

сы ветеринарной биологии, 2009, 3, 28-30
9. Thomson J, Friendship R. Intestinal torsion and hemorrhagic bowel syndromes: in Diseases of swine (edited by JJ Zimmerman et al) - 10th edition. - Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012, 214-215

10. Кудряшов А.А., Балабанова В.И., Иванов Ю.В., Мусин А.Р. Эрозивно-язвенный уроцистит у поросят группы откорма. - Актуальные вопросы ветеринарной биологии, 2017, 4, 31-34

УДК: 612.66:57.082.2

АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭПИТЕЛИЯ ЭНДОМЕТРИЯ КРЫС В РАЗНЫЕ СТАДИИ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

Пец П. А., Скопичев В.Г.— ФГБОУ ВО СПбГАВМ

Ключевые слова: цервикальная слизь, бесплодие, половой цикл, цитоскелет, микроворсинки. **Key words:** cervical mucus, infertility, sexual cycle, cytoskeleton, microvilli.

РЕФЕРАТ

Цель работы – оценка функционального состояния эпителия эндометрия млекопитающих в разные стадии полового цикла. Для этого проводили сканирующую электронную микроскопию и оценивали состояние цитоскелета эндометрия белых крыс на различных стадиях полового цикла. Первоначально у них устанавливали стадию полового цикла при помощи вагинальной цитологии, а затем часть из них использовалась для изготовления препаратов для сканирующей электронной микроскопии и окраски на цитоскелет. Были получены следующие выводы:

В диэструсе, наблюдается типичная атрофия клеток эндометрия. Ко времени проэструса картина резко меняется увеличивается площадь поверхности эндометрия, за счет формирования многочисленных складок. При этом видно большое количество микроворсинок. В метэструсе, несмотря на выпячивание эндометрия, микроворсинки уже не определяются. Все эти данные согласуются с изменением функциональных особенностей репродуктивного тракта во время эстрального цикла.

ВВЕДЕНИЕ

Одними из наиболее актуальных вопросов физиологии репродуктивной системы млекопитающих всегда оставались вопросы бесплодия. Ведь конечной целью, как в промышленном животноводстве, так и в разведении мелких домашних животных, является получение потомства от наиболее ценных производителей, что важно не только с точки зрения экономической целесообразности, но и племенной работы [2, 4].

Одной из ключевых точек в процессе профилактики бесплодия является успешное оплодотворение, в котором

принимает участие цервикальная слизь. Это один из наиболее важных естественных барьеров, включенных в систему защиты мочеполовой системы [1].

По данной теме было проведено достаточно большое количество научных исследований как отечественными, так и зарубежными учеными [5,6,7].

Согласно литературным данным, на различных стадиях полового цикла существенно меняется структурно-функциональная организация эндометрия, который непосредственно контактирует с половыми продуктами в ходе оплодотворения. Характерной деталью

реакции эпителия эндометрия является существенное изменение рельефа клеточной поверхности [1,7].

В работе, посвященной морфологическим и функциональным нейроиммунным взаимодействиям в матке крыс, автор приходит к выводу, что раздражение влагалищных рецепторов приводит к значительным изменениям в количестве нейтрофилов и лимфоцитов в цервикальной слизи эндометрия матки [3].

Все эти исследования лишь подтверждают большое значение состояния цервикальной слизи для успешного оплодотворения. При этом ключевой фактор, влияющий на ее морфофункциональные особенности – это гормональный статус животного.

Сканирующая электронная микроскопия (SEM) используется для исследования морфологии поверхности просвета матки при различных стадиях эстрального цикла у разных видов животных [5,7].

Цель нашей работы – оценка функционального состояния эпителия эндометрия млекопитающих в разные стадии полового цикла. Для этого была поставлена задача – проведение сканирующей электронной микроскопии и оценка состояния цитоскелета эндометрия белых крыс на различных стадиях полового цикла. Цель решалась при помощи сканирующей электронной микроскопии и выявления цитоскелета по методу Ченцова и соавторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на взрослых самках белых крыс. Это были нелинейные животные, с массой в пределах 250 – 300г. Для исследования каждой стадии полового цикла было отобрано по 5 крыс.

После того, как устанавливали стадию полового цикла подопытных животных, методом вагинальной цитологии, часть из них была декапитирована и использовалась для изготовления препаратов для сканирующей электронной микроскопии и окраски на цитоскелет.

Сканирующая электронная микроскопия. Приготовление препаратов для ска-

нирующей электронной микроскопии происходило в условиях, при которых не допускалась деформация клеточной поверхности. После дегидратации в ряду спиртов возрастающей концентрации образцы освобождали от зажима и переносили в изоамилацетат. Дальнейшее высушивание проводили в аппарате НСР-2 НІТАСНІ переходом критической точки углекислоты. Препарат напыляли золотом в ионном напылителе и рассматривали на сканирующем электронном микроскопе Н-300 НІТАСНІ.

Окрашивание на цитоскелет. Схема обработки клетки включает в себя: стабилизацию клеточного скелета, лизис мембран, фиксацию клеток и их окраску для световой микроскопии. Лизирующая смесь – раствор, содержащий 0,05 М фосфатного буфера, 1М хлорида магния, 1мМ ЭГТА- (этиленгликоль-бис/2-аминоэтил эфир) – NN-тетраацетат, 4М глицерина, 1% тритон X-100. Для фиксации использовались: глутаровый альдегид (2,5% раствор на 0,1М фосфатном буфере рН 7.2), 4% нейтральный формалин, смесь Ценкера с формалином, 70% этанол. Окраска клеток проводилась железным гематоксилином по Карачи.

Использованная схема: Процедуру проводили в мелких чашках Петри. Препараты ополаскивали свежей средой или 0,1 М фосфатным буфером затем отсасывали среду фильтровальной бумагой и стекла переносились в мелкую чашку Петри со смесью А на 20 мин при комнатной температуре (сходные результаты получали при использовании смеси Б и В). Затем стекла с клетками вверх, переносили на 10-20 мин в раствор глутарового альдегида (можно использовать 4% формальдегид).

После фиксации стекла помещали в 70% спирт (в спирте стекла могут храниться долгое время). Перед окраской стекла промывались в дистиллированной воде.

При окрашивании стекла помещали на 10 минут в 2,5% раствор железных квасцов при 75°C, затем споласкивали в дистиллированной воде и помещали на 10

минут при 75°C в раствор гематоксилина Гейденгайна. После этого следовала промывка в проточной воде, обезживание в спиртах и заключение в бальзам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты сканирующей электронной микроскопии и анализ цитоскелета эпителия эндометрия крысы.

В диэструсе при отсутствии влияния половых гормонов наблюдается типичная атрофия эпителиальных клеток эндометрия (Рис. 1).

Обращенная в просвет плазматическая мембрана сглажена-апикальные участки практически не выступают, отмечаются лишь небольшие выпуклости и углубления. В некоторых местах можно заметить устья протоков желез. В этот период отмечается интенсивный выход в полость матки многочисленных лейкоцитов и лимфоцитов.

В проэструсе: слизистая оболочка матки принимает характерные для гипертрофии признаки (Рис. 2).

За счет пролиферативных процессов и физиологического набухания клеток происходит значительное увеличение поверхности эпителия и образование многочисленных складок. Куполообразные апикальные зоны клеток выступают в просвет матки. Поверхность клеток эпителия дополнительно увеличивается посредством формирования многочисленных микроворсинок, их диаметр приблизительно 0,01-0,02 мкм, длина равна 1,4 - 4 мкм.

В метэструсе: куполообразные выпуклости апикальных участков мембраны клетки еще сохранены, однако произошла почти полная редукция микроворсинок. Складки эпителия в период действия прогестерона отсутствуют, а на поверхности эндометрия видны многочисленные выходы протоков маточных желез. Очень характерно увеличение секреторной активности - в большинстве случаев клетки скрыты слоями слизистого секрета, а на их апикальной мембране проследиваются инвагинации двойственные процессам экзо и эндоцитоза.

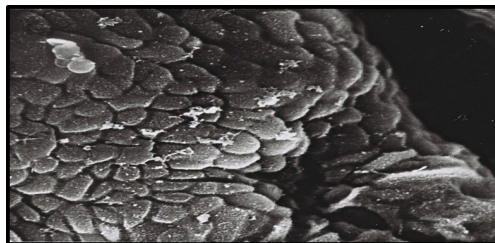


Рис. 1 - Рельеф апикальной поверхности эпителиоцитов, выстилающих полость рога матки крыс в диэструсе.

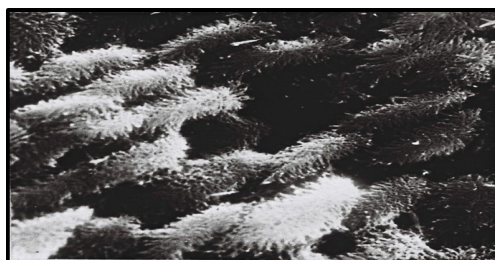


Рис. 2 - Рельеф апикальной поверхности эпителиоцитов, выстилающих полость рога матки крыс в проэструсе.

ВЫВОДЫ

Из полученных экспериментальных данных можно сделать следующие выводы:

В диэструсе, при отсутствии влияния половых гормонов наблюдается типичная атрофия клеток эндометрия. К моменту наступления проэструса картина резко меняется, происходит увеличение площади поверхности эпителия, за счет формирования многочисленных складок. Клетки снабжены микроворсинками. В метэструсе куполообразные выпячивания клеточной поверхности сохранены, однако микроворсинок уже нет.

Полученные данные четко согласуются с изменением функции органа во время эстрального цикла.

Analysis of functional changes in the endometrial epithelium of rats at different stages of the sexual cycle.
Pec P.A., Skopichev V.G.

ABSTRACT

The aim of this work is to estimate the functional state of the epithelium of the mammalian endometrium at different stages of the sexual cycle. For this purpose was used the scanning electron microscopy and the state of the endometrial cytoskeleton of white rats was evaluated at different stages of the sexual cycle. Firstly, the stage of the sexual cycle was established by using the method of vaginal cytology, and then some of the samples were used to make preparations for scanning electron microscopy and coloration on the cytoskeleton cycle. The number of animals used to study each stage of the sexual cycle was 5.

In diestrus, typical atrophy of endometrial cells is observed. During this period, was recorded the intensive output of white blood cells and lymphocytes into the uterine cavity. By the time of the proestrus, the picture changes sharply, the surface of the endometrium increases, due to the formation of full folds. In this case, a large number of microvilli is seen. In metestrus, despite the protrusion of the endometrium, the microvilli do not exert any more. The folds of the epithelium are absent during the period of action of the progesterone, and numerous ducts of the uterine glands are visible on the surface of the endometrium. All these data are consistent with a change in the functional characteristics of the reproductive tract during the estrous cycle.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончар А.О., Исследование цервикальной слизи высокопроизводительных голштинских коров // Научный вестник

Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого – 2014 – Т.16 №3 – С. 64-65.

2. Иванова Р.Д., Савицкий Г.А., Скопичева В.И. Особенности рельефа апикальной клеточной поверхности эпителиоцитов эндометрия женщин, страдающих бесплодием // Цитология – 1991 - Т.33 №1 – С. 3-4.

3. Кучерявых Л.Е. Морфологические и функциональные нейроиммунные взаимодействия в матке крыс. // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. – 2000 – С. 151-152.

4. Орлов М.М., Промина Ф.И., Савченко О.Н. Анализ специфического связывания Н-эстрадиола маткой андрогенстерильных крыс биохимическим и автордиографическим методам // Проблемы эндокринологии. – 1983 - Т.29 №3 – С. 3-4.

5. Garris D.R., Scanning electron microscopic and morphometric analysis of the guinea pig uterine luminal surface: cyclic and ovarian steroid-induced modifications // The Anatomical Record – 1998 - №252 – P. 205–214.

6. Hunter R.H.F., Vital aspects of fallopian tube physiology in pigs// Reproduction of domestic animals – 2002 - №37 – P. 186–190.

7. Van Cruchten S., Van den Broeck W., Simoens P., Lauwers H. Scanning electron microscopic changes of the canine uterine luminal surface during oestrus and late met-oestrus // Reproduction of domestic animals – 2002 - №37 – P. 121–126.

По заявкам ветспециалистов, граждан, юридических лиц проводим консультации, семинары по организационно-правовым вопросам, касающихся содержательного и текстуального анализа нормативных правовых актов по ветеринарии, практики их использования в отношении планирования, организации, проведения, ветеринарных мероприятий при заразных и незаразных болезнях животных и птиц. Консультации и семинары могут быть проведены на базе Санкт-Петербургской академии ветеринарной медицины или с выездом специалистов в любой субъект России.

Тел/факс (812) 365-69-35, Моб. тел.: 8(911) 176-81-53, 8(911) 913-85-49,
e-mail: 3656935@gmail.com