

ГІСТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА КОНЦЕНТРАЦІЯ ГОРМОНІВ ТКАНИНИ ЯЄЧНИКА КОРІВ І ТЕЛИЦЬ ЗАЛЕЖНО ВІД ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ

Ю. В. Мартин, М. М. Акимішин, Р. Г. Сачко, В. Я. Віщур, Д. Д. Остапів

Інститут біології тварин НААН

Досліджували гістоморфологічні особливості й концентрацію статевих гормонів у тканині яєчників корів залежно від фізіологічного стану статевої залози. Установлено, що гістоморфологічна картина і концентрація статевих гормонів у тканині залежать від фізіологічного стану яєчника. Виявлено, що за «раннього жовтого тіла» на фоні концентрацій: підвищеної — тестостерону і прогестерону та зниженої — естрадіолу гальмується оогенез і відмирають (атрезують) фолікули — відбувається підготовка статевої залози до вагітності після запліднення. Для «пізнього жовтого тіла» характерно зменшення розміру жовтого тіла — жовте тіло статевого циклу регресує, понижуються концентрації тестостерону і прогестерону і зростає — естрадіолу — активуються процеси оогенезу. За фізіологічного стану «фолікулярного росту» у тканині статевої залози встановлено збільшення кількості антральних фолікулів і максимально висока концентрація естрадіолу — інтенсифікується фолікулогенез. Для гіпофункції яєчників характерна мала кількість вторинних фолікулів, їх атрезія, понижена концентрація статевих гормонів у тканині залози.

Макроскопічно у великої рогатої худоби яєчник — парний орган, еліпсоїдної форми з гладкою поверхнею. Краніальним кінцем яєчник повернутий до воронки яйцепроводу, а каудальним до матки. Дорзальним краєм прикріплюється до брижейки, що формує зв'язку яєчника.

Мікроскопічно яєчник у ВРХ зверху покритий поверхневим епітелієм, під яким залягає шар щільної сполучної тканини — білкова оболонка яєчника. В яєчнику розрізняють корковий шар, або фолікулярну зону і мозковий шар, або судинну зону.

Строма коркового шару утворена сполучною тканиною, де розміщені фолікули на різних етапах стадії розвитку (примордіальні, первинні, вторинні, міхурцеві та зрілі).

Розвиток примордіальних фолікулів призупинений аж до періоду статевого дозрівання. Гіпофіз починає виробляти фолікулостимулюючий гормон (ФСГ), що стимулює дозрівання 5-15 примордіальних фолікулів.

У наступній стадії формується порожнина (antrum folliculare), що містить фолікулярну рідину (liquor folliculare). Фолікулярні клітини, які відповідають за вироблення естрогену, розділяються на клітини зовнішньої (theca externa) і внутрішньої (theca interna) оболонки. В цей же час епітеліальні клітини фолікула перетворюються в гранульозні клітини, що відповідають за вироблення прогестинів. При дозріванні фолікула клітини внутрішнього шару теки виробляють андрогени, які крізь базальну мембрану проникають у гранульозні клітини фолікулярної оболонки і там трансформуються в естрогени, головним чином, естрадіол.

Утворення фолікулярної порожнини провокує швидкий ріст фолікула, який збільшується з менш ніж 1 мм до 16–20 мм безпосередньо перед овуляцією. Порожнина становить більшу частину преовуляторного (третинного) фолікула. Підвищений вміст естрогену стимулює викид лютеїнізуючого гормону (ЛГ), який безпосередньо ініціює

овуляцію. Після овуляції з фолікула (з гранульозних і тека-клітин) утворюється жовте тіло, що виробляє прогестерон.

У фолікулярній зоні, поряд з ростом фолікулів, проходить і зворотній процес, атрезія.

Строма мозкового шару утворена рихлою сполучною тканиною, де іде розгалуження судин, що проникають в яєчник зі сторони брижейки [1].

Мета досліджень — дослідити гістоструктуру і концентрацію гормонів у тканині яєчника клінічно здорової великої рогатої худоби залежно від фізіологічного стану статеві залози.

Матеріал і методи. Матеріалом для досліджень були яєчники великої рогатої худоби різних фізіологічних станів: з «раннім жовтим тілом», діаметр 10–20 мм, колір червоний або брунатний (РЖТ); з «пізнім жовтим тілом», діаметр 5–15 мм, колір жовтий (ПЖТ); «фолікулярного росту», без жовтого тіла (ФР), відібрані від корів 7–9 років та телиць 15–18-місячного віку. Крім того, відбирали статеві залози з патологією: гіпофункцією — за відсутністю статевих циклів у корів, у яєчниках - поодинокі антральні фолікули діаметром до 4 мм, тканина пружна.

Для мікроскопічних досліджень із яєчника вирізали шматочки тканини, товщиною 0,3–0,5 см. Матеріал фіксували в 10 % -му розчині нейтрального формаліну. Для проведення гістологічних досліджень матеріал заливали в парафін [2]. Гістозрізи розміром 7 мкм. вирізали на ротаційному мікротомі НМ 340Е. Для вивчення мікроскопічної структури яєчника зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. [3]. Фотографування картини гістозрізів тканини яєчника проводили за допомогою вмонтованого в мікроскоп фірми Carl Zeiss фотоапарата з фіксацією зображення програмним забезпеченням „Med.Cam”.

Для визначення концентрації гормонів яєчники промивали 0,9 % розчином натрію хлориду. З тканини статеві залози, після аспірування антральних фолікулів, готували гомогенат: подрібнювали, додавали охолоджений до 0–4 °С 0,25 М розчин сахарози (1 : 3 - вага : об'єм) і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера. Гомогенат центрифугували при 3000 об/хв, надосадову рідину відбирали і повторно центрифугували 15 хв при 12000g при 0–4 °С. Концентрації гормонів визначали імуноферментним методом з використанням „Star Fax 303 Plus”.

Результати й обговорення. Дослідженнями гістоструктури тканини яєчників фізіологічного стану «раннього жовтого тіла» виявлено, що у корковій зоні статеві залози понижена кількість антральних фолікулів (рис.1). У порожнині фолікула різне число фолікулярних клітин між якими втрачені міжклітинні зв'язки. За рахунок потовщеного шару клітин теки форма фолікула збережена.

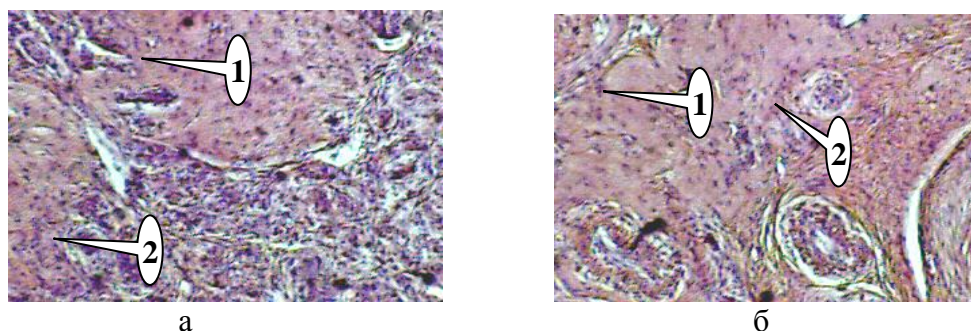


Рис. 1. Мікроструктура яєчника корів і телиць фізіологічного стану «раннього жовтого тіла»: а – телиці, б – корови; 1 - формування раннього жовтого тіла; 2 - вторинний фолікул. Гематоксилін–еозин x 100.

У корковій зоні яєчника «пізнього жовтого тіла» встановлено різну кількість вторинних фолікулів (рис. 2). Навколо фолікулів розміщені судини як артеріального, так і венозного типу, які у просвіті заповнені еритроцитами. Виявлені зміни вказують на

збільшене кровопостачання тканин яєчника і фолікулів і, відповідно, інтенсивний ріст фолікулів.

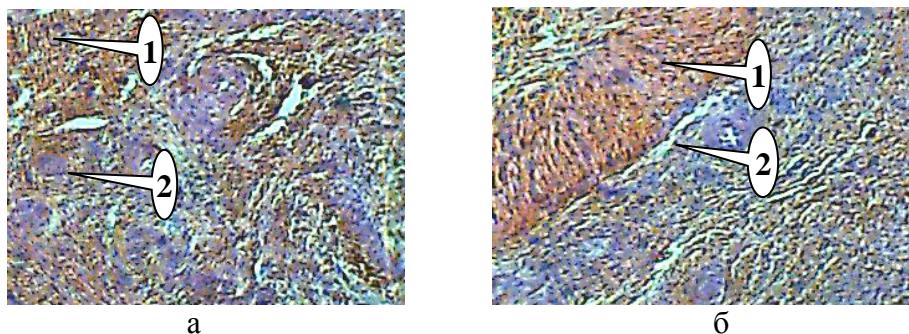


Рис. 2. Мікроструктура яєчника корів і телиць фізіологічного стану «пізнього жовтого тіла»: а – телиці, б – корови. 1 - залишки жовтого тіла; 2 - ростучі антральні фолікули. Гематоксилін – еозин x 100.

У корковій зоні статеві залози фізіологічного стану «фолікулярного росту» виявлені первинні та вторинні фолікули (рис. 3). Первинні фолікули розміщені поодинокі під білковою оболонкою, містять ооцити оточені одним-двома шарами фолікулярних клітин, вторинні фолікули з чітко обмеженими, округлими краями антральної порожнини. У антрумі є кластер клітин гранульозного шару і розміщений в ньому ооцит.

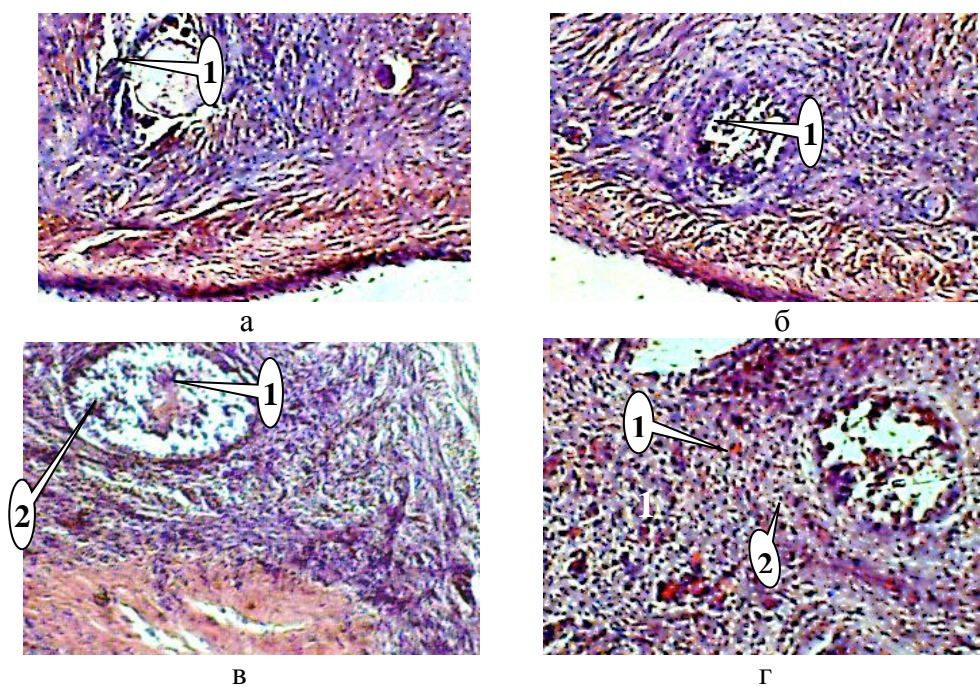


Рис. 3. Мікроструктура яєчника корів і телиць фізіологічного стану «фолікулярного росту» і «свіжої овуляції»: а, в – телиці, б, г – корови 1 - антральні фолікули з ооцитами; 2 - клітини гранульози. Гематоксилін–еозин x 100.

За гіпофункції яєчників вторинні фолікули майже не виявляються, а окремі з них атрезують у зв'язку з дистрофічними процесами, що проходять у статевих залозах (рис. 4).

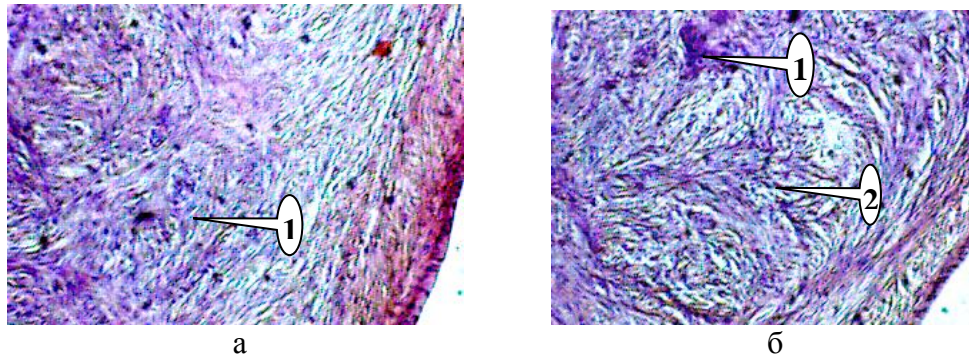


Рис. 4. Мікроструктура яєчника за гіпофункції: а – телиці, б – корови; 1 - атрезія фолікула; 2 - розростання сполучної тканини. Гематоксилін – еозин x 100.

Залежно від фізіологічного стану статеві залози змінюється концентрація статевих гормонів у тканині яєчника. Висока концентрація тестостерону встановлена у тканині яєчника «раннього жовтого тіла» ($89,7 \pm 13,17$ нг/г тканини), менша на 26,1 і 35,2 %, відповідно, за «пізнього жовтого тіла» та «фолікулярного росту» і низька ($48,0 \pm 6,84$ нг/г тканини) за «свіжої овуляції» (рис. 5). Різниця між максимальною і мінімальною величинами концентрації тестостерону в тканині статеві залози становить 46,5 % ($p < 0,05$).

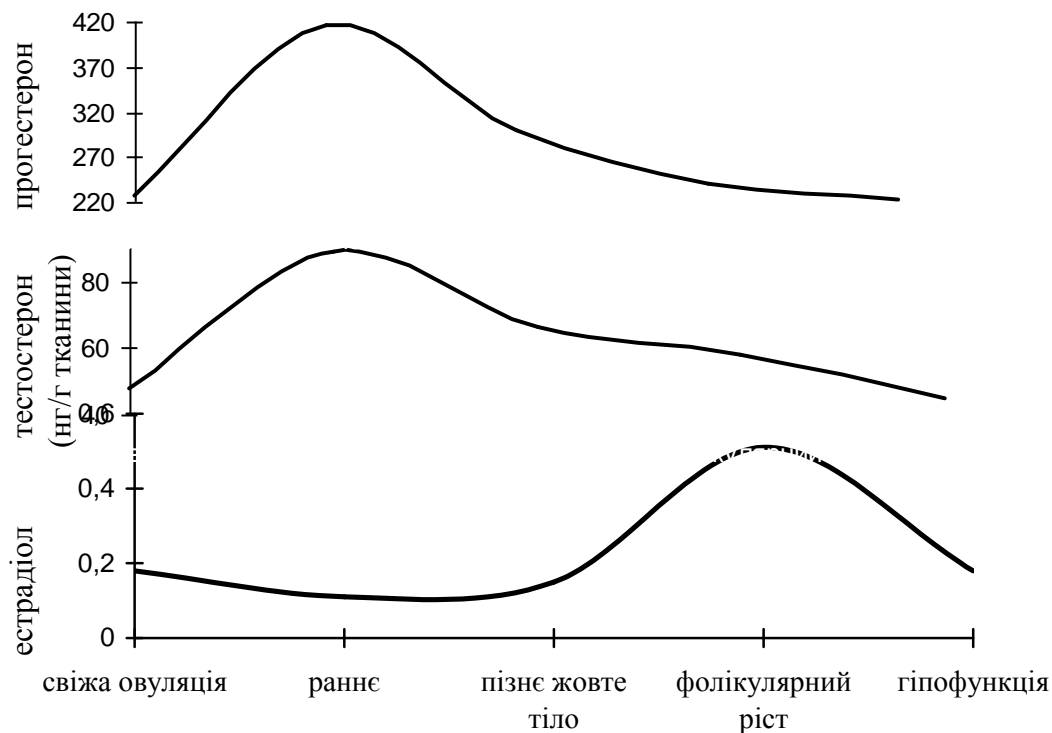


Рис. 5. Концентрація статевих гормонів у тканині яєчника корів і телиць

Ймовірно, причиною встановлених змін концентрації тестостерону є високий вміст рецепторів андрогену у тканині статеві залози за «раннього жовтого тіла» і зниження їх величини за «фолікулярного росту» [4, 5]. При цьому, висока концентрація андрогенів, в тому числі й тестостерону, без ФСГ-стимульованого біосинтезу естрогенів може викликати атрезію фолікулів [6]. Тому, встановлена гістоморфологічними дослідженнями атрезія фолікулів у яєчнику «раннього жовтого тіла», ймовірно, зумовлена високою концентрацією тестостерону.

При вивченні концентрації естрадіолу у тканині яєчника встановлено, що максимальна величина значення показника характерна для фізіологічного стану статевої залози «фолікулярного росту» ($0,51 \pm 0,09$ нг/г тканини), нижча на 64,8 % ($p < 0,01$) для «свіжої овуляції» і на 70,6 % ($p < 0,01$) для «пізнього жовтого тіла» і найменша ($0,11 \pm 0,01$ нг/г тканини; $p < 0,01$) для «раннього жовтого тіла».

Концентрація прогестерону максимально висока ($415,8 \pm 25,69$ нг/г тканини) у тканині яєчника фізіологічного стану «раннього жовтого тіла», нижча на 27,9 % ($p < 0,05$) за «пізнього жовтого тіла» і ще менша на 42,5 % ($p < 0,01$) за «фолікулярного росту» і на 45,3 % ($p < 0,001$) за «свіжої овуляції». Характерні коливання концентрацій досліджених статевих гормонів в тканині яєчників корів зумовлені їх роллю у забезпеченні росту фолікулів та дозріванні ооцитів, функціонуванні жовтого тіла і, відповідно, формуванням гістоморфологічної структури тканини статевої залози [7, 8].

Найнижчі концентрації гормонів характерні для тканини яєчника за гіпофункції: тестостерону — $45,3 \pm 12,36$, естрадіолу — $0,18 \pm 0,02$ і прогестерону — $222,9 \pm 10,68$ нг/г тканини. Різниця між концентрацією тестостерону у тканині статевих залоз за гіпофункції і досліджених фізіологічних станів — 5,7–49,5 %, естрадіолу — 64,8 % і прогестерону — 2,2–46,4 %. Причинами гіпофункції яєчників може бути зниження синтезу і інкреції гонадотропних гормонів гіпофізом або ослаблення реактивності статевих залоз до дії гонадотропінів. Своєю чергою, на фоні відсутності чи зниженої кількості ростучих фолікулів, у тканині яєчника зменшується нагромадження (синтез) статевих гормонів.

Таким чином, на основі вивчення особливостей гістоморфологічної будови та концентрації статевих гормонів у тканині яєчника корів залежно від фізіологічного стану статевої залози можна стверджувати, що за «раннього жовтого тіла» на фоні підвищеної концентрації тестостерону і прогестерону та зниженої - естрадіолу гальмується оогенез і відмирають (атрезують) фолікули — відбувається підготовка статевої залози до вагітності після запліднення; при «пізньому жовтому тілі» — жовте тіло статевого циклу регресує, понижуються концентрації тестостерону і прогестерону і зростає — естрадіолу, активуються процеси оогенезу; при «фолікулярному рості» за максимально високої концентрації естрадіолу інтенсифікується фолікулогенез. За гіпофункції статевої залози і низької кількості антральних фолікулів, частина яких атрезована, у тканині проявляється понижена концентрація статевих гормонів.

ВИСНОВКИ

1. Гістоструктура яєчників корів свідчить про послідовний перехід одного фізіологічного стану статевої залози в інший: за «раннього жовтого тіла» гальмується оогенез і відмирають (атрезують) фолікули; при «пізньому жовтому тілі» — жовте тіло статевого циклу регресує і активуються процеси оогенезу; при «фолікулярному рості» — виділення декількох більших за розміром антральних (вторинних) і домінуючого фолікулів.

2. Концентрація статевих гормонів у тканині статевої залози характеризує послідовність змін фізіологічного стану і морфологічних структур яєчника.

3. Характерною ознакою гіпофункції яєчників великої рогатої худоби є низьке число чи відсутність фолікулів, понижена концентрація статевих гормонів у тканині статевої залози.

Перспективи подальших досліджень. Дослідити особливості формування й концентрацію гормонів жовтого тіла яєчників корів.

HISTOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC AND HORMONE CONCENTRATION IN COW AND HEIFER OVARIAN TISSUES IN CONNECTION WITH PHYSIOLOGICAL STAGE

Yu. V. Martin, M. M. Akymyshyn, R. G. Sachko, V. Ya. Vishchur, D. D. Ostapiv

Institute of animal biology of NAAS

S U M M A R Y

Histomorphological characteristic and sex hormone concentration in cow ovarian tissues in connection with physiological stage of gonads were studied. It is determined that, histomorphological picture and sex hormone concentration are connected with physiological stage of ovary. It is set, that in time of “early corpora lutea” with concentrations – increased testosterone and decreased estradiol, oogenesis is inhibited and follicles die – preparation of gonad to pregnancy is ongoing, after impregnation. “Late corpora lutea” characterizes by decrease in size of corpora lutea – it regresses, testosterone and progesterone concentrations are lowering, estradiol concentration is increasing – processes of oogenesis are activating. At physiological state “follicular growth” in gonad tissue an increase of antrale follicle quantity is determined – follicle genesis is intensifying. Ovarian hypofunction characterizes by low quantity of secondary follicles, their death, low concentrations of sex hormone in gonad tissue.

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И КОНЦЕНТРАЦИЯ ГОРМОНОВ ТКАНИ ЯИЧНИКА КОРОВ И ТЕЛОК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ

Ю. В. Мартын, М. М. Акымышин, Р. Г. Сачко, В. Я. Вищур, Д. Д. Остапив

Институт биологии животных НААН

А Н Н О Т А Ц И Я

Исследовали гистоморфологические особенности и концентрацию половых гормонов в ткани яичников коров в зависимости от физиологического состояния половой железы. Установлено, что гистоморфологическая картина и концентрация половых гормонов в ткани зависят от физиологического состояния яичника. Выявлено, что при «раннем желтым теле» на фоне концентраций: повышенной — тестостерона и прогестерона и пониженной — эстрадиола тормозится оогенез и отмирают (атрезиируют) фолликулы — происходит подготовка половой железы к беременности после оплодотворения. Для «позднего желтого тела» характерно уменьшение размера желтого тела — желтое тело полового цикла регрессирует, снижаются концентрации тестостерона и прогестерона и возрастает — эстрадиола — активируются процессы оогенеза. За физиологического состояния «фолликулярного роста» в ткани половой железы установлено увеличение количества антральных фолликулов и максимально высокая концентрация эстрадиола — интенсифицируется фолликулогенез. Для гипофункции яичников характерно малое количество вторичных фолликулов, их атрезия, снижена концентрация половых гормонов в ткани железы.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бабань О. А.* Гістологічні зміни у яєчниках корів при гіпофункції / О. А. Бабань, Г. Г. Харута, І. В. Папченко // Ветеринарна медицина України. — 2009. — № 5. — С. 26–29.
2. *Вракин В. Ф.* Практикум по анатомии с основами гистологии и эмбриологии сельскохозяйственных животных / В. Ф. Вракин, М. В. Сидорова, Э. М. Давыдова // Ученики и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений — Москва: «Колос». — 1982. — С. 207.
3. *Волкова О. В.* Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волкова, Ю. К. Слецкий // Москва: Медицина. — 1982. — С. 301.
4. *Juengel J. L.* Oestrogen receptor alpha and beta, androgen receptor and progesterone receptor mRNA and protein localisation within the developing ovary and in small growing follicles of sheep / J. L. Juengel, D.A. Heath, L.D. Quirke, K.P. McNatty // *Reproduction* — 2006. — Vol. 131. P. 81–92.
5. *Hampton J. H.* Androgen receptor mRNA expression in the bovine ovary / J. H. Hampton, M. Manikkam, D. B. Lubahn, M.F. Smith // *Domest Anim. Endocrinol* — 2004. — Vol. 27. — P. 81–88.
6. *Harlow C. R.* Factors influencing follicle-stimulating hormone-responsive steroidogenesis in marmoset granulosa cells: effects of androgens and the stage of follicular maturity / C. R. Harlow, H. J. Shaw, S. G. Hillier, J. K. Hodges // *Endocrinology*. — 1988. — Vol. 122. — P. 2780–2787.
7. *Stocco C.* The Molecular Control of Corpus Luteum Formation, Function, and Regression / C. Stocco, C. Telleria, G. Gibori // *Endocrine Reviews*. — 2006. — Vol. 28 (1). — P. 117–149.
8. *Echternkamp S. E.* Ovarian follicular development in cattle selected for twin ovulations and births / S. E. Echternkamp, A. J. Roberts, D. D. Lunstra, T. Wise // *J. Anim. Sci.* — 2004. — V. 82. — P. 459–471.