999.
3. Лилли Р. Патологическая техника и практическая гистохимия. М., Медицина, 1969.
4. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М., Изд-во иностр. лит., 1962.
5. Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д. и др. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. Черновцы, Мед-академия, 2004.
6. Ткач В.В., Кубышкин А.В., Ткач В.В. (мл.) и Жирко Д.Б. Определение тератогенных и эмбриотоксических свойств биопрепарата «Ликворин». Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Сб. науч. трудов. Крымск. мед. ун-та (Симферополь), 1998, т. 134, с. 89–95.
7. Фридман А.П. Основы ликворологии (учение о жидкости мозга). Л., Медицина, 1971.
8. Хватов Б.П. Строение и физиологические изменения половой системы самок домашних животных. Симферополь, Крымиздат, 1955.
9. Desidero D.M. Mass spectrometric analysis of neuropeptidergic system in the human pituitary and cerebrospinal fluid. J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl., 1999, v. 731, № 1, p. 3–22.
10. Murakami K., Nakagawa T., Shozu M. et al. Changes with aging of steroidal levels in the cerebrospinal fluid of women. Maturitas, 1999, v. 33, № 1, p. 71–80.

Поступила в редакцию 12.10.2005 г.
Получена после доработки 28.11.2005 г.

CYTOCHEMICAL STUDY OF DEHYDROGENASE ACTIVITY IN THE TISSUES OF PIG FEMALE GENITAL SYSTEM AFTER INJECTION OF XENOGENIC CEREBROSPINAL FLUID

Ye.Yu. Bessalova, N.P. Barsukov and V.N. Ivakhnenko

The experimental study was performed to evaluate the biological effects of parenteral injection of cerebrospinal fluid (SCF) on the uterus, uterine tubes and the ovary of piglets aged 60 days. Lactating cows aged 4–6 years after first calving were taken as SCF donors, since their SCF contained maximal spectrum of biologically active substances. For injection the whole SCF, SCF after passage through bacterial filters and SCF supernatant were used. The effect of SCF was assessed using histological and histochemical (succinate- and lactate dehydrogenases demonstration) methods. It was found that SCF preparations studied had differential effect on oxidative-reduction processes in the tissues of reproductive system organs of immature pigs, that is associated with the broad spectrum of biologically active substances in mammalian SCF.

Key words: *uterus, uterine tube, ovaries, cerebrospinal fluid, oxidative-reduction reactions.*

Department of Normal Human Anatomy, Crimean State Medical University, Simferopol, Ukraine.