

УДК 611.651:611-013.85-089.843

Б.І. Шенгітько, Б.В. Шенгітько, В.М. Калашнік  
ВДНЗ України „Українська медична стоматологічна академія” м.Полтава

### РЕАКЦІЯ СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ЯЄЧНИКА НА ОДНОРАЗОВУ ПІДШКІРНУ ТРАНСПЛАНТАЦІЮ ПЛАЦЕНТИ

Встановлено що в ранні терміни (2-14 діб) орган активно реагує на трансплантацію кріоконсервованої плаценти, яка виражається у фізіологічній стимуляції строми яєчника, збільшенні кількості фолікулів і клітин воріт яєчника. Орган упродовж усіх термінів спостереження знаходиться в стані функціональної нестабільності, тільки на 60 діб після дії, його показники досягають контрольного рівня.

**Ключові слова:** яєчник, трансплантація плаценти, морфологія, експеримент.

*Робота є фрагментом НДР ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» «Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфологічний стан ряду внутрішніх органів», номер держреєстрації 0108U001572.*

Одною з актуальних проблем медицини, є проблема трансплантації органів, тканин і клітин та вивчення ефективності їх використання в медицині. В цій проблемі окреме місце займає трансплантація тканин і клітин, як альтернатива трансплантації органів. На сьогоднішній час фетальні і плацентарні тканини активно застосовуються при різних патологічних процесах у випадку неефективності стандартних методів лікування [2, 3, 5, 6]. Як показують попередні експериментальні дослідження, трансплантація фетальних тканин робить виражений стимулюючий вплив на різні органи і системи, що пояснюється наявністю в її тканині великої кількості фетальних білків, факторів росту, цитокінів, інтерлейкінів [4, 8].

Яєчник, по даним літератури, виконує функцію утворення дозрілих жіночих половых клітин (овогенез), та ендокринну (синтез половых гормонів) [1, 7]. В той же час в літературі відсутні дані про вплив введеної нативною і кріоконсервованою плаценти на структурні елементи яєчника.

**Метою** роботи було вивчення реакції тканин яєчника на одноразову підшкірну трансплантацію кріоконсервованого фрагмента аlogenної плаценти.

**Матеріал та методи дослідження.** Експеримент проведено на статевозрілих кролях-самцях породи „Шиншила” в кількості 35 тварин, вагою 3,5 – 4,0 кг. Групі тварин (n=20) проводилась трансплантація кріоконсервованої плаценти (ТКП) по методу, розробленому в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків). Контролем служили яєчники інтактних тварин (n=5), та тварин (n=5) яким проводився розріз шкіри, без трансплантації. У терміни 2, 7, 14, 30, 60 діб після трансплантації тварин піддавали евтаназії. Для гістологічного дослідження шматочки яєчника фіксували в 10% розчині формаліну, целлоїдин-парафінові зрізи, товщиною 5-7 мкм офарблювали гематоксиліном и еозином.

**Результати дослідження та їх обговорення.** На гістологічних препаратах, пофарбованих гематоксилін-еозином, у всіх групах дослідження добре визначається структура яєчника, який складається з коркової і мозкової речовини. В інтактній групі тварин поверхня коркової речовини покрита одношаровим кубічним епітелієм. Сполучнотканинна основа коркової речовини (строма), складається з фібробластів і міжклітинної речовини. У зоні прилеглої до епітелію кількісний зміст ядер зменшується, відповідно збільшується міжклітинна речовина зі слабкою васкуляризацією (білкова оболонка). На зрізах визначається велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини, тяжі еластичних волокон проходять у різних напрямках.

По всьому полю зору визначається велика кількість первинних (примордіальних) фолікулів, останні складаються з овоциту першого порядку, який оточений одним шаром сплющеного фолікулярного епітелію. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна. У вторинних фолікулах стінка представлена 2-4 шарами клітин, які оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину. Навколо яйцеклітини у фолікулі маються кубічні клітини з великим ядром і цитоплазмою, що забезпечують живлення яйцеклітини. Виявляються третинні фолікули. Вони розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини, а також овоцити. Корковий шар над цими фолікулами стоншений.

Мозкова речовина невелика в порівнянні з корковою, її сполучнотканинна основа представлена еластичними і колагеновими волокнами, між якими розташовуються клітини воріт яєчника, спіральні артерії та велика кількість венозних судин. На гістологічних зрізах групи тварин (контроль з розрізом) також добре визначається структура коркової і мозкової речовини яєчника, які, у всіх термінах спостереження, істотно не відрізняються від контрольної групи. Коркова речовина покрита одношаровим кубічним епітелієм. У білковій оболонці кількісний зміст ядер зменшується, відповідно збільшується міжклітинна речовина зі слабкою васкуляризацією. Сполучнотканинна основа, що складається з фібробластів і міжклітинної речовини незначно стовщена. На зрізах визначається більша кількість ядер, стосовно міжклітинної речовини, а також фрагментація еластичних і колагенових волокон.

По всьому полю зору визначається велика кількість первинних, вторинних і третинних фолікулів. Виявляються атретичні фолікули. Ядра овоцитів великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна. Третинні фолікули розташовуються в межах яєчника. В деяких з них спостерігається розрив оболонки і вихід овоцита. Кірковий шар над цими фолікулами стоншений. В мозковій речовині звертає на себе увагу більш виражена звивистість спіральних артерій. Кількість клітин воріт яєчника була майже без змін. Строма мозкової речовини має розшаровані та фрагментовані волокна і фіброцити.

У групі тварин, на 2-у добу, після трансплантації кріоконсервованої плаценти поверхня коркової речовини покрита одношаровим кубічним епітелієм. У зоні, що прилягає до епітелію кількісний зміст ядер зменшується. На зрізах визначається велика кількість ядер фіброblastів, фіброцитів, а також розшаровані та фрагментовані еластичні волокна. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних, вторинних і третинних фолікулів. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені, що говорить про активізацію процесів. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна. Стінка вторинних фолікулів декілька стовщена за рахунок клітин (3-5 рядів), що оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину.

Третинні фолікули розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини. Мозкова речовина невелика, її сполучнотканинна основа представлена еластичними і колагеновими волокнами, між якими розташовуються клітини воріт яєчника, кількість яких більше чим у групі контролю та групі з розрізом. Виявляються звивисті спіральні артерії і вени. Таким чином, на другу добу можна констатувати, що в органі відбуваються процеси як відповідь на вплив. Вони більш виражені в порівнянні з інтактною групою та групою з розрізом.

Через 7 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти істотних відмінностей, при порівнянні з 2-ю добою, у структурних елементах яєчника не виявлено. Коркова и мозкова речовина добре диференціюється, в них спостерігається розволокнення та фрагментація строми, яка представлена еластичними та колагеновими волокнами, фіброblastами та фіброцитами. Кількість фолікулів збільшується в порівнянні з попереднім терміном. Виявляються дозрілі, та різної стадії зрілості фолікули, жовте тіло, атретичні фолікули. В мозковій речовині відмічається збільшення клітин воріт яєчника. Тенденція, виявлена нами для попереднього строку спостереження, відмічається і для 7 доби.

Через 14 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти істотних розбіжностей у гістологічній картині не виявлено. В корковій речовині виявляється велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних фолікулів. Ядра овоцитів першого порядку великі і світлі, нитки хроматину тонкі і дисперсні, ядерця добре виражені. Цитоплазма бліда, у ній знаходяться жовткові зерна. У вторинних фолікулах стінка представлена 3-5 шарами клітин, які оточують порожнину з фолікулярною рідиною.

Виявляються третинні (графові) фолікули, кількість яких більше чим в контролі і попередніх термінах дослідження. Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена дефрагментованими еластичними волокнами, між якими розташовуються клітини воріт яєчника, кількість яких більше чим у попередніх термінах дослідження, звивисті спіральні артерії і вени. Звертає на себе увагу посилення процесів овогенезу у яєчнику тварин з трансплантацією кріоконсервованої плаценти.

Через 30 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти на препаратах спостерігається аналогічні, попереднім термінам дослідження, зміни в стромі коркової і мозкової речовини. Крім того відмічається збільшення кількості вторинних і третинних фолікулів, овуляція.

Через 60 діб після трансплантації кріоконсервованої плаценти поверхня коркової речовини яєчника покрита одношаровим кубічним епітелієм. Строма складається з фіброblastів і міжклітинної речовини. На зрізах визначається велика кількість ядер, відносно міжклітинної речовини, тяжі еластичних волокон проходять у різних напрямках, фрагментація та розволокнення одиничні в полі зору. По всьому полю зору визначається велика кількість первинних фолікулів, останні складаються з овоциту першого порядку, оточеного одним шаром сплющеного фолікулярного епітелію. У вторинних фолікулах стінка представлена 2-4 шарами клітин, які оточують порожнину, заповнену фолікулярною рідиною, а також яйцеклітину.

Виявляються третинні, фолікули. Вони розташовуються в межах яєчника. У цих фолікулах визначаються кубічні і циліндричні фолікулярні клітини, а також овоцит. Кірковий шар над цими фолікулами стоншений. Сполучнотканинна основа мозкової речовини представлена еластичними і колагеновими волокнами. Між волокнами розташовуються клітини воріт яєчника, спіральні артерії і вени. Розглядаючи отримані результати, з погляду можливих ушкоджень і проявів репаративної чи фізіологічної регенерації [3, 6], при трансплантації фрагментів кріоконсервованої плаценти, та дії екзогенного подразника (розріз) [7, 9, 10], виявлено, що у групі тварин (контроль з розрізом), протягом усього терміну спостереження, тканина яєчника не відрізняється від контролю.

При трансплантації кріоконсервованої плаценти в ранній термін спостереження (до 14 доби) виявлена виражена реакція структурних елементів яєчника, але у виді збільшення кількості фолікулів, та незначної функціональної стимуляції строми. Це свідчить, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з активізацією фізіологічної регенерації. У пізній термін дослідження (60 діб) у яєчнику переважають більш „спокійні” фізіологічні процеси.

**Исследования**

Проведене дослідження показало, що в ранні терміни (2-14 днів) яєчник активно реагує на трансплантацію криоконсервованої плаценти, що виражається в фізіологічній стимуляції стромы, збільшенні кількості фолікулів і клітин воріт яєчника. Орган протягом усіх термінів спостереження знаходиться в стані функціональної нестабільності. До 60 доби після впливу, його показники досягають контрольного рівня. Більш віддалена за терміном реакція в відповідь на трансплантацію криоконсервованої плаценти пов'язана очевидно з впливом глибоких низьких температур і частковим руйнуванням зсередини і зовні клітинних структур.

*Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. упровадження, та клінічна апробація результатів дослідження; перспективним являється оцінка морфофункціонального стану інших органів і систем організму при алотрансплантації криоконсервованої плаценти, зокрема тимусу, серця, легень, підшлункової залози і інших.*

**Литература**

1. Быков В. Л. Частная гистология человека (краткий обзорный курс) / В. Л. Быков. – С.-Пб.: СОТИС, 1999. – 300 с.
2. Грищенко В.И. Фундаментальные и прикладные исследования в области криобиологии и криомедицины и перспективы основных направлений отрасли / В.И. Грищенко // Пробл. криобиологии. – 1993. – № 4. – С. 3-6.
3. Грищенко В. И. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения / В. И. Грищенко, А. Н. Гольцев // Пробл. криобиологии. – 2002. – № 1. – С. 54-85.
4. Низкотемпературное хранение эмбриональных и фетоплацентарных тканей в Украинском банке биологических объектов / Грищенко В. И., Юрченко Т. Н., Прокопюк О. С. [и др.] // Международный медицинский журнал. – 1999. – Т. 5, № 5. – С. 113-115.
5. Репин В. С. Трансплантация клеток: новые реальности в медицине / Репин В. С. // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1998. – Т. 126. – Прилож. 1. – С. 14-28.
6. Хлыстова З.С. Закономерности превращения тканей в условиях их трансплантации / З. С. Хлыстова // Бюлл. экспер. биол. и мед. – 1994. – Т. 117. – № 4. – С. 341-349.
7. Хэм А. Гистология / Хэм А., Кормак Д.; [пер. с англ.] – М.: Мир, 1983. – Т.2. – 254 с.
8. Шепітько В. І. Морфологічні аспекти механізму дії нативних і криоконсервованих трансплантатів плаценти в експерименті / Шепітько В. І., Козлова В. П., Юрченко Т. М. // Трансплантологія. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 294-295.
9. Dowell R. T. Maternal homodynamic and uteroplacental blood flow throughout gestation in conscious rats / Dowell R. T., Kauer C. D. // Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 1997. – V. 19, № 9. – P. 613-625.
10. Feldmann K.A., Pittelkow M.R., Roche P.C., Kumar R., Grande J.P. Expression of an immediate early gene, IEX-1, in human tissues // Histochem. Cell. Biol. – 2001. – V. 115, № 6. – P. 489-497.

**Обсуждение**

**РЕАКЦИЯ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ЯИЧНИКА НА ОДНОРАЗОВУЮ ПОДКОЖНУЮ ТРАНСПЛАНТАЦИЮ ПЛАЦЕНТЫ**

**Шепітько В.И., Шепітько К.В., Калашник В.М.**

В эксперименте на 25 половозрелых кроликах-самках производилась гетеротопическая трансплантация криоконсервированной плаценты. На 2, 7, 14, 30, 60 сутки животных подвергали эвтаназии. В ранние сроки (2-14 суток) орган активно реагирует на трансплантацию криоконсервованной плаценты, что выражается в физиологической стимуляции стромы яєчника, увеличении количества фолликулов и клеток ворота тимуса. Орган на протяжении всех сроков наблюдения находится в состоянии функциональной нестабильности, только на 60 сутки после воздействия, его показатели достигают контрольного уровня.

Ключевые слова: яєчник, трансплантация плаценты, морфология, эксперимент.

Стаття надійшла 24.02.2011 р.

**REACTION OF OVARY'S STRUCTURAL ELEMENTS ON NON-PERMANENT HYPODERMIC TRANSPLANTATION OF PLACENTA**

**Shepitko V.I., Shepitko K.V., Kalashnik V.M.**

In an experiment on sex-mature rabbit-females in an amount 25, heterotopic transplantation of cryopreserved placenta was produced. On 2, 7, 14, 30, a 60 day animals was subjected by eutanasia. It is set, that in early terms (2-14 days) an organ actively reacts on cryopreserved placenta transplantation, which is expressed in physiological stimulation of ovary's stroma, increase of amount of follicles and hillus cells. An organ during all terms of supervision is in a state of functional instability, only on a 60 days after influence, its indexes arrive at a control level.

Key words: ovary, transplantation of placenta, morphology, experiment.