

УДК 577.2(045)

## ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА СВИНЦА НА СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЯИЧНИКОВ САМОК БЕЛЫХ КРЫС В ПЕРИОД ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

Дуденкова Н.А., Шубина О.С.

*ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт им. М.Е. Евсевьева», Саранск, Россия, e-mail: mgpi@moris.ru*

С помощью гистологических и морфометрических методов исследования изучали влияние ацетата свинца на яичники самок белых крыс в период постнатального онтогенеза. Исследования проводили с помощью цифрового микроскопа Axio Imager.M2 с программным обеспечением для анализа изображений AxioVision SE64 Rel. 4.8.3 и ZEN 2011. Статистическая обработка цифровых данных проводилась с помощью программ FStat и Excel. Проверка статистических гипотез осуществлялась по t-критерию Стьюдента. Установлено, что воздействие ацетата свинца приводит к угнетению фолликулогенеза за счет уменьшения количества примордиальных, первичных, вторичных, третичных фолликулов и желтых тел, при одновременном увеличении количества атретических фолликулов в корковом веществе яичника. Установлено, что атрезии чаще подвергались вторичные фолликулы. Мозговое вещество содержит более **крупные сосуды, что свидетельствует об усилении кровоснабжения яичников.**

Ключевые слова: яичники, однослойный эпителий, белочная оболочка, мозговое вещество яичника, корковое вещество яичника, фолликулярный аппарат, менструальное желтое тело, ацетат свинца.

## EFFECT OF LEAD ACETATE ON THE STRUCTURAL CHANGES OF THE OVARIES OF FEMALE WHITE RATS DURING POSTNATAL ONTOGENESIS

Dudenkova N.A., Shubina O.S.

*Mordovian State Pedagogical Institute named after M.E. Evsevjev, Saransk, Russia, e-mail: mgpi@moris.ru*

Using histological and morphometric methods, we studied the effect of lead acetate on the ovaries of female white rats during postnatal ontogenesis. Studies were performed using a digital microscope Axio Imager.M2 software for image analysis AxioVision SE64 Rel. 4.8.3 and ZEN 2011. Statistical processing of digital data was performed using FStat and Excel. Testing statistical hypotheses was carried out by t-criterion of Student. It is established that the effect of lead acetate results in suppression of follicle Genesis by reducing the number of primordial, primary, secondary, tertiary follicles and yellow bodies, while increasing the number atretic follicles in the cortical substance of the ovary. It is established that the atresia often subjected to a secondary follicles. The medulla contains larger blood vessels, which indicates an increase of blood supply to the ovaries.

Keywords: ovaries, a single layer of epithelium, protein shell, the medulla of the ovary, the cortical substance of the ovary, follicular apparatus, menstrual yellow body, lead acetate.

Ухудшающаяся экологическая ситуация в настоящее время является одним из главных факторов нарушения женской репродуктивной функции [3, с. 28]. Среди наиболее опасного антропогенного загрязнения окружающей среды лидирующие позиции занимает свинец и его соединения [1, с. 19; 2, с. 29], экзогенное воздействие которого на репродуктивную систему организма является важным аспектом в прогнозировании и предупреждении патологии беременности и родов [4, с. 12].

Однако практически отсутствуют данные о влиянии ацетата свинца на женскую репродуктивную систему, и в частности на яичники.

**Целью работы** явилось изучение влияния ацетата свинца на структурные изменения яичников самок белых крыс в период постнатального онтогенеза.

## Материал и методы исследования

В качестве биологического тест-объекта в работе использовали самок белых беспородных половозрелых крыс в возрасте 2 месяцев, массой 200–250 г. Всего использовано 50 самок белых крыс.

Выбор белых крыс для проведения исследования обусловлен тем, что они обладают сходными с человеком строением женских половых желез, а также протеканием процесса фолликулогенеза.

Эксперимент проводился в течение года в помещении при температуре воздуха 22–25 °С и относительной влажности 67–70 %. Животные находились на общем режиме вивария, имели свободный доступ к корму и воде.

В соответствии с поставленными задачами животные разбивались на две группы. Контрольную группу животных составили крысы, содержащиеся на общем режиме вивария. Опытную группу составили животные, получавшие в течение 7 дней перорально ацетат свинца  $Pb(CH_3COO)_2 \times 3H_2O$  в среднетоксической дозе – 45 мг/кг/сутки (в пересчете на свинец).

Животные забивались путем декапитации под наркозом эфира с хлороформом (1:1) с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Для более точного исследования яичников самок белых крыс забивали в стадию диэструса, которая характеризуется как стадия активности желтого тела [5, с. 8].

Материалом исследования служили яичники половозрелых самок белых крыс. Для гистологического исследования образцы тканей половых желез фиксировали в 10 %-ном растворе нейтрального формалина. Зафиксированные образцы после промывки в проточной воде подвергали обезвоживанию путем помещения исследуемого материала в спирты возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Готовили гистологические поперечные срезы семенных желез толщиной 10–15 мкм, окрашивали их гематоксилин-эозином. Образцы тканей исследовали с помощью цифрового микроскопа Axio Imager.M2 (ZEISS, Япония) с программным обеспечением для анализа изображений AxioVision SE 64Rel. 4.8.3 и ZEN 2011.

При обзорной микроскопии проводили морфологический анализ структурных тканевых компонентов яичников, после чего изучали морфометрические параметры: толщину однослойного эпителия, покрывающего яичник, а также белочной оболочки; площадь поперечного среза яичника; площадь и толщину коркового и мозгового вещества яичника; количество разных типов фолликулов и желтых тел в корковом веществе яичника.

Морфометрические измерения яичников производили при увеличении 5×10, 20×10 и 100×10. Фотосъемку препаратов производили при помощи цифровой камеры AxioCam MRc5 (ZEISS, Япония). Разрешение полученных изображений – 1300×1030 пикселей.

Статистическая обработка цифровых данных проводилась с помощью программ FStat и Excel. Проверка статистических гипотез осуществлялась по t-критерию Стьюдента. Математическая обработка результатов морфометрических исследований проводилась с использованием метода корреляционного анализа по Пирсону с расчетом коэффициента корреляции. Все наблюдаемые различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Проведенные гистологические и морфометрические исследования позволили выявить состояние основных структур яичников белых крыс – фолликулов, желтых тел, а также сосудов, как в контроле, так и в опыте.

В результате проведенных исследований показано, что в контроле клетки однослойного эпителия, покрывающего яичник снаружи, кубической формы. Белочная оболочка имеет однородную структуру и слабо васкуляризирована (рис. 1А). Хорошо различимы корковый и мозговой слои яичника (рис. 2А).

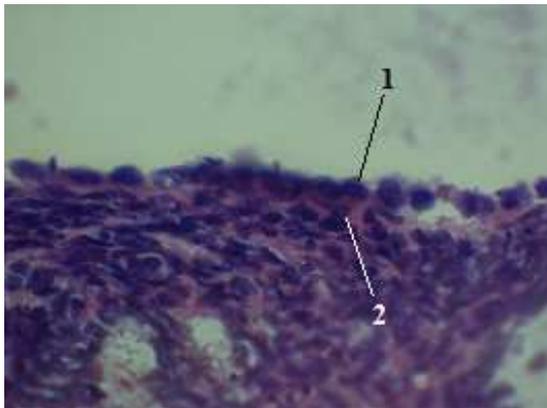
После 7 дней перорального воздействия ацетата свинца клетки однослойного эпителия, покрывающего яичник снаружи, имеют удлиненную форму. Белочная оболочка уплотнена (рис. 1Б). Отмечается увеличение объема мозгового вещества яичника по отношению к корковому (рис. 2Б).

Гистологические исследования показали, что в контроле в корковом веществе яичника фолликулы находятся на разных стадиях развития вплоть до зрелых граафовых пузырьков (третичных фолликулов). Примордиальные фолликулы располагаются непосредственно под белочной оболочкой яичника в виде компактных групп, лишь изредка встречаются одиночные примордиальные фолликулы. Местами наблюдаются атретические фолликулы (рис. 3А). Между фолликулами располагается соединительнотканная строма яичника, клетки которой имеют веретенообразную форму.

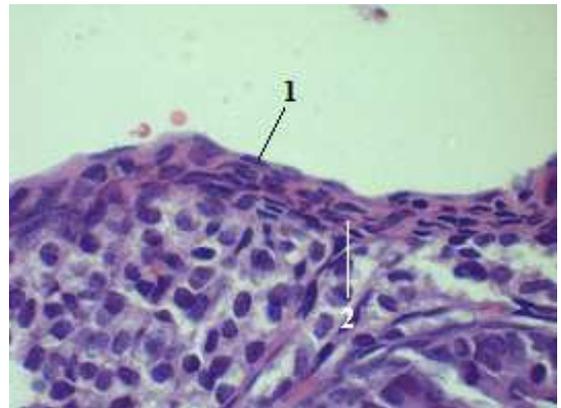
Желтые тела располагаются равномерно, покрыты соединительнотканной капсулой, от которой к центру направляются тонкие прослойки, содержащие кровеносные и лимфатические сосуды. Обнаруженные желтые тела имеют округлую или овальную форму, большинство из них находятся в стадии образования или зрелости (рис. 4А).

После 7 дней перорального воздействия ацетата свинца в корковом веществе яичника примордиальные фолликулы располагаются преимущественно одиночно (рис. 3Б). Обращает на себя внимание высокое содержание атретических фолликулов. Атретизии чаще подвергались вторичные растущие фолликулы, реже третичные фолликулы (рис. 5). Среди

более зрелых форм фолликулов были выявлены фолликулы овальной и неправильной формы. Обнаруженные желтые тела имеют неправильную форму (рис. 4Б).

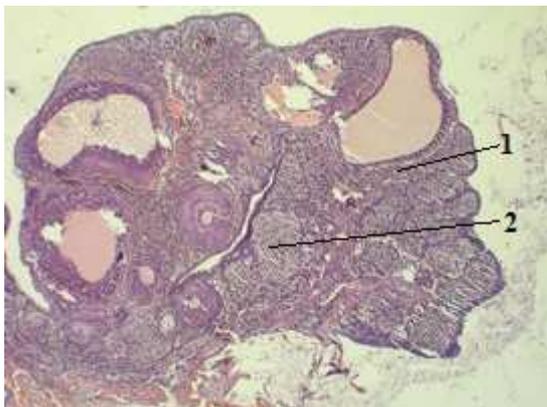


**А**

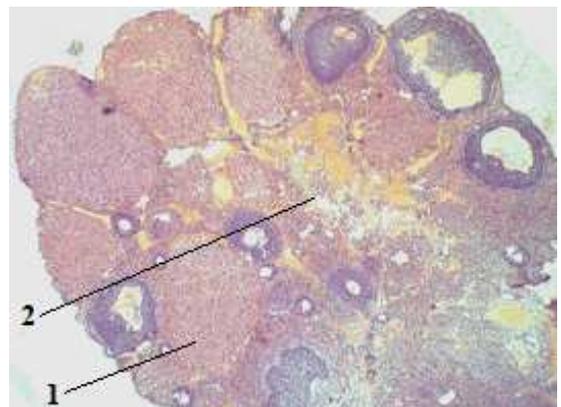


**Б**

Рис. 1. Поверхность яичника. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 100×10: А – контроль; Б – опыт; 1 – однослойный эпителий; 2 – белочная оболочка

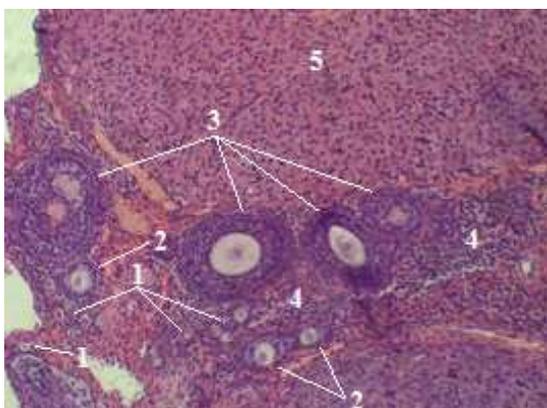


**А**

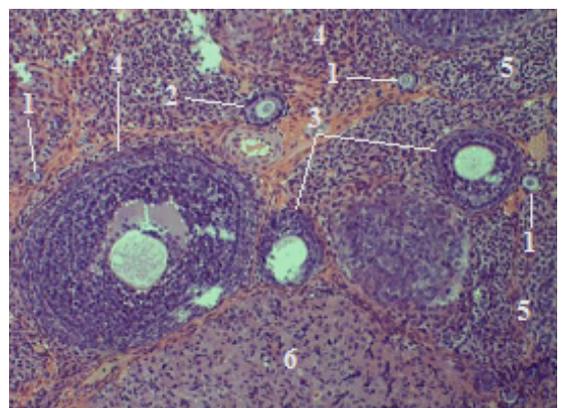


**Б**

Рис. 2. Поперечный срез яичника (опыт). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 5×10: А – контроль; Б – опыт; 1 – корковое вещество; 2 – мозговое вещество

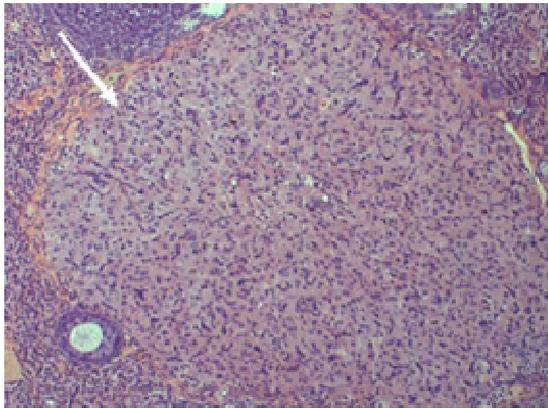


**А**

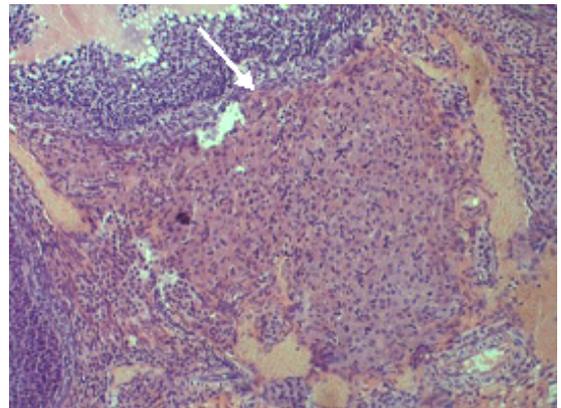


**Б**

Рис. 3. Кортикальное вещество яичника. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 20×10: А – контроль; Б – опыт; 1 – примордиальные фолликулы; 2 – первичные фолликулы; 3 – вторичные фолликулы; 4 – соединительнотканная основа; 5 – желтое тело



А



Б

Рис. 4. Менструальное жёлтое тело яичника. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 20×10: А – контроль; Б – опыт

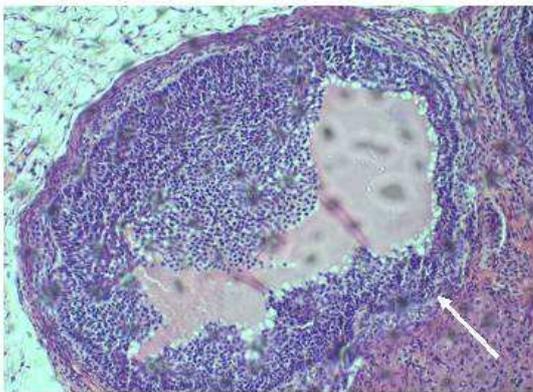


Рис. 5. Атретический фолликул (опыт). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 20×10

В ходе проведенных исследований выявлено, что в контроле мозговое вещество яичника невелико по сравнению с корковым, хорошо васкуляризировано, о чем свидетельствует наличие мелких кровеносных сосудов. Соединительнотканная основа мозгового вещества яичника не упорядочена (рис. 6А).

После 7 дней перорального воздействия ацетата свинца обнаружено, что мозговое вещество содержит более крупные сосуды, чем в контроле, что свидетельствует об усилении кровоснабжения яичника (рис. 6Б).

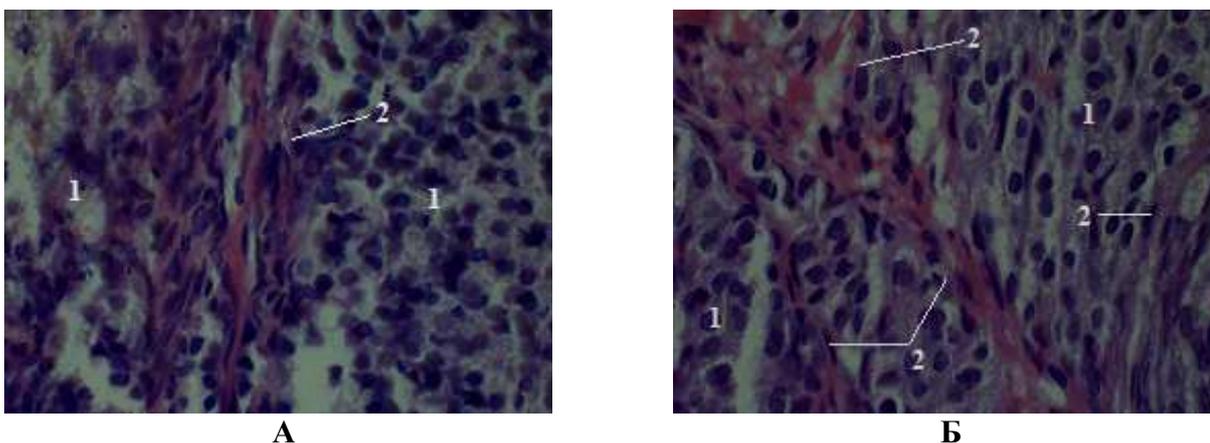


Рис. 6. Мозговое вещество яичника (опыт). Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 100×10: А – контроль; Б – опыт; 1 – соединительная основа; 2 – кровеносные сосуды

Проведенные морфометрические исследования показали, что в опытной группе животных, по сравнению с контролем, происходит уменьшение толщины однослойного эпителия, толщины белочной оболочки, толщины и площади коркового вещества яичника соответственно на 35,55 % ( $p \leq 0,05$ ), 13,88 % ( $p \leq 0,05$ ), 12,04 % ( $p \leq 0,05$ ) и 6,18 % ( $p \leq 0,001$ ), в то же время наблюдалось увеличение площади поперечного среза яичника, площади и толщины его мозгового вещества соответственно на 2,85 % ( $p \leq 0,001$ ), 30,03% ( $p \leq 0,001$ ) и 19,01% ( $p \leq 0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1

#### Макроскопические показатели яичников самок белых крыс

Показатели	Контроль	Опыт
Толщина однослойного эпителия, мкм	10,07±0,48	6,49±0,24*
Толщина белочной оболочки яичника, мкм	19,67±0,38	16,94±0,39*
Площадь поперечного среза яичника, ×10 <sup>3</sup> мкм <sup>2</sup>	9586,76±25,50	9868,51±28,27**
Площадь коркового вещества яичника, ×10 <sup>3</sup> мкм <sup>2</sup>	6912,15±23,79	6484,89±22,63**
Толщина коркового вещества яичника, мкм	1538,98±18,73	1353,73±21,07*
Площадь мозгового вещества яичника, ×10 <sup>3</sup> мкм <sup>2</sup>	2176,05±24,84	3110,23±22,63**
Толщина мозгового вещества яичника, мкм	799,43±3,79	987,09±5,92*

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольными животными;

\*\* –  $p \leq 0,001$  по сравнению с контрольными животными.

Количественный анализ фолликулярного аппарата яичников показал, что в опытной группе животных, по сравнению с контролем, происходит снижение численности примордиальных, первичных, вторичных, третичных фолликулов и желтых тел соответственно на 15,12 % ( $p \leq 0,05$ ), 18,73 % ( $p \leq 0,05$ ), 44,32 % ( $p \leq 0,05$ ), 49,43 % ( $p \leq 0,05$ ) и 45,30 % ( $p \leq 0,05$ ). В то же время наблюдалось увеличение количества атретических фолликулов на 66,23 % (табл. 2, рис. 7).

**Количественные показатели структурных компонентов коркового вещества яичников самок белых крыс**

<b>Структурные компоненты коркового вещества яичников</b>	<b>Контроль</b>	<b>Опыт</b>
Примордиальные фолликулы	17,72±1,31	15,04±0,78*
Первичные фолликулы	13,88±1,09	11,28±1,07*
Вторичные фолликулы	10,92±0,98	6,08±0,68*
Третичные фолликулы	7,04±0,77	3,56±0,63*
Атретические фолликулы	2,08±0,78	6,16±0,16*
Желтые тела	4,68±0,68	2,56±0,62*

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  по сравнению с контрольными животными.

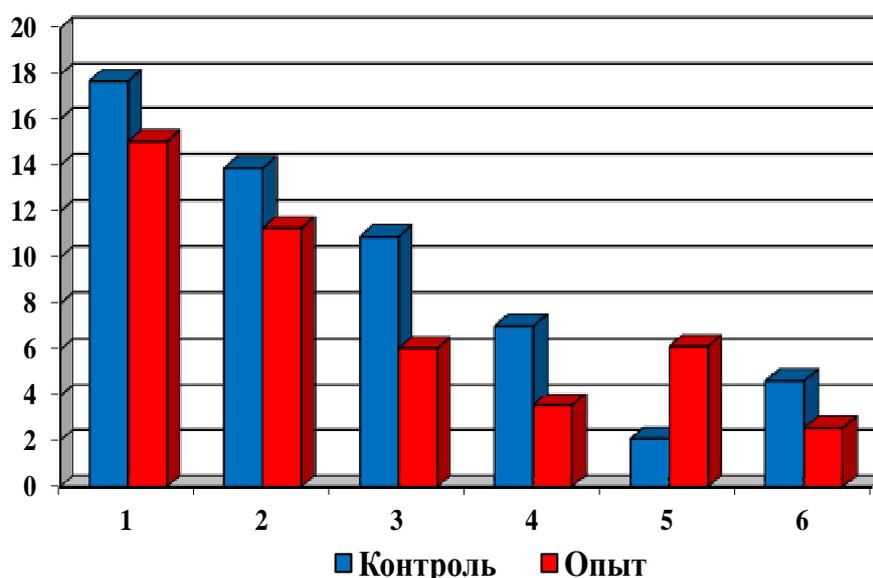


Рис. 7. Количественные показатели структурных компонентов коркового вещества яичников самок белых крыс: 1 – примордиальные фолликулы; 2 – первичные фолликулы; 3 – вторичные фолликулы; 4 – третичные фолликулы; 5 – атретические фолликулы; 6 – желтые тела

### **Выводы**

1. После воздействия ацетата свинца отмечается морфофункциональная перестройка коркового и мозгового вещества яичника.

2. Воздействие ацетата свинца приводит к угнетению фолликулогенеза за счет уменьшения количества примордиальных, первичных, вторичных, третичных фолликулов и желтых тел, при одновременном увеличении количества атретических фолликулов в корковом веществе яичника. Установлено, что атрезии чаще подвергались вторичные фолликулы.

3. После воздействия ацетата свинца в мозговом веществе яичника обнаруживаются более крупные кровеносные сосуды, что свидетельствует об усилении кровоснабжения яичников.

*Работа проводилась при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева» (проект «Влияние антропогенных факторов на морфофункциональное состояние организма»).*

### Список литературы

1. Измеров Н.Ф. Свинец и здоровье. Гигиенический и медико-биологический мониторинг / Н.Ф. Измеров. – М. : Медицина, 2010. – 256 с.
2. Корбакова А.И. Свинец и его действия на организм (обзор литературы) / А.И. Корбакова, Н.С. Сорокина, Н.Н. Молодкина, А.Е. Ермоленко, К.А. Веселовская // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 29-34.
3. Паранько Н.М. Роль тяжелых металлов в возникновении репродуктивных нарушений / Н.М. Паранько, Н.И. Рублевская, Э.Н. Белицкая, Т.А. Головова, Т.Д. Землякова, Л.Е. Чуб, Г.Г. Шматков // Гигиена и санитария. – 2002. – № 1. – С. 28-30.
4. Савельева Г.В. Плацентарная недостаточность / Г.В. Савельева, М.В. Федорова, П.А. Клименко, Л.Г. Сичинова. – М. : Медицина, 1991. – 270 с.
5. Шейко Л.Д. Влияние малых доз шестивалентного хрома на репродуктивную функцию мелких млекопитающих: Модельный эксперимент / Л.Д. Шейко: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Екатеринбург, 1998. – 28 с.

### Рецензенты:

Федотова Г.Г., д.б.н., профессор кафедры теории и методики физической культуры и спорта ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева», г. Саранск;

Щанкин А.А., д.б.н., профессор кафедры спортивных дисциплин и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева», г. Саранск.