

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.621:636.4.082.4

В. А. Лобченко

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ЯЙЦЕКЛЕТОК СВИНЫ

Имеющиеся литературные данные о фолликулярных яйцеклетках млекопитающих, в том числе свиньи (*Sus scrofa*), довольно многочисленны. Однако незрелые яйцеклетки (ооциты), выделенные из фолликула, представляют в настоящее время особый, чрезвычайно важный, объект исследования в связи с получившими широкое распространение во всем мире работами, связанными с культурой ооцитов и их оплодотворением вне организма в целях трансплантации для максимального использования генетического потенциала выдающихся по продуктивности животных.

Популяция фолликулярных ооцитов на разных стадиях эстрального цикла представляется довольно разнообразной. Это вызвано наличием двух параллельно протекающих в яичниках процессов: роста (и созревания) биологически полноценных фолликулов и гистологической (и функциональной) перестройки атрезирующих.

При массовом получении фолликулярных ооцитов с целью их дальнейшего культивирования перед исследователем неизбежно встает вопрос, какие из них представляют собой ту или иную стадию развития, а какие в большей или меньшей мере уже подверглись атретическим изменениям.

О способах отбора фолликулярных ооцитов для культивирования сообщают многие авторы [1, 8, 9], описания которых довольно сходны. Исследователи обычно ориентируются на такие показатели, как размер, цвет, компактность и форма кумулюса, но это делается вне связи с физиологическим состоянием яичников вообще и фолликулов в частности. Так, данные, полученные при изучении нативных фолликулярных ооцитов мыши [12], хомяка [13], коровы [2, 7] не дают полного представления о характере и особенностях изменения комплекса ооцит — кумулюс в зависимости от физиологического состояния фолликула.

Цель настоящего исследования — изучение морфо-функционального состава популяции фолликулярных ооцитов свиньи, выделяемых из яичников животных, находящихся на разных стадиях эстрального цикла. В качестве морфологического критерия служили такие особенности кумулюса, которые могут быть легко обнаружены при небольшом увеличении.

Методика

Материалом служили яичники свиньи, получаемые на конвейере мясокомбината от животных разного возраста и на разных стадиях эстрального цикла, который определяли по состоянию желтых тел и фолликулов. Яичники транспортировали в лабораторию в физиологическом растворе при температуре 20—24 °С. Яйцеклетки выделяли из везикулярных фолликулов путем аспирации или рассечения стенки фолликула лезвием безопасной бритвы в чашке Петри. После промывания физиологическим раствором или фосфатно-солевым буфером Дюльбекко ооциты исследовали под микроскопом МБС-9. Измерения проводили окулярной линейкой или окуляр-микрометром МОВ-1 на МКУ-1. Стадии развития фолликулов оценивали, исходя из общепринятой классификации [10]: стадия 5б — ооцит достигает максимального размера, стенка фолликула многослойна, полость не формируется; стадия 6 — начало формирования полости; стадия 7 — хорошо развитая антравальная полость; стадия 8 — преовуляторный фолликул.

Результаты

В популяции фолликулярных ооцитов, получаемых из яичников животных, находящихся на разных стадиях эстрального цикла, можно выделить следующие группы, характеризующиеся определенными особенностями.

Первая группа. Ооциты без кумулюса или с отдельными клетками такового. Диаметр собственно яйца колеблется от 82,5 до 143,7 мкм, однако крайние значения встречаются редко. По результатам измерения 109 клеток $M \pm m = 119,1 \pm 1,0$; $\sigma = 0,01$. Коэффициент вариабельности достаточно низкий: $C_v = 8,07\%$. Обычно — самая многочисленная группа в популяциях ооцитов яичников всех типов.

Внутригрупповые различия определяются состоянием ооплазмы, в частности равномерной гранулярностью ооплазмы темного цвета (рис. 1, а); увеличенной гранулярностью или разной мерой вакуолизации ооплазмы (рис. 1, б); уплотнением ооплазмы в комок.

Вторая группа. Ооциты с редуцированной кумулюсной массой, как правило в один—два слоя клеток. Ооплазма темная, гранулярная, часто крупногранулярная, иногда с признаками вакуолизации (рис. 1, в).

Третья группа. Ооциты с кумулюсной массой среднего размера — три—четыре слоя клеток. Внутригрупповые различия определяются состоянием кумулюса, в частности его плотностью, компактностью и сферической формой (рис. 1, г); наметившимся разрастанием кумулюсных клеток (рис. 1, д); рыхлостью и отслаиванием. Иногда могут быть выделены ооциты с частью *theca interna* (рис. 1, е). Ооплазма темная, гранулярная, несколько маскируется кумулюсом.

Четвертая группа. Ооциты с увеличенной кумулюсной массой — более пяти—шести слоев. Диаметр комплекса обычно составляет 210—350 мкм. Комплексы округлые, чаще — неправильной формы. Ооплазма просматривается плохо. Обычно комплексы этой группы содержатся в средних и крупных фолликулах.

Внутри группы ооциты могут быть дифференцированы как по размеру кумулюсной массы, так и по ее компактности: плотно прилегающие клетки (рис. 1, ж) и редко дряблый отслаивающийся кумулюс.

Пятая группа. Ооциты со значительно увеличенной слизистой массой кумулюсных клеток и межклеточного матрикса. Комплекс ооцит — кумулюс обычно вытянутой формы (от 400—500 до 1800 мкм и более). Окружающая ооцит масса очень тягучая, с большим трудом удаляется механически, но довольно быстро — ферментами (гиалуронидаза), после чего обнажаются клетки лучистого венца, непосредственно прилегающие к прозрачной оболочке (рис. 1, з). Интактная масса большого размера сильно маскирует ооцит, затрудняет определение состояния ооплазмы. Иногда встречаются уплотнившиеся слизистые массы с дегенерирующим ооцитом или без него, но с вкрапленными пикнотизированными кумулюсными клетками. Эта группа ооцитов происходит из фолликулов, подвергшихся преовуляторным изменениям.

Представленные группы в основном охватывают многообразие фолликулярных комплексов ооцит — кумулюс свиньи.

Обсуждение

Рассмотренные группы ооцитов представляют, в основном, антальные фолликулы разного физиологического состояния. Нормально развивающимся фолликулам соответствуют комплексы ооцит — кумулюс, отличающиеся достаточным размером и компактностью кумулюсной массы или ее ослизленностью, а также равномерно гранулярной темной ооплазмой ооцита. Сюда могут быть отнесены ооциты из третьей, четвертой и пятой групп.

Морфологические изменения комплекса ооцит — кумулюс нормально развивающегося фолликула представляются нам в такой последовательности. В стадии образования антальной полости происходит

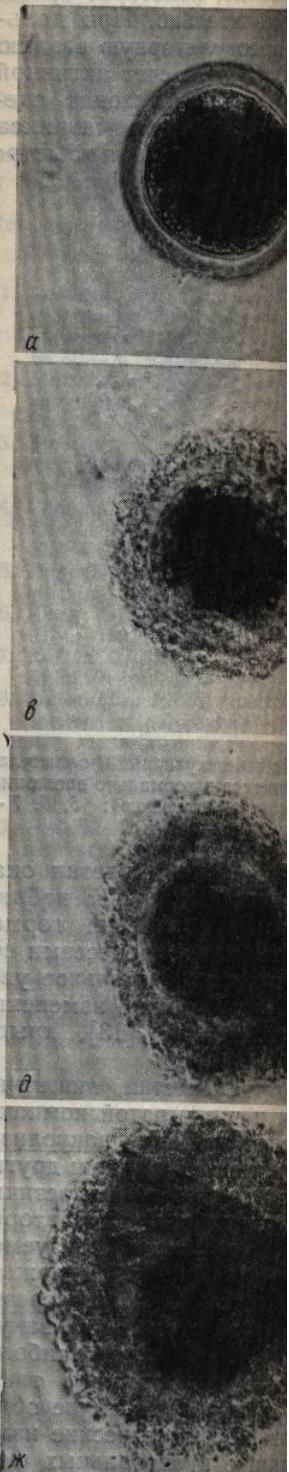


Рис. 1. Ооциты антальных фолликульных комплексов свиньи. а, б — первая; в — вторая; г, д, е — третья; ж — четвертая; з — пятая.

ИТАЛ

получаемых из яичников эстрального цикла, можно сие определенными осо-

ли с отдельными клетками от 82,5 до 143,7 мкм. По результатам измерений Коеффициент вариабельности — самая многочисленная всех типов.

я состоянием ооплазмы, в ооплазмы темного цвета разной мерой вакуолизированы в комок.

и кумулюсной массой, как лазма темная, гранулярные признаками вакуолизации

ассой среднего размера — различия определяются со- ю, компактностью и сфе- разрастанием кумулюсных м. Иногда могут быть вы- 1, e). Ооплазма темная, ом.

ой кумулюсной массой — комплекс обычно составляет — неправильной формы. Комплексы этой группы со-

перенесены как по раз- тности: плотно прилегаю- щающаяся кумулюс. величиной слизистой мас- грикса. Комплекс ооцит— 600 до 1800 мкм и более). Большим трудом удаляется ми (гиалуронидаза), пос- непосредственно прилега- нтактическая масса большого определение состояния слизистые массы с де- вакуолированными пикнотизи- уппа ооцитов происходит изменениям.

хватывают многообразие свиньи.

и структурные показатели яичников свиньи включают, в основном, антигенные состояния. Нормально комплекс ооцит — кумулюс — компактностью кумулюс — равномерно гранулярной отнесены ооциты из тре-

ооцит — кумулюс нормаль- ся нам в такой последо- ной полости происходит

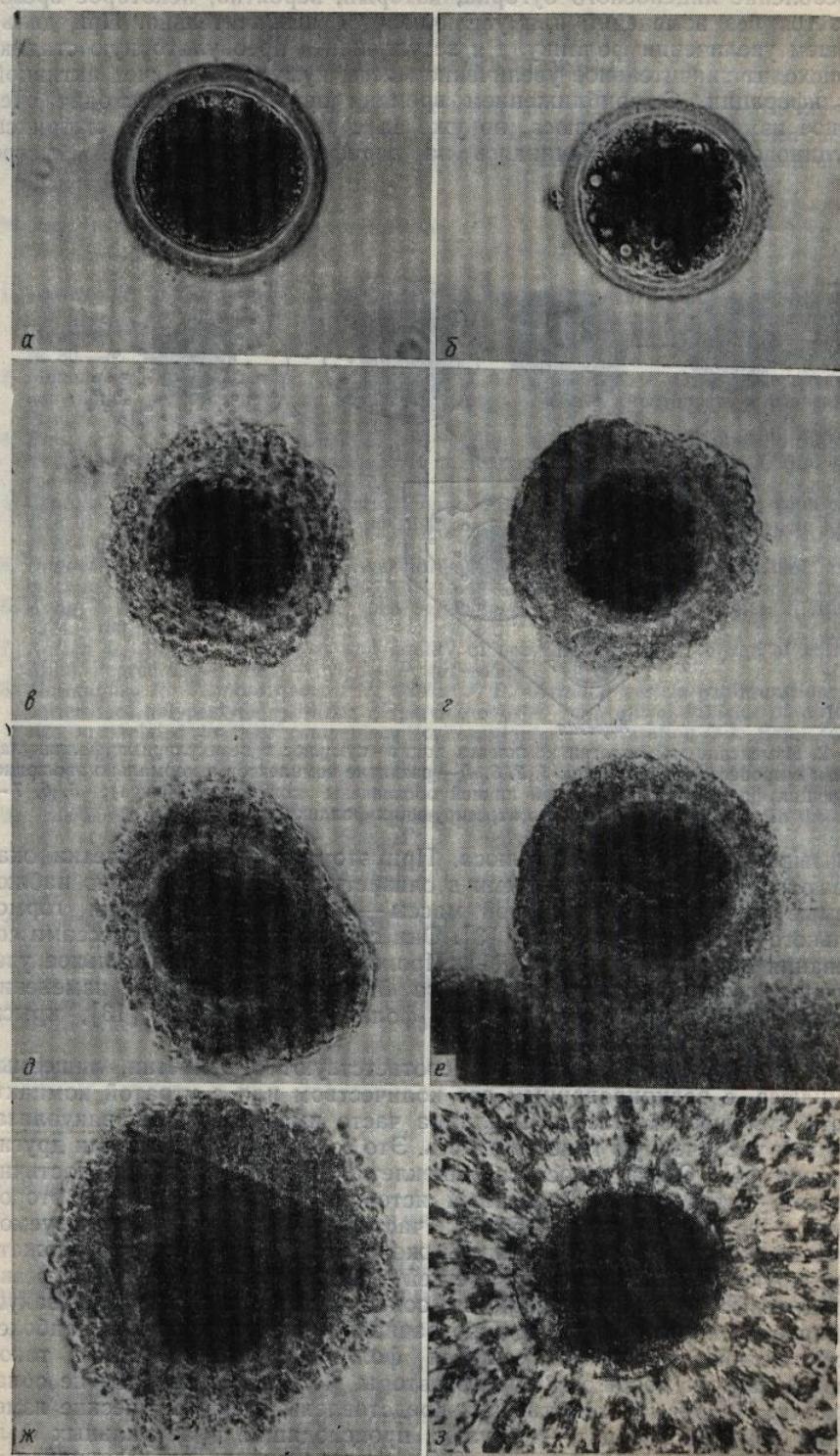


Рис. 1. Ооциты антральных фолликулов яичника свиньи разных групп функционального состояния:
а, б — первая; в — вторая; г, д, е — третья; ж — четвертая; з — пятая группы.

обособление яйценосного бугорка, который, вероятно, некоторое время остается без изменений или увеличивается незначительно. При дальнейшем увеличении фолликула и вступлении в преовуляторную стадию происходит значительное увеличение массы кумулюса за счет активной пролиферации. С приближением времени овуляции, происходит очередное изменение кумулюса, но уже за счет межклеточного матрикса (муциновой массы). Начинаясь на периферии, муцинизация быстро

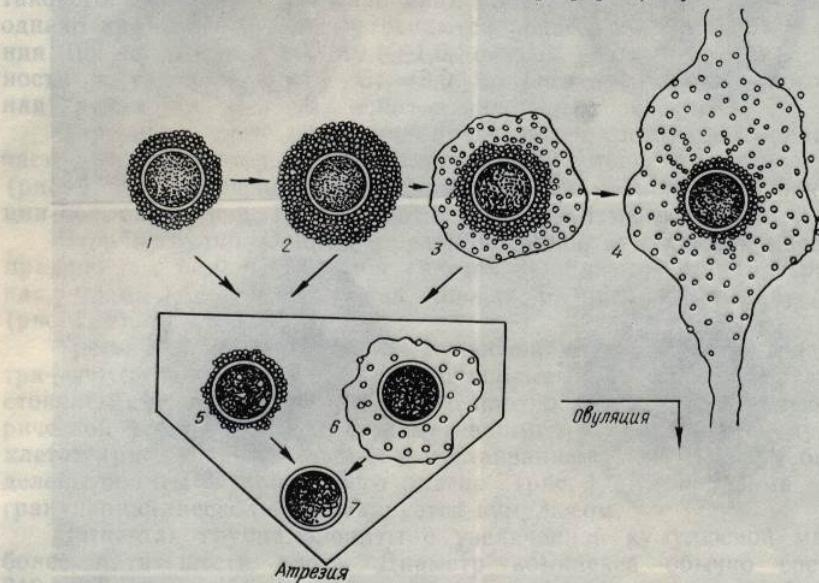


Рис. 2. Изменение морфологии комплекса ооцит—кумулюс в везикулярных фолликулах свиньи в процессе их эволюции: 1, 2, 3, 4 — развитие комплексов в нормально эволюционирующих фолликулах (сплошной линией обозначены контуры матрикса); 5, 6, 7 — ооциты в атрезирующихся фолликулах.

охватывает всю массу кумулюса. При этом кумулюсные клетки оказываются как бы вкрапленными в слизистую массу. Визуально наблюдаемые изменения кумулюсной массы — следствие изменения гормонального фона в фолликулах [3]. Они сопровождаются процессами созревания самой яйцеклетки [11]. Происходит также значительное увеличение объема гранулезы и *theca interna* [5]. Похожие изменения наблюдаются и в преовуляторных фолликулах хомяка [13], крысы [6], а также человека [14].

Атрезиющим фолликулам соответствуют яйцеклетки, лишенные кумулюса, с редуцированным его количеством или с утратой компактности кумулюсной массы. Ооплазма часто имеет признаки вакуолизации или увеличенную гранулярность. Это согласуется с данными других авторов [4]. Сюда относятся яйцеклетки первой, второй и частично третьей — пятой групп. Вероятный источник ооцитов первой и второй групп — фолликулы стадий 5б, 6 и частично 7 (согласно используемой классификации [10]). Фолликулы же стадий 7 и 8 могут содержать атрезиющие яйцеклетки из третьей — пятой групп, т. е. при атрезии кумулюсные клетки рассеиваются, ооцит оголяется, а ооплазма вакуолизируется и резорбируется. Прозрачная оболочка выглядит наиболее резистентной. Фрагментирующиеся фолликулярные ооциты в такой форме, как это сообщают другие авторы [12], для мыши мы не обнаружили. На рис. 2 схематически представлены морфологические изменения комплекса ооцит — кумулюс, происходящие в антральных фолликулах яичников свиньи. Хотя популяция ооцитов из везикулярных фолликулов свиньи — гетерогенна по своему морфо-функциональному состоянию, предлагаемая схема позволяет дифференцировать ооциты, происходящие из нормально развивающихся (созревающих) и атрезиующих фолликулов.

ется повышенной
Потому суммарные
одинаковы
Oocytes-cumulus complexe
ries at different stages o
ferentiating the oocyte po
ir cumulus and cytoplasm
Research Institute of Pig

1. Галиева Л. Д., Свиридов С. А. Свиридовы вне органов генетических методов № 30. — С. 101—103.
2. Михайленко А. В., Популяции ооцитов *in vitro* // Биол. наук.
3. Ainsworth L., Tsankov levels, gonadotrophic rod. — 1980.—23, N 3.
4. Centola G. Light microcida of porcine follicles. — 1982.—6, N 4.—P. 29.
5. Daguet M.-C. Some biochim. and biophys.
6. Kang Y.-H. Developm. — 1974.—139, N 4.—P. 1.
7. Katska L., Smorag Z. Anim. Reprod. Sci.—
8. McGaughey R. W. M. patterns of polypeptide size are related to 1979.—209, N 2.—P. 1.
9. Motlik J. Cultivation 349.
10. Pedersen T., Peters H. se ovary // J. Reprod.
11. Spalding J. F., Berry during normal and i 620.
12. Swartz W. J., Schue adult mouse ovary //
13. Talbot P., DiCarlo Gamete Res.—1984.—
14. Tesarik K. J., Dvora Ultrastruct. Res.—198

Полтав. ин-т свиноводст

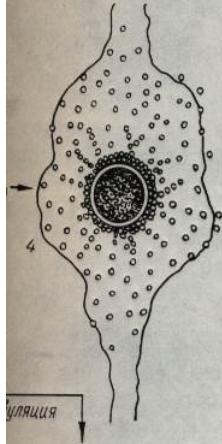
УДК 612—092.3—001.1/3—053

ОСОБЕННОСТИ ПИЩЕВОГО КАНЦЕЛЕЙ СТРИДОРОВЫХ

В процессе старения организма ограничиваются вибрации экстремальных

В целях дальнейшей адаптации при острой работе изучено крыс при обычном недостаточности у с

вероятно, некоторое время незначительно. При дальнейшем преовуляторной стадии кумулюса за счет активной овуляции, происходит очертание межклеточного матрикса яйцеклетки, музинизация быстро



люс в везикулярных фолликулах (макроматриксы); 5, 6, 7 — в антравиальных фолликулах.

кумулюсные клетки оказываются в массе. Визуально наблюдение изменения гормонов — это процессами сопровождается также значительное увеличение [5]. Похожие изменения в яйцеклетках хомяка [13], крысы

и яйцеклетки, лишенные яйцеклеток, или с утратой компактности, имеют признаки вакуолизации, сопровождающиеся с данными других яйцеклеток первой и второй групп. Яйцеклетки 7 и 8 могут содержать яйцеклетки из группы, т. е. при атрофии яйцеклетки, а яйцеклетка вакуолюса выглядит наиболее яйцеклетками в таком виде, для мыши мы не обнаружили морфологические изменения в антравиальных фолликулах из везикулярных яйцеклеток из морфофункциональному дифференцированию яйцеклеток, созревающих и атрофизирующихся.

изол. журн., 1986, т. 32, № 2

V. A. Lobchenko

MORPHO-FUNCTIONAL VARIETY OF THE FOLLICULAR OOCYTES IN PIG

Oocyte-cumulus complexes from normally developing and atretic follicles of the pig ovaries at different stages of oestral cycle are characterized. A scheme is suggested for differentiating the oocyte population into the atretic and normal ones (as to the state of their cumulus and cytoplasm).

Research Institute of Pig Husbandry, Poltava

- Галиева Л. Д., Свиридов Б. Е., Янушка А. Л. Культивирование фолликулярных ооцитов свиньи вне организма // Биологические основы совершенствования селекционно-генетических методов в животноводстве. Сб. науч. трудов ВНИИРГЖ.—1980.—№ 30.—С. 101—103.
- Михайленко А. В., Пулина Г. А., Языков А. А., Газарян К. Г. Отдельные группы в популяции ооцитов коров, их цитогенетический анализ и способность к созреванию *in vitro* // Биол. науки.—1983.—№ 9(237).—С. 57—62.
- Ainsworth L., Tsank B., Downey B. Interrelationships between follicular fluid steroid levels, gonadotrophic stimuli and oocyte maturation of porcine follicles // Biol. Reprod.—1980.—23, N 3.—P. 621—627.
- Centola G. Light microscopic observations of alterations in staining of the zona pellucida of porcine follicular oocytes: possible early indication of atresia // Gamete Res.—1982.—6, N 4.—P. 293—304.
- Daguet M.-C. Some aspects of final follicle growth in the sow // Ann. biol. anim., biochim., and biophys.—1978.—28, N 6.—1343—1349.
- Kang Y.-H. Development of the zona pellucida in the rat oocyte // Amer. J. Anat.—1974.—139, N 4.—P. 535—566.
- Katska L., Smorag Z. Number and quality of oocytes in relation to age of cattle // Anim. Reprod. Sci.—1984.—7, N 5.—P. 451—460.
- McGaughey R. W., Montgomery H., Richer J. D. Germinal vesicle configurations and patterns of polypeptide synthesis of porcine oocytes from antral follicles of different size are related to their competency for spontaneous maturation // J. Exp. Zool.—1979.—209, N 2.—P. 239—254.
- Motlik J. Cultivation of pig oocytes *in vitro* // Folia biol.—1972.—28, N 5.—P. 345—349.
- Pedersen T., Peters H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary // J. Reprod. Fertil.—1968.—17, N 3.—P. 555—557.
- Spalding J. F., Berry R. O., Moffit J. G. The maturation process of the ovum of swine during normal and induced ovulation // J. Anim. Sci.—1955.—14, N 3.—P. 609—620.
- Swartz W. J., Schuetz A. W. Morphological diversity of oocytes released from the adult mouse ovary // Amer. J. Anat.—1975.—144, N 3.—P. 365—372.
- Talbot P., DiCarantonio G. Architecture of the hamster oocyte-cumulus complex // Gamete Res.—1984.—9, N 3.—P. 261—272.
- Tesarik K. J., Dvorak M. Human cumulus oophorus preovulatory development // J. Ultrastruct. Res.—1982.—78, N 1.—P. 60—72.

Полтав. ин-т свиноводства ЮО ВАСХНИЛ

Поступила 21.05.85

Л. М. Тарасенко, Т. А. Девяткина

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛОВ ПИЩЕВОГО КАНАЛА НА ОСТРЫЙ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОЙ СТРЕСС У ЗРЕЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС

В процессе старения изменяется нейрогуморальная регуляция функций, что ограничивает адаптивные возможности организма при действии экстремальных факторов [13, 14].

В целях дальнейшего исследования роли возраста в формировании адаптации при остром эмоционально-болевом стрессе (ЭБС) в настоящей работе изучено состояние желудка и пародонта у зрелых и старых крыс при обычном рационе питания, а также на фоне антиоксидантной недостаточности у старых крыс.