

УДК 636.551:591.465.2:637.412

## ГИСТОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЯЙЦЕВОДА У КУР В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ СКОРЛУПЫ

В. И. ГЕОРГИЕВСКИЙ, К. С. ЗАБЛОЦКАЯ, Е. В. ФЕДOTOV, Ю. М. ДЕМИН

(Кафедра физиологии и биохимии с.-х. животных)

Представлены результаты цитохимических исследований яйцевода кур-несушек породы белый леггорн на разных стадиях формирования скорлупы яиц. Для изучения эпителиальных структур использован метод морфометрического анализа срезов, окрашенных гематоксилин-эозином. Содержание в клетках эпителия общего и основного белка, РНК и углеводов определяли цитохимическим методом. Установлено, что в процессе образования скорлупы в организме кур изменяются площадь клеток покровного и железистого эпителия слизистой оболочки яйцевода и гистохимическая картина клеток.

Цитологическое исследование яйцевода («матки») птицы представляет интерес в связи с решением вопросов, непосредственно касающихся его деятельности и имеющих общебиологическое значение. Благодаря наличию в стенке яйцевода разнообразных по функциям желез он может быть использован для изучения цитологии секреторного процесса. Заслуживает также внимания механизм образования оболочек яйца, которые являются производными межклеточного вещества соединительной ткани.

В настоящее время проведено достаточное количество гистологических исследований, посвященных различным вопросам строения и деятельности яйцевода [1—14]. Тем не менее механизм процессов, сопутствующих образованию оболочек в каждой из частей яйцевода, до сих пор недостаточно изучен. Мало данных об особенностях обмена веществ в яйцеводе кур, гистохимической картине клеток в разные периоды половой активности и в процессе образования скорлупы в яйцеводе.

Нами проводились цитохимические исследования матки кур при образовании скорлупы яиц.

### Методика

Для гистологического изучения у 30 кур-несушек были взяты образцы яйцевода на разных стадиях формирования скорлупы яиц, которые определяли расчетным путем с учетом цикла яйце кладки: I — стадия медленной минерализации, которая соответствовала 0—6 ч нахождения яйца в матке; II, III, IV — соответственно 7—10ч, 11—15 (стадия быстрой минерализации) и 16—20 ч; V стадия — после снесения яйца (стадия покоя). Образцы фиксировали в

10 %-ном растворе нейтрального формалина и в жидкости Карнуа.

Для изучения эпителиальных структур использовали метод морфометрического анализа срезов, окрашенных гематоксилин-эозином с применением окуляр-микрометра, а также цитохимические методы окраски препаратов. Содержание общего белка в клетках покровного и железистого эпителия определяли путем окраски амидочерным, РНК в цитоплазме — галлвцианин-

хромовыми квасцами, основного белка — прочным зеленым и нейтральных гликопротеинов — с помощью ШИК-реакции. Оптическую плотность ядра и цитоплазмы уста-

навливали при использовании цитоспектрофотометра фирмы «Оптон» в условных единицах поглощения.

## Результаты

Поверхность матки, находящейся в состоянии покоя, складчатая, ворсинчатая. Эпителий ворсин однослойный, двухрядный, в нем содержатся мерцательные и секреторные клетки, количество тех и других варьирует в процессе образования скорлупы. Клетки эпителия высокие, цилиндрические, с оксифильной цитоплазмой, в которой обнаруживаются просветленные участки над ядрами. Форма ядер от округлой до овальной, они хорошо контурированы, четко видны два ряда ядер, в нижнем ряду ядра располагаются более плотно. Эпителий полости органа отделен от железистого слоя прослойкой соединительной ткани, выраженность которой в разные периоды нахождения яйца в матке различная. В собственной пластинке слизистой оболочки матки обнаружено большое количество трубчатых желез, разделенных прослойками соединительной ткани.

Железы простые, трубчатые, разветвленные. Концевые отделы желез представлены 5—7 клетками конусовидной формы.

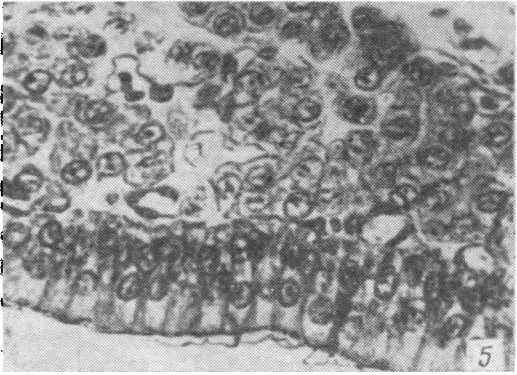
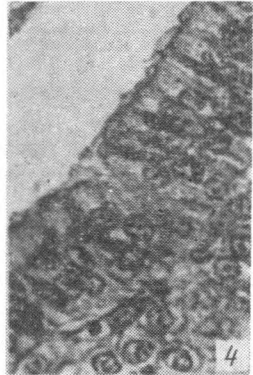
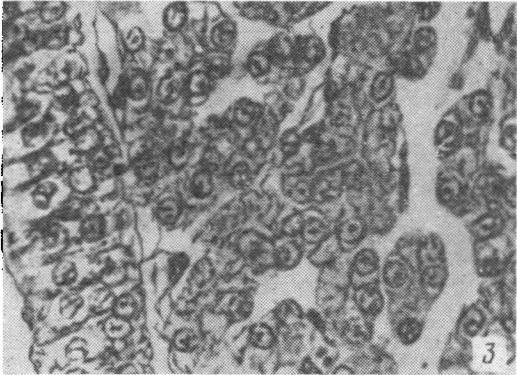
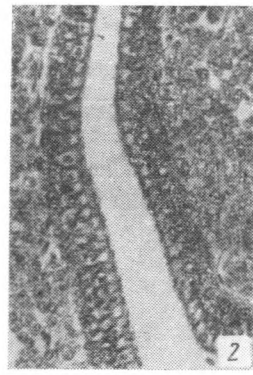
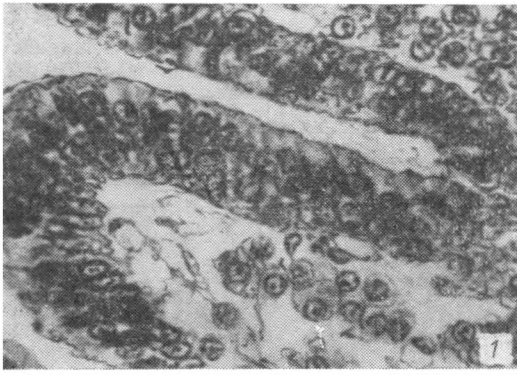
Цитоплазма железистых клеток слабоэозинофильная. Ядра крупные, округлой формы, с краевым расположением гетерохроматина, содержат от 1—3 ядрышек. Концевые отделы желез окружены капиллярами, число которых варьирует в процессе минерализации (рисунок).

При формировании скорлупы происходят структурно-функциональные изменения покровного и железистого эпителия матки кур. В начальный период формирования скорлупы слизистая оболочка матки набухает, ворсины увеличиваются в объеме, складчатость слизистой возрастает. Появляется большое количество расширенных кровеносных сосудов в строме органа. Наблюдается мукозное набухание стромы (ШИК-реакция), что указывает на функциональную активность органа. Цитоплазма клеток покровного эпителия приобретает базофильную окраску, их ядра смещены к центру, под ядрами появляются вакуоли. В клетках желез цитоплазма также приобретает базофильную окраску, высота клеток несколько снижается, но объем ядер увеличивается — 3 ч процесса образования скорлупы (рисунок, 2).

По мере развития процесса формирования скорлупы возрастает функциональная напряженность эпителиальных структур матки, о чем можно судить по наличию значительной вакуолизации цитоплазмы клеток покровного и железистого эпителия. Клетки становятся высокими, цилиндрическими, в их цитоплазме появляются довольно значительные просветленные участки. Нарушается расположение ядер в покровном эпителии, их форма изменяется.

Концевые отделы желез агрегированы. Заметно увеличивается кровенаполнение слизистой оболочки матки, что проявляется в полнокровии сосудов — 6 ч процесса (рисунок, 3).

В стадии максимальной активности (12 ч) морфологические изменения сопровождаются усилением синтетической активности клеток. В покровном эпителии повышается базофилия цитоплазмы, высота клеток несколько увеличивается. В железистых клетках возрастает объем цитоплазмы и их ядер (рисунок, 4). По мере завершения процесса образования скорлупы эпителий приобретает такой же вид, как и в стадии покоя. Таким образом, в разные стадии формирования скорлупы прослеживаются различные структурно-функциональные изменения слизистой оболочки матки. В стадии медленной минерализации (3—6 ч) происходит набухание ворсин слизистой, в клетках идут процессы физиологической вакуолизации цитоплазмы, в строме органа обнаруживается мукоидное набухание. Стадия быстрой минерализации (12 ч) характеризуется физиологической гипертрофией клеток покровного и



Эпителий слизистой оболочки матки в следующие стадии: покоя (1; ув. 25X10), начальной активности (2; ув. 60X10), активную (3; ув. 60X10), максимальной активности (4; ув. 60X10) и затухания (5; ув. 60X10).

железистого эпителия и еще большим полнокровием слизистой оболочки органа.

На завершающей стадии образования скорлупы структура слизистой оболочки органа становится такой же, как и в стадии покоя.

По данным морфометрических исследований, площадь клеток покровного эпителия изменяется в зависимости от стадии образования скорлупы. Их площадь наибольшая в стадии максимальной активности (12 ч). Площадь клеток железистого эпителия при этом резко не возрастает (табл. 1).

Наибольшая концентрация общего белка в клетках покровного эпителия наблюдается в стадии покоя, однако, если учесть изменения площадей клеток, становится очевидным, что содержание этого вещества максимально в III стадии (табл. 2).

Таблица 1

Площадь ядра и цитоплазмы клеток покровного и железистого эпителия слизистой оболочки матки кур в разные стадии образования скорлупы (мкм<sup>2</sup>)

Стадия образования скорлупы	Покровный эпителий		Железистый эпителий	
	Цитоплазма	Ядро	Цитоплазма	Ядро
I	76,18±4,60	16,91±1,01*	40,67±2,40	18,42±1,10*
II	89,01±7,00	19,58±1,20	42,48±2,50	18,51±1,10*
III	125,57±7,50*	22,95±1,40*	43,26±3,03	19,81±1,20*
IV	92,48±5,80	18,50±1,10	40,80±4,40	16,54±0,90
V	83,79±5,90	18,40±1,10	39,60±1,60	16,23±0,87

\* Здесь и в последующих таблицах разность достоверна по сравнению с V стадией при  $P < 0,05$ .

Таблица 2

Содержание общего белка в клетках покровного и железистого эпителия слизистой оболочки матки кур (единицы поглощения — ЕП, условные единицы оптической плотности — УЕ)

Стадия образования скорлупы	Покровный эпителий		Железистый эпителий	
	ЕП	УЕ	ЕП	УЕ
I	1,17±0,05	89,29±2,90*	1,11±0,05	44,98±1,80*
II	1,09±0,07	97,41±5,10	1,12±0,04	46,26±1,50*
III	1,11±0,03	138,75±3,10*	1,07±0,04	47,49±1,60*
IV	1,28±0,04	122,20±3,40*	1,29±0,03	52,41±1,70
V	1,31±0,01	109,83±1,30	1,33±0,02	52,55±1,67

Снижение уровня общего белка в эпителиальных структурах органа при переходе от стадии покоя к началу образования скорлупы можно объяснить его расходом, в то время как процессы синтеза еще не достигли своего максимума. В железистом эпителии закономерность, характерная для покровного эпителия, несколько иная. Максимальная концентрация общего белка приходится на V стадию, в то время как его уровень в III стадии невысокий, что можно объяснить накоплением белковых продуктов в железистых клетках.

Динамика содержания РНК цитоплазмы в покровном эпителии в процессе образования скорлупы аналогична изменению уровня белка: содержание РНК цитоплазмы возрастает от I к III стадии и постепенно снижается от III к V. В железистом эпителии динамика содержания РНК цитоплазмы такая же, как и в покровном эпителии (табл. 3). Изменение содержания нейтральных гликопротеинов в последнем в зависимости от стадии процесса аналогично динамике уровня общего белка и нуклеиновых кислот (табл. 4).

Таблица 3

Количество РНК цитоплазмы в клетках покровного и железистого эпителия слизистой оболочки матки кур

Стадия образования скорлупы	Покровный эпителий		Железистый эпителий	
	ЕП	УЕ	ЕП	УЕ
I	0,28±0,02	20,79±1,90*	0,12±0,00	4,95±0,21
II	0,27±0,00	21,27±0,30*	0,14±0,00	5,98±0,13
III	0,26±0,01	33,46±0,80*	0,14±0,00	7,52±0,16*
IV	0,22±0,01	23,15±0,80	0,12±0,01	5,43±0,14
V	0,23±0,01	23,96±0,80	0,14±0,01	5,84±0,13

В итоге, оценивая состояние синтетической активности эпителиальных структур матки, можно указать на определенную закономерность изменения содержания общего белка, цитоплазматической РНК и гликопротеинов в эпителиальных структурах органа, которая отражает состояние процесса образования скорлупы. В ядрах клеток покровного и железистого эпителия уровень основных белков, которые участвуют в регуляции синтетической активности ядерного материала, наибольший в III стадии (табл. 5), что и объясняется повышением активности белкового синтеза. Максимальное относительное содержание РНК на единицу гистонов также приходится на III стадию, что еще раз подтверждает высокую функциональную активность клеток слизи-

Т а б л и ц а 4

Содержание нейтральных гликопротеинов в клетках покровного эпителия слизистой оболочки матки кур

Стадия образования скорлупы	Нейтральные гликопротеины	
	ЕП	УЕ
I	0,33±0,01	24,94±0,54
II	0,37±0,01	33,20±1,40
III	0,29±0,00	36,01±0,29
IV	0,31±0,00	28,82±0,39
V	0,32±0,02	26,95±1,70

Т а б л и ц а 5

Содержание основного белка в ядрах клеток покровного и железистого эпителия слизистой оболочки матки кур

Стадия образования скорлупы	Покровный эпителий		Железистый эпителий		Отношение РНК к гистонам	
	ЕП	УЕ	ЕП	УЕ	ЕП	УЕ
I	1,12±0,06	19,01±0,72*	1,05±0,03	18,98±0,45	1,094	0,260
II	1,23±0,04	23,90±0,68	1,13±0,05	20,67±0,78	0,900	0,289
III	1,31±0,01	32,58±0,38*	1,27±0,02	22,01±0,49*	1,172	0,342
IV	1,15±0,02	23,62±0,37	1,01±0,02	18,05±0,52*	0,979	0,301
V	1,21±0,02	22,20±0,39	1,23±0,03	19,01±0,54	1,079	0,307

стой матки в этот период. Динамика данного показателя в течение всего процесса образования скорлупы была такой же, как и содержания общего белка, нуклеиновых кислот и гликопротеинов.

#### Выводы

1. Процесс образования скорлупы в организме кур сопровождается характерными гистофункциональными изменениями эпителия слизистой оболочки матки.

2. По данным морфометрических исследований, площадь клеток покровного и железистого эпителия и их ядер увеличивается от стадии покоя к стадии активности.

3. Изменяется структура клеток эпителия. В фазу медленной минерализации в клетках происходят процессы физиологической вакуолизации цитоплазмы, в строме органа — мукоидное набухание, что указывает на его функциональную активность.

4. В фазу быстрой минерализации усиливается синтетическая и метаболическая активность эпителиальных структур органа. В клетках покровного и железистого эпителия наблюдается физиологическая гипертрофия.

5. На заключительном этапе образования скорлупы структура слизистой оболочки матки становится такой же, как и в стадии покоя.

6. Изменение содержания основного и общего белка, РНК, нейтральных гликопротеинов в эпителиальных структурах слизистой оболочки матки кур коррелирует со структурно-функциональными изменениями эпителия ворсин в процессе образования скорлупы. Максимальное содержание общего белка, основного белка, нуклеиновых кислот и углеводов приходится на стадию активности, минимальное — на

стадию покоя, при этом активность генетического материала в первом случае выше, во втором — ниже.

7. Учитывая биологическую активность эпителиальных клеток матки, по всей вероятности, можно повысить их метаболизм за счет активизации процесса образования скорлупы в I и II стадии и снижения длительности стадии покоя.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кирштейне Б. Э., Вейде А. Э., Бауман В. К. Субклеточная локализация кальция в яйцеводе кур в период образования скорлупы яиц. — С.-х. биология. М.: Колос, 1980, т. XV, вып. 1, с. 151—153. — 2. Манухина А. И., Столярова А. Г., Донченко Н. П., Шевченко В. Г. Функциональная морфология яйцевода кур в связи с ритмичкой репродуктивной функции. — Бюлл. ВНИИФБиП с.-х. животных. Боровск, 1982, вып. 3, № 67, с. 64—69. — 3. Манухина А. И., Столярова А. Г., Донченко Н. П., Шевченко В. Г. Морфология секреторных клеток белкового отдела яйцевода кур в период интенсивного синтеза белка. — Бюлл. ВНИИФБиП с.-х. животных. Боровск, 1985, вып. 1, № 77, с. 64—68. — 4. Трайнис К. В. Лукополисахариды стенки яйцевода кур-несушек. — Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 1967, вып. 8, с. 102—107. — 5. Трайнис К. В. Электронно-микроскопическое исследование секреторного процесса железистых клеток яйцевода птиц. — Тр. Лит. вет. акад., 1967, т. VIII, с. 15—22. — 6. Aitken R. N. C. — J. Physiol. Biochem. of the Domestic Fowl., 1971, vol. 3, p. 1237—1287. — 7. Draper M. H., Davidson M. F., Wyburn G. M., Johnston H. S. — Quart. y. ext. Physiol. 1972, vol. 57, p. 297—310. — 8. Fujii S., Tamura T., Kunisaki — J. Fac. Fish Anim. Husb, 1965, vol. 6, N 1, p. 25—35. — 9. Johnston H. S. — Quart. j. ext. Physiol., 1972, vol. 57, p. 297—310. — 10. Johnston H. S., Aitken R. N. C., Wyburn G. M. — J. Anat., 1963, vol. 97, p. 334—344. — 11. Solomon S. E. — Physiol., Biochem. of the Domestic Fowl., 1983, p. 102—396. — 12. Spicer S. S. — Ann. N. V. Acad. Sci., 1961, vol. 106, p. 379—388. — 13. Tamura T., Fujii S. J. — Fac. Fish. Anim. Husb., 1966, vol. 6, N 2, p. 357—371. — 14. Wyburn G. M., Johnston H. S., Draper M. H., Maida F. — Quarterly J. of Experimentae Physiol., 1973, vol. 58, N 2, p. 121—205.

*Статья поступила 15 июня 1987 г.*

#### SUMMARY

The results of cytochemical investigation) of oviduct in white Leghorn laying hens at different stages of egg shell formation are discussed. To study epithelial structures the technique of morphometric analysis of sections coloured with hematoxylin-eosine has been used. The amount of total and basic protein,<sup>1</sup> ribonucleic acid and carbohydrates in epithelium cells was determined by cytochemical technique of colouring the preparations. It has been found that during the process of shell formation the area of covering and glandular epithelium cells of oviduct jelly coat in hen's body changes.