

© Ю.М. Якимів, 2011

УДК 616-071+57.012.4+591.465.3+616.379-008.64

Ю.М. ЯКИМІВ

Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра анатомії людини, Івано-Франківськ

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЯЄЧНИКІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

При експериментальному цукровому діабеті спостерігаються виражені набряково-деструктивні зміни стінки всіх ланок гемомікроциркуляторного русла яєчників: звужується просвіт мікрогемосудин, відбувається вакуолізація цитоплазми і набряк мембранних органел ендотеліоцитів, спостерігаються ознаки мікроклазматозу, потовщується базальна мембрана. Це призводить до якісних та кількісних змін фолікулів та гормонотворюючих клітин. Спостерігається дисморфогенез з інкорпорацією примордіальних фолікулів у фолікулярний епітелій вторинних (третинних) фолікулів і збільшення кількості атрезивних фолікулів.

Ключові слова: цукровий діабет, яєчники, гемомікроциркуляторне русло, фолікули

Вступ. Проблеми жіночого безпліддя [1] вимагають глибоких знань особливостей будови, кровопостачання та функціонування яєчників як в нормі, так і при ендокринній патології [2, 5, 11]. Цукровий діабет називають неінфекційною епідемією XXI століття, оскільки у структурі ендокринних захворювань його частота складає понад 70,0% [4], а у розвинутих країнах світу становить в середньому 4,0-5,0% загальної популяції. За даними ВООЗ, значну частку пацієнтів з цукровим діабетом складають жінки репродуктивного віку [4, 11]. Одним із проявів цього захворювання є порушення функції яєчників, що вимагає вивчення цих змін на структурному рівні в експерименті. Це дозволяє вивчити зміни будови яєчників та їх гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР), особливо на ультраструктурному рівні при цукровому діабеті, які до сьогоднішнього дня залишаються недостатньо вивченими [7, 8, 9].

Дослідження морфофункціональних змін ГМЦР і паренхіми яєчників, як репродуктивного та ендокринного органу, при цукровому діабеті представляють великий інтерес для теоретичної і практичної медицини.

Мета дослідження. Вивчити гістоультраструктурну будову яєчників самок білих щурів лінії Wistar в нормі і загальні закономірності їх перебудови при експериментальному цукровому діабеті.

Матеріал та методи. Матеріалом дослідження були яєчники 80 дорослих щурів самок лінії Wistar, 10 з яких ввійшли до складу контрольної групи (КГ), а 70 - до експериментальної групи (ЕГ). У щурів ЕГ викликали цукровий діабет шляхом внутрішньоочеревинного введення 0,2 мл розчину стрептозоточину (з розрахунку 6 мг сухої речовини на 100 г маси тіла). Тварин у період дослідження утримували на стандартному раціоні віварію. Знеболення та умертвіння проводили згідно "Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин". Яєчники забирали в

стадії проеструсу. Кровоносне русло вивчали на просвітлених препаратах яєчників, судини яких попередньо ін'єкувалися хлороформно-ефірною сумішшю паризької синьої та шляхом імпрегнації за методом В.В. Купріянова. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, фукселін-пікрофуксином. Вивчали також півтонкі зрізи, зафарбовані метиленовим синім. Для вивчення зрізів використовували світловий мікроскоп Leica DME. Морфометрію здійснювали за допомогою програми "Bio Vision 4.01". Субмікроскопічну будову яєчників вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125К.

Результати досліджень та їх обговорення. Поверхня яєчників самок щурів вкривається одношаровим кубічним або плоским епітелієм (рис. 1, а), під яким розташовується сполучнотканинна оболонка, яка складається з колагенових волокон і з клітин фібробластичного ряду.

Паренхіма яєчників складається з мозкової і кіркової речовин. Мозкова речовина представлена густою сіткою колагенових волокон, поміж якими розгалужуються гілки яєчничової артерії і формуються притоки яєчничової вени (рис. 1, б). Кіркова речовина представлена фолікулами різного ступеня зрілості, які розташовуються ближче до поверхні яєчника, має незначну кількість сполучнотканинних елементів: колагенові та еластичні волокна, посеред яких виявляються поодинокі фіброласти, фіброцити, гістіоцити і макрофаги.

Серед фолікулів нараховується 10-12 примордіальних, 1-2 атрезивних, 2-3 дозріваючих в полі зору. По центру цих фолікулів розміщуються статеві клітини. У примордіальних фолікулах це, як правило, овогонії діаметром $10,33 \pm 2,18$ мкм, а в дозріваючих і зрілих фолікулах – овоцити I порядку, які мають діаметр відповідно $21,50 \pm 3,73$ і $29,92 \pm 1,72$ мкм. Більшу частину цитоплазми статевих клітин займає ядро, яке виповнюється дрібнозернистим хроматином.

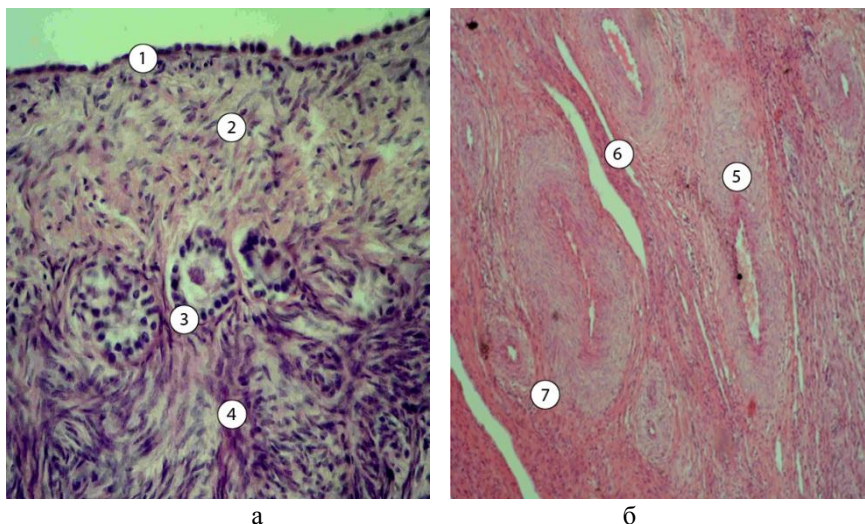


Рис. 1. Гістоструктура кіркової (а) і мозкової (б) речовин яєчника самки щура в нормі.
1 – поверхневий зародковий епітелій, 2 – поверхневий шар паренхіми яєчника, 3 – примордіальні фолікули, 4 – сполучнотканинний каркас паренхіми яєчника, 5 – артерія великого діаметру, 6 – вена, 7 – дрібна артерія.

Забарвлення: гематоксиліном та еозином. Зб.: ок. x 7, об. x 8.

Статеві клітини примордіальних фолікулів оточуються 1 рядом, а у дозріваючих – 3-6 рядами фолікулярного епітелію, які розташовуються на базальній мембрані. У зрілих фолікулах між фолі-

кулоцитами утворюється порожнина, заповнена рідиною (рис. 2, а). Незначна частка примордіальних фолікулів гине, перетворюючись в атрезивні фолікули (рис. 2, б).

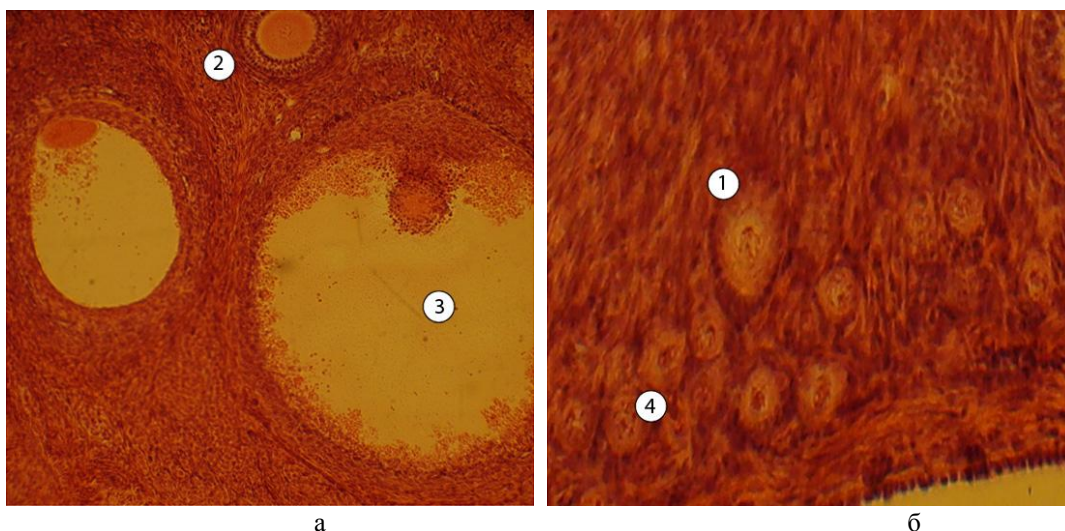


Рис. 2. Гістологічна будова фолікулів в товщі паренхіми (а) і в поверхневому шарі (б) кіркової речовини яєчника самки-щура в нормі.

1 – примордіальний (первинний) фолікул, 2 – дозріваючий (третинний) фолікул, 3 – зрілий (пухирчастий) фолікул, 4 – атрезивний фолікул.

Забарвлення: гематоксиліном та еозином. Зб.: ок. x 7, об. 40.

У вторинних фолікулах діаметр овоцитів збільшується вдвічі (рис. 3). Збільшення розмірів ядер зумовлено зростанням об'єму каріоплазми. Збільшуються за розмірами гранули хроматину. Ядерця мають ретикулярну будову, або формується одне компактне утворення. В третинних фолікулах в ядрі овоцита ядерце і ядерна мембрана зникають. У цих овоцитах пластинчастий комплекс Гольджі, електроннощільні гранули та міто-

хондрії розташовуються в периферійній зоні цитоплазми. Мітохондрії мають овальну форму, впорядковані кристи. Гранулярна ендоплазматична сітка (ГЕС) складається із численних цистерн з рибосомами на їх поверхні.

Із збільшенням розмірів фолікула фолікулоцити стають кубічними, пізніше - призматичними. Вони також містять округлої форми ядро, іноді з 1-2 глибокими інвагінаціями. В біляядерній зоні

розташовуються мембранні цитоплазматичні органели: мітохондрії, ГЕС та пластинчастий комплекс Гольджі. Мітохондрії мають невеликі розміри, помірний електроннощільний матрикс та чітко орієнтовані кристи. ГЕС утворена набором великої кількості цистерн, на зовнішній поверхні яких розміщуються рибосоми. Комплекс Гольджі утворений скупченням сплюснених каналців і невеликих мішечків. Внутрішній шар фолікуло-

цитів навколо статевої клітини у вторинних (третинних) фолікулах утворює променистий вінець, а між цитоломою статевих клітин і внутрішньою поверхнею фолікулоцитів виявляється блискуча оболонка (рис. 4). При ЕМ дослідженні помітно, що через її товщу проходять цитоплазматичні відростки фолікулярних клітин, які контактують з цитоломою статевої клітини, через які здійснюється їх живлення [3].

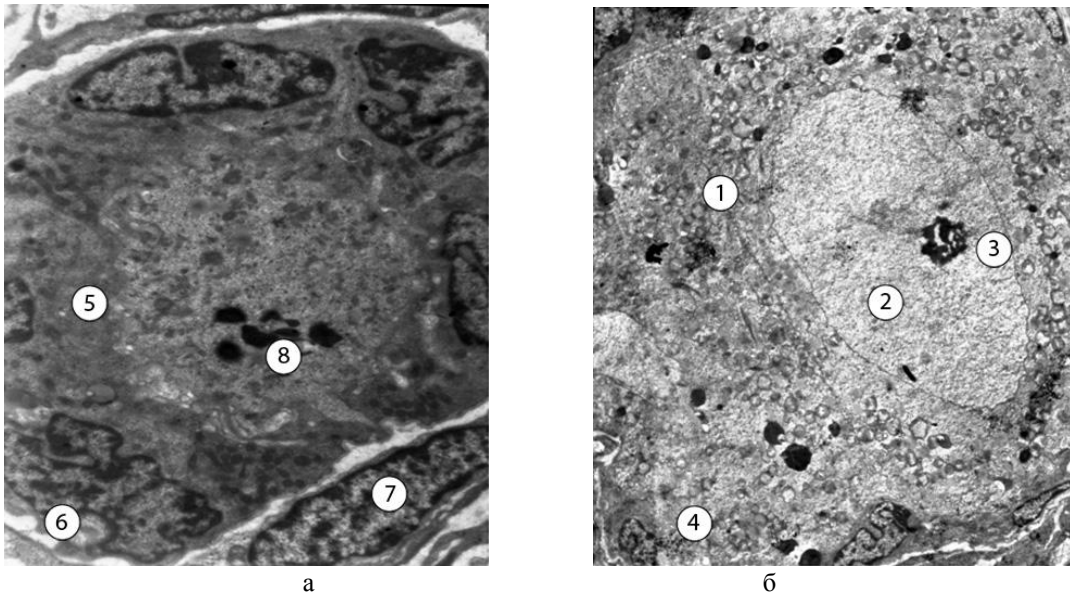


Рис. 3. Ультраструктурна організація примордіального (а) і вторинного (б) фолікулів яєчника самки щура в нормі.

1 – овоцит, 2 – ядро овоцита, 3 – ядерце, 4 – ядро фолікулоцита, 5 – цитоплазма фолікулоцита, 6 – базальна мембрана, 7 – ядро текоцита, 8 – ліпідні гранули. Зб.: а x 5000, б x 4000.

Зовні від базальної мембрани розташовується велика кількість кровоносних капілярів вісцерального типу. Навколо них концентруються ендокриноцити округлої форми, з великим ядром, в їх цитоплазмі знаходиться добре розвинена гладка ендоплазматична сітка і велика кількість гранул середньої електроннооптичної щільності. Шар цих клітин утворює внутрішню частину theca interna. Зовнішній шар оболонки фолікула (theca externa) утворений щільною сполучною тканиною багатою на клітинні елементи.

У переважній більшості капіляри паренхіми яєчників відносяться до соматичного типу і тільки капіляри внутрішньої теки належать до вісцерального типу (рис. 5). Капіляри соматичного типу характеризуються щільними міжендотеліальними контактами типу *macula* або *zonula*

occludens, суцільною тришаровою базальною мембраною, наявністю в її розшаруваннях перичитів. Будова стінки капілярів вісцерального типу має свої особливості: між ендотеліцитами відсутні щільні контакти, а в самих ендотеліоцитах

існують наскрізні або сліпі трансцелюлярні утворення – фенестри і пори; базальна мембрана має локальні витончення і перфорації; відсутні перичити. Подібний характер організації кровоносного русла яєчників описується деякими авторами в інших тварин і людини [7, 8, 9].

Для атрезивних фолікулів характерною є деградація базальної мембрани, фолікулоцитів і статевих клітин. На ранніх стадіях розвитку ЕСЦД (перші 2 тижні) відмічаються артеріоли з потовщеними стінками за рахунок їх плазматичного просякання. Просвіт прекапілярів і капілярів звужується через набряк їх стінки.

Венулярна частина ГМЦР розширюється, а просвіт посткапілярів і венул заповнюється клітинними агрегатами. Внутрішньоклітинні мембранні органели ендотеліоцитів (мітохондрії, цистерни ГЕС, каналці комплексу Гольджі) є набряклими і частково зруйнованими. Базальна мембрана локально втрачає свою правильну тришарову будову, приймає нерівномірний контур.

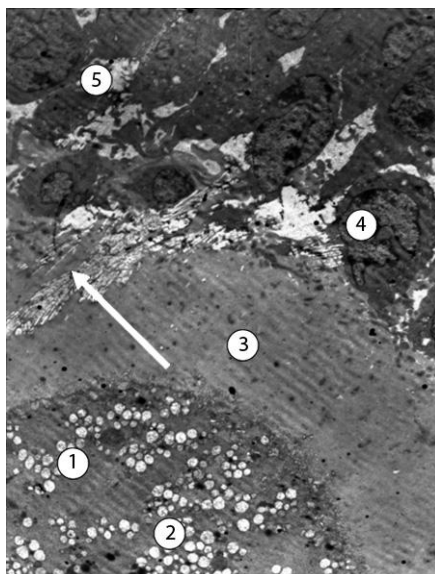


Рис. 4. Ультраструктурна організація третинного фолікула яєчника самки шура в нормі. Стрілкою показана ділянка цитоплазматичних відростків фолікулоцитів в зоні овоцито-фолікулярного контакту. 1 – цитоплазма овоцита, 2 – зона клітинних органел, 3 – прозора зона, 4 – ядро фолікулоцита, 5 – цитоплазма фолікулоцита. Зб.: x 5000.

У яйцеклітинах яєчників на цей термін особливих змін не відмічається, але відбуваються ультраструктурні зміни фолікулярних епітеліоцитів: підвищується електроннооптична щільність цитоплазми, змінюється конфігурація ядра, хроматин збивається в грудки, просвітлюється матрикс мітохо-

ндрій, руйнуються окремі кристи, розширюються цистерни ГЕС, на їх поверхні зменшується кількість рибосом. Такі ж зміни спостерігаються і в ендокриноцитах внутрішньої теки. В цілому в полі зору досліджуваних яєчників зменшується кількість дозріваючих фолікулів.

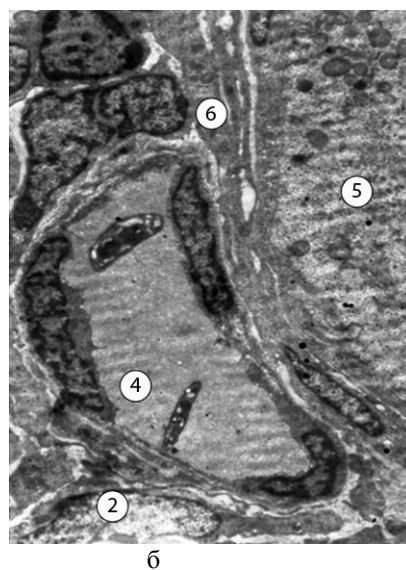
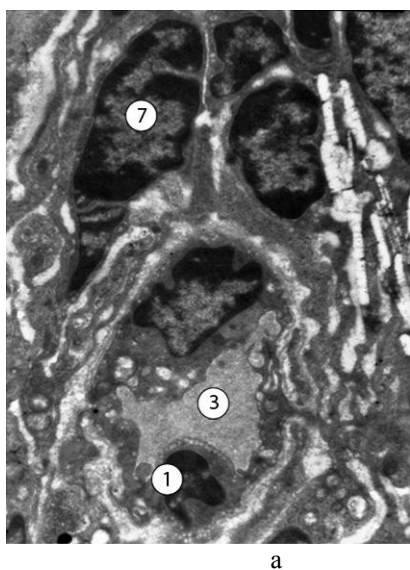


Рис. 5. Ультраструктура соматичного (а) та вісцерального (б) гемокапілярів яєчника в нормі. 1 – ядра ендотеліоцитів, 2 – ядро перицита, 3 – просвіт капіляра, 4 – тромбоцит, 5 – овоцит, 6 – фолікулоцит, 7 – ендокриноцит. Зб.: а x 4000, б x 6000.

Через 4 тижні відбуваються виражені зміни ГМЦР яєчників. Вони носять набряково-деструктивний характер. Спостерігається набряк і вакуолізація цитоплазми ендотеліоцитів. На люменальній поверхні їх цитолемі спостерігаються явища мікроклазматозу. Цитоплазма ендотеліоцитів має низьку електронно-оптичну щільність, в

ній виявляються вакуолі великих розмірів. Матрикс мітохондрій і цистерн ГЕС набуває низької осміюфільності. Кристи мітохондрій, мембрани ГЕС і складові частини комплексу Гольджі фрагментуються або повністю руйнуються. На поверхні цистерн ГЕС зменшується кількість рибосом. Базальна мембрана нерівномірно потовщується,

цитоплазма перичитів має низьку електронно-оптичну щільність і знижену кількість внутрішньоклітинних органел.

Ультраструктурні зміни, які відбуваються в клітинних компонентах фолікулів характерні для апоптозу [3] і є причиною їх кількісної зміни: зменшення в полі зору частки примордіальних і дозріваючих фолікулів на фоні збільшення числа атрезивних і при повній відсутності зрілих фолікулів (рис. 6).

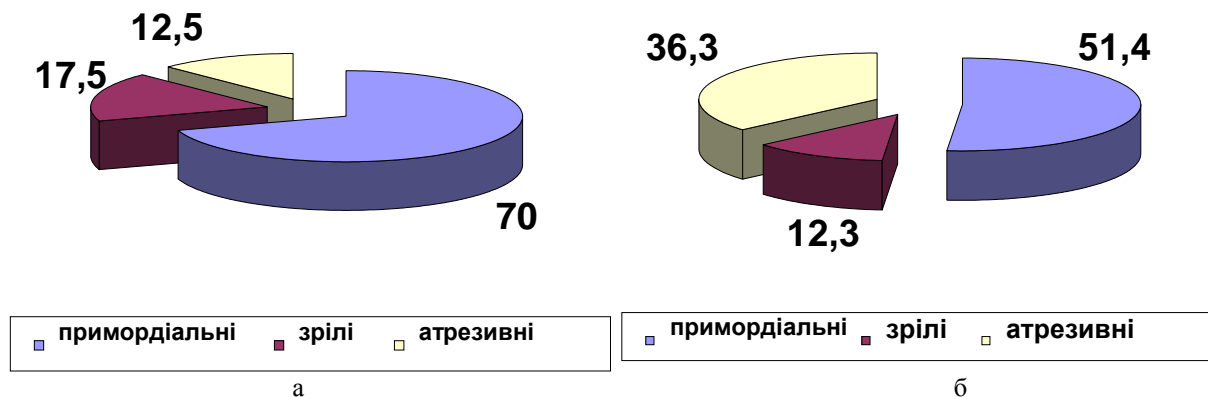


Рис. 6. Гістограма розподілу фолікулів (у відсотках) в паренхімі яєчників контролю (а) і через 4 тижні розвитку стрепозоцинового цукрового діабету (б).

У кірковій речовині спостерігається значна кількість атрезивних фолікулів, високий ступінь варіабельності їх розмірів. Морфологія атрезивних фолікулів при цьому не відрізняється від описаної вище, характерної для випадків, коли атрезія не була такою масовою.

При цьому фолікули різних розмірів можуть розміщуватися поряд. Нерідко вони розташовуються дифузно, відділяючись один від одного товстими прошарками сполучної тканини. Іноді в таких випадках виявляються вогнища кальцифікації.

Через 8 тижнів відмічені виразні порушення у всіх ланках ГМЦР. Просвіти значної кількості гемокапілярів заповнюються еритроцитарними складками. Люменальна поверхня ендотеліоцитів утворює значну кількість дрібних мікроростів, що свідчить про підвищення мікроклазматозу, що є результатом підвищення текучості плазмолеми [10]. Ядра ендотеліальних клітин неправильної форми, утворюють значну кількість випинань та інвагінацій. Цитоплазма ендотеліоцитів містить вакуолізовані мітохондрії. В ній мало рибосом, полісом, піноцитозних пухирців. Більшість ендотеліоцитів мають лізовану цитоплазму, ділянки якої десквамовані в просвіт судини. Між ендотеліоцитні контакти дезорганізовані, інколи виявляються ділянки базальної мембрани, не прикриті цитоплазмою ендотеліоцита. Базальна мембрана нерівномірно потовщена, нечітка, розшарована, містить електроннощільні депозити. Розшаровані частини базальної мембрани гемокапілярів перебувають в прямому контакті із колагеновими во-

Через 6 тижнів в гемокапілярах спостерігається часткова десквамація ендотеліоцитів, що проявляється активацією клітинного шляху зсідання крові, тому в просвіті мікросудин виявляються тромбо- і лейкоцитарні агрегати та еритроцитарні складки, що є причиною порушення мікроциркуляції крові [4]. Набуває нерівномірної товщини і втрачає тришарову будову базальної мембрани.

Така морфологічна перебудова ГМЦР свідчить про розвиток діабетичної капіляропатії [1, 9] і є причиною деструктивних і дистрофічно-склеротичних змін паренхіми яєчників.

У кірковій речовині яєчників самок щурів знижується число примордіальних фолікулів і збільшується кількість атрезивних фолікулів. При цьому в кірковій речовині різко зростає маса фіброзної тканини.

В окремих випадках ми спостерігали, що поверхня яєчника мала виражені "нерівності". Вони виявлялися наявністю виростів кіркової речовини у вигляді сосочків заввишки 70-150 мкм, що іноді мали тонку ніжку, або численними вростаннями поверхневого епітелію, що виявлялося наявністю "смужок" з таких клітин, які заходять на більшу або меншу глибину у кіркову речовину.

Висновки. В нормі яєчники самок щурів мають характерну для інших ссавців будову паренхіми та гемомікроциркуляторного русла. У всі терміни розвитку ЕСЦД спостерігаються суттєві морфологічні зміни в ланках гемомікроциркуляторного русла яєчників, що проявляються ознаками артеріоло- та капіляропатії, і є причиною якісних змін паренхіми яєчників й порушення співвідношення між числом фолікулів на різних стадіях дозрівання.

Перспективи подальших розробок. У подальшому доцільно провести дослідження біохімічних показників сорбітолового шляху обміну глюкози, що дозволить поглибити знання про механізм розвитку діабетичної оваріопатії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко В. В. Реактивно-деструктивные и репаративные процессы овариальной железы млекопитающих в норме и при изменении гомеостаза в системе репродукции / В. В. Бондаренко // Проблемы репродукции. — 2006. — № 4. — С. 26—37.
2. Волкова О. В. Морфогенетические основы развития и функции яичников / О. В. Волкова, Т. Г. Боровая. — М. : Медицина, 1999. — 253 с.
3. Дубровина С. О. Апоптоз в яичниках / С. О. Дубровина // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2006. — Т. 6, № 3. — С. 33—37.
4. Лещенко О. Я. Сахарный диабет и репродуктивная система девочек-подростков / О. Я. Лещенко // Лечащий врач. — 2004. — № 6. — С. 23—25.
5. Линде В. А. Фолликулогенез: от примордиальной зародышевой клетки до белого тела (обзор литературы) / В. А. Линде, А. В. Иванов // Проблемы репродукции. — 2007. — Т. 13, № 4. — С. 21—25.
6. Силина Т. Н. Характеристика структурних компонентів яєчника у віковому аспекті / Т. Н. Силина // Вісник Сумського держ. ун-ту. — 2004. — Т. 66, № 7. — С. 24—28.
7. Структурные основы генеративной и эндокринной функций яичников в норме и патологии / [Ковальский Г. Б., Китаев Э. М., Рыжавский Б. Я., Мельникова Л. М.]. — СПб, 1996. — 208 с.
8. Топка Э. Г. Морфологические особенности внутриорганный артериального русла яичников / Э. Г. Топка, Е. А. Кушнарева, А. А. Кушнарев // Вісник морфології. — 2003. — Т. 9, № 2. — С. 285—286.
9. Ультраструктура ланок гемомікроциркуляторного русла в нормі та за умов експериментального цукрового діабету / Ю. Я. Кривко, Л. Р. Матешук-Вацеба, З. З. Масна [та ін.] // Вісник морфології. — 2010. — Т. 16, № 2. — С. 397—400.
10. Brusilovskiy A. I. New philosophy in histotechnology / A. I. Brusilovskiy // Surgical pathology and research. — 2007. — № 5. — P. 78—86.
11. Ecochard R. Side of ovulation and cycle characteristics in normally fertile women / R. Ecochard, A. Gougeon // Hum. Reprod. — 2000. — Vol. 15. — P. 752—755.

Y.M. YAKYMIV

Ivano-Frankivsk National Medical University, department of human anatomy, Ivano-Frankivsk

MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF OVARIES IN NORMAL STATE AND IN THE VARIOUS STAGE OF DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL STREPTOZOTOCIN SUGAR DIABETES

In was observed in the various stage of development in an experiment of streptozotocin sugar diabetes that swelling and destructive changes in all channel of hemomicrocirculatory flow took place. This resulted that in quality and quantitative changes of follicles of different degree of maturity and hormonreproduktive cells of ovaries parenchyma.

Key words: sugar diabetes, ovarium, microcirculatory flow, follicles

Стаття надійшла до редакції: 3.05.2011 р.