

Гистоморфология

УДК 636.2:591.465:591.8

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЯЙЦЕВОДОВ И ИХ ПРОХОДИМОСТЬ У КОРОВ

Е.Н. СКОВОРОДИН, С.С. БОГОЛЮК

С помощью клинических, макро- и микроморфологических методов изучали яйцеводы у коров черно-пестрой породы. Эпителий яйцеводов был представлен реснитчатыми и секреторными клетками, мышечный слой — тремя пучками. В стенке яйцеводов тучные клетки выявлялись периваскулярно и в рыхлой соединительной ткани. Их дегрануляция увеличивалась в фолликулярную фазу полового цикла. У беременных коров древовидное строение складок слизистой оболочки яйцеводов сглаживалось, за счет чего величина просвета органа увеличивалась, интенсивно функционировали секреторные клетки, в подслизистой зоне скапливались гранулированные формы тучных клеток, утолщался и уплотнялся мышечный слой, формировалась жировая капсула мезосальпинкса. Предложен способ диагностики непроходимости яйцеводов, который позволяет установить скрытую патологию этих органов, проявляющуюся в виде повышенной проходимости, относительной и абсолютной непроходимости.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, коровы, размножение, органы размножения животных, яйцеводы, гинекологические болезни, непроходимость как причина бесплодия.

Keywords: *Bos taurus*, cows, reproduction, animal reproductive organs, oviducts, gynaecological diseases, obstruction as a cause of infertility.

Увеличение производства животноводческой продукции должно осуществляться в первую очередь за счет роста поголовья скота, повышения его продуктивности, эффективного использования кормов, улучшения условий содержания и кормления животных, а также совершенствования селекционно-племенной работы, что невозможно без получения достаточного количества приплода. Воспроизводство маточного поголовья крупного рогатого скота в Российской Федерации реализуется только на 70-80 % (1), в том числе вследствие бесплодия.

Бесплодие крупного рогатого скота обусловлено многими причинами, среди которых существенная роль принадлежит заболеваниям половых органов (2). При клинико-гинекологическом исследовании патология яйцеводов обнаруживается редко, поскольку обычные методы позволяют распознать лишь незначительную часть тех морфологических и функциональных изменений органа, которые вызывают бесплодие у коров (3-5). Поэтому исследователи уделяют особое внимание поиску более эффективных и доступных методов диагностики состояния яйцеводов, которые можно разработать, только имея сведения о макро- и микроструктуре этих органов и используя лабораторные методы исследования (6-9).

Целью нашей работы стало изучение функциональной морфологии яйцеводов и их проходимости у коров при разных физиологических состояниях репродуктивной системы.

Методика. Клинико-гинекологическое обследование 200 коров черно-пестрой породы проводили в учхозе Башкирского государственного аграрного университета (Уфимский р-н, Республика Башкортостан). Продуктивность животных составляла в среднем 5 тыс. кг молока в год, коровы содержались на привязи. Хозяйство обеспечивало себя основными кормами самостоятельно, имелись силосные ямы и зернохранилище. Водопой осуществлялся через центральную систему водоснабжения.

Рацион дойных коров за стойловый период был составлен с учетом

живой массы и продуктивности. В него входили следующие корма: сено луговое (3 кг), солома пшеничная (8 кг), силос кукурузный (10 кг), смесь концентратов (3 кг). Дополнительно в рацион включали поваренную соль (50 г). Коровы получали избыточное количество кальция и недостаточное — фосфора, что привело к изменению их соотношения до 1,7:0,8 при норме 1,5-2,0:1,0. Недостаток макроэлементов усугублялся в связи с недостатком йода, переваримого протеина, витамина D и каротина, отсутствием активного моциона.

Морфологическое исследование провели на 73 коровах. Туши и органы осматривали, тщательно изучали репродуктивную систему, проводили органометрию. Определяли состояние яичников, матки. Измеряли длину маточных труб, отмечали характер петлистости, определяли толщину яйцеводов в различных участках.

Функциональное состояние яйцеводов оценивали с использованием разработанного нами способа диагностики непроходимости яйцеводов (9). Орган погружали в сосуд с жидкостью и вводили в воронку яйцевода воздух под избыточным давлением. О проходимости судили по выходу воздуха из маточного конца и степени падения давления. С помощью этого способа исследовали 4 группы животных (телки в возрасте до 18 мес, $n = 14$; стельные коровы со сроком стельности от 2 до 6 мес, $n = 16$; коровы с клиническим диагнозом хронический катаральный эндометрит, $n = 8$; коровы с субинволюцией матки, $n = 6$).

Для гистологического исследования брали отрезки яйцеводно-маточного соединения, истмуса, средней части, ампулы и воронки. Материал, зафиксированный в жидкости Карнуа, обезживали и заливали в парафин. Срезы толщиной 5-6 мкм получали с помощью роторного микротомата МПС-2 (Украина). После депарафинации их окрашивали гематоксилином с эозином и паноптическим методом по Паппенгейму. Коллагеновые волокна выявляли по Ван-Гизону. Содержание дезоксирибонуклеопротеидов (ДНП) и рибонуклеопротеидов (РНП) определяли по Эйнарсо-ну, по Браше и по Фельгену, гликогена и нейтральных гликозаминогликанов — по А.Л. Шабадашу, кислых гликозаминогликанов — по Стидиену; заливку в парафин, окрашивание и гистохимические реакции выполняли общепринятыми методами (10).

Срезы из материала, зафиксированного в 10 % растворе формалина, получали на замораживающем микротоме и окрашивали суданом черным по Лизону, суданом III — по Дадди (11). Тучные клетки выявляли в срезах, окрашенных паноптическим методом по Паппенгейму. Под микроскопом МБР-3 (Россия) (объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$) подсчитывали число тучных клеток (лаброцитов). Микрофотографии получали с помощью цифровой фотокамеры Nikon cool pix 4500 (Япония), используя оптико-механический адаптер для цифрового фотоаппарата АМФЦ-11-01 (Россия).

Рассчитывали коэффициент проходимости (КП) яйцеводов (9). Этот показатель с величиной от 0 до 300 мм рт. ст. позволяет судить об абсолютной проходимости яйцеводов (от 300 до 100), относительной непроходимости (от 100 до 0) и абсолютной непроходимости (около 0).

Результаты обрабатывали статистически с использованием t -критерия Стьюдента. Рассчитывали коэффициент корреляции и основные параметры уравнения однофакторной регрессии.

Результаты. Несмотря на короткое расстояние между яичником и началом матки, яйцевод у коров имел значительную длину благодаря сильно извитому ходу и формировал петли. В связи с этим орган напоминал уплощенную растянутую пружину.

Длина яйцевода составляла 23-28 см, число петель достигало 15-18.

Яйцевод огибал яичник дугой, образуя почти полное кольцо. Воронка яйцевода соответствовала первой, ампула — второй и третьей петлям. Истмус, самая длинная часть яйцевода, располагался от третьей до предпоследней петли. Перешеек состоял из экстрамуральной части, которая включала в себя последнюю петлю яйцевода, и интрамуральной части, проходившей в толще стенки матки. Вдоль кровеносных сосудов вентрально от яйцеводов располагались жировые образования, различные по форме и размерам. Они встречались как в самой яйцеводной связке, так и обособлено в виде капель, прикрепляясь только головкой. Размеры этих жировых образований варьировали от 0,5 до 21,5 см, цвет — от светло- до темно-желтого.

При микроскопическом исследовании установили, что у циклирующих коров эпителиоциты в ампуле яйцевода представлены реснитчатыми и нереснитчатыми (секреторными, палочковидными, овальными) клетками. Высота реснитчатых клеток составляла 10-15 мкм, на их поверхности были обнаружены как микроворсинки, так и реснички. Ядра таких клеток имели преимущественно правильную округлую форму. Нереснитчатые ампулярные эпителиоциты были несколько меньше по размерам (10-12 мкм). На их поверхности имелись микроворсинки. Ядра располагались на разной высоте (особенно в местах скопления гранул с секретом), в результате чего эпителий выглядел многорядным.

В истмусе реснитчатые клетки встречались значительно реже, чем в предыдущем отделе яйцевода. Нереснитчатые клетки были представлены двумя типами. Первый напоминал нереснитчатые клетки ампулы и обнаруживался преимущественно в первой и второй петлях истмуса, второй был наиболее характерен для истмуса. Клетки имели высоту 10-30 мкм, их апикальную поверхность густо покрывали микроворсинки. Форма ядер неправильная, в клетках содержалось множество гранул гликогена. Ядра сочные, расположены базально, обычно на одном уровне, цитоплазма ячеистая.

В ампуле и воронке яйцевода в значительно большем количестве, чем в других частях, встречались секреторные цилиндрические и овальные клетки, а также десквамированные, подвергшиеся апоптозу, что связано с интенсивной секрецией в этих участках. Секреторный процесс особенно наглядно был выражен в фолликулярную фазу полового цикла. Поверхность эпителия в этот период покрыта слоем секрета. Небольшое его количество располагалось свободно в полости яйцевода, но у некоторых животных секрет почти полностью заполнял просвет яйцевода. К концу фолликулярной фазы содержание секрета уменьшалось.

Высота эпителиальной оболочки варьировала в зависимости от стадии полового цикла. Наибольших значений она достигала в ампуле — 38 мкм, снижалась в воронке до 25 мкм, в истмусе — до 20 мкм. В фолликулярную фазу увеличение высоты эпителиальной оболочки было наиболее выражено в ампулярной части (до 45 мкм) и в местах, где клетки содержали гранулы секрета (до 62 мкм). Эпителий истмуса и воронки лишь незначительно утолщался. В кровеносных сосудах ампулы наблюдались застойные явления, расширения капилляров и небольшие кровоизлияния.

В лютеиновую фазу полового цикла уменьшалось количество секрета на поверхности эпителия, высота эпителиальной оболочки в среднем составляла 25 мкм, в просвете яйцевода обнаруживалось большое число десквамированных эпителиоцитов в состоянии апоптоза.

Значительным изменениям оказались подвержены складки слизистой оболочки. В истмусе они представляли собой образования высотой 220 мкм и шириной 90-200 мкм. Центральная часть просвета яйцевода в истмусе имела звездообразную форму, вершины складок слизистой обо-

лочки сближались друг с другом не более чем на 60 мкм, число складок — от 9 до 15. С переходом яйцевода в рог матки высота складок слизистой оболочки постепенно уменьшалась, в результате чего центральный, свободный от складок просвет яйцевода расширялся. В средней и верхней частях ампулы складки слизистой оболочки в большинстве случаев представляли собой сильно разветвленные узкие образования. Высота складок значительно варьировала и составляла в среднем 500-1000 мкм. Толщина складок в этих участках — 50-150 мкм, число складок от 15 до 20 в средней части ампулы и 20-50 — в верхней. Удаление вершин складок друг от друга в центральной части просвета яйцевода незначительное. Вся полость была практически пересечена древовидными складками, между которыми имелось большое число узких боковых просветов. Складки слизистой оболочки — динамические образования. Они постоянно меняли расположение за счет мышечного слоя яйцевода, а в фолликулярную фазу значительно увеличивались в размерах, набухали, их эрекция была выражена вследствие кровенаполнения сосудов подслизистого слоя. В слизистой оболочке также имелось большое число поперечных складок, которые располагались у основания продольных и образовывали ячейки, придавая просвету яйцевода губчатое строение. В слизистой оболочке в области яйцеводно-маточного перешейка мы обнаружили единичные маточные железы.

Скопления лимфоцитов выявляли как в ампуле, так и в истмусе. Кроме того, в лютеиновую фазу полового цикла отмечали увеличение числа мигрирующих лимфоцитов в эпителии маточной трубы ближе к абдоминальной полости.

В подслизистом слое были обнаружены скопления тучных клеток (лаброцитов). Значительное число лаброцитов отмечалось в истмусе, меньшее — в ампуле. В фолликулярную фазу число гранулированных форм лаброцитов уменьшалось, что коррелировало с увеличением отека слизистой оболочки и было следствием секреции тучными клетками гистамина — медиатора, ответственного за проницаемость сосудистых стенок.

При окрашивании паноптическим методом по Паппенгейму тучные клетки обнаруживались в слое рыхлой неоформленной соединительной ткани слизистой оболочки, их число колебалось в среднем от 15 до 30 в поле зрения микроскопа. В мышечном слое оно составляло от 5 до 7 клеток, в соединительной ткани серозной оболочки — около 10-15 клеток.

В цитоплазме тучных клеток отмечали специфическую базофильную зернистость. Форма клеток зачастую правильная, овальная, в исключительных случаях встречались клетки несколько вытянутые, с широкими отростками. Ядра небольшие, округлой или овальной формы. В цитоплазме тучных клеток располагались метахроматически окрашивающиеся гранулы.

Каемка реснитчатого эпителия при проведении гистохимической реакции по А.Л. Шабадашу окрашивалась в красновато-фиолетовый цвет за счет присутствия в ней углеводов как энергетического субстрата, необходимого для сокращения реснитчатого эпителия. Гранулы гликогена и протеогликаны выявляли в цитоплазме тучных клеток.

При проведении гистохимической реакции по Фельгену в ядрах реснитчатых клеток обнаруживались 2-3 ядрышка, в ампуле их число увеличивалось до 5. Нити хроматина располагались по периферии ядра или ближе к одному из полюсов. Хроматин ядра имел вид нежной сеточки. В секреторных клетках ядрышки были рассеяны по всему ядру, нити хроматина расположены по периферии.

В ядрах эпителиоцитов истмуса наблюдалось густое сплетение нитей хроматина. В ядрах фиброцитов подслизистой зоны (ближе к одному из по-

люсов) обнаруживались 2-3 ядрышка, хроматин располагался по всей окружности внутренней каемки ядра. В миоцитах 5-7 ядрышек находились ближе к периферии ядра, нити хроматина в виде толстой линии размещались по его внутренней каемке. Ядра мезотелия были равномерно окрашены в фиолетовый цвет, интенсивно окрашенные ядрышки располагались по периферии.

Цитоплазма эпителиальных клеток при проведении гистохимической реакции по Эйнарсону равномерно окрашивалась в матово-синий цвет, местами встречались редкие глыбки РНП темно-синего цвета, которые располагались апикально.

Мышечная оболочка яйцеводов была образована тремя пучками гладких мышц. Наиболее развитым оказался циркулярный, который располагался между двумя тонкими слоями продольных мышечных волокон. Наибольшей толщины мышечная оболочка достигала в истмусе (500 мкм), в ампуле она постепенно утончалась (70 мкм) и отсутствовала около воронки. Наружный мышечный пучок был хорошо развит в брыжейке в районе истмуса, особенно ближе к матке, но в ампуле (и особенно у воронки) имелись лишь отдельные мышечные волокна.

Серозная оболочка яйцевода состояла из волокнистой соединительной ткани. Со стороны целома она была покрыта однослойным эпителием. Ее толщина достигала 50-60 мкм. Мезотелиальные клетки имели вид пластинок полигональной формы, плотно прилегали друг к другу, образуя сплошной пласт. Ядра овальной или округлой формы содержали 1-2 небольших ядрышка и мелкие глыбки хроматина. Цитоплазма мелкозернистая. Мезотелий отделялся от подлежащей соединительной ткани базальной мембраной. Рыхлая волокнистая соединительная ткань состояла из клеток и межклеточного вещества. В составе межклеточного вещества присутствовали коллагеновые и эластические волокна. В рыхлой соединительной ткани располагалось большое число кровеносных и лимфатических сосудов.

У коров в первой половине стельности древовидное строение ворсинок было сглажено, полость яйцеводов расширена. На поверхности эпителия и в полости присутствовало небольшое количество гомогенно окрашенной розовой массы, которая в складках имела сетчатое строение. Границы эпителиальных клеток были выражены неравномерно. Ядра реснитчатых эпителиоцитов имели вытянутую форму, прилегали к базальной мембране, занимая большую часть клетки. Ядра секреторных клеток овальной формы, окрашенные менее интенсивно, располагались ближе к полости. Каемка реснитчатого эпителия в виде интенсивно окрашенной красной линии хорошо просматривалась и была непрерывной по всей окружности эпителия.

В соединительной ткани вершин складок слизистой оболочки обнаруживалось большое число фиброцитов, фибробластов и гистиоцитов. В месте перехода в мышечный слой волокна соединительной ткани были набухшими. Сосуды в местах перехода расширены. Мышечный слой равномерной толщины, соотношение для кольцевого и продольных слоев 3:1. Ядра миоцитов веретенообразной формы. Артериолы и вены этого слоя расширены. Мышечный слой оказался увеличен в 1,5 раза по сравнению с таковым у циклирующих животных. Волокна соединительной ткани были набухшими. Между ними обнаруживались значительные просветы. Сосуды в виде щелей неправильной формы. Вены и артериолы переполнены кровью. В толще соединительной ткани находилось большое число липоцитов округлой формы, расположенных группами.

Тучные клетки при окрашивании по Паппенгейму содержали крупное продолговатое ядро темно-фиолетового цвета с размытой структурой цитоплазмы. Они располагались в собственном слое рыхлой неоформленной со-

единительной ткани слизистой оболочки. Их число в среднем составляло 6-10 клеток, в мышечном слое — 3-5 клеток, в соединительной ткани серозной оболочки — 1-2 клетки в поле зрения микроскопа при увеличении $\times 400$.

При проведении гистохимической реакции по Фельгену в ядрах реснитчатых клеток обнаруживались 1-3 ядрышка. В эпителиальных клетках ампулы число ядрышек увеличивалось до 4. Нити хроматина располагались по периферии ядра. В секретирующих клетках 1-2 ядрышка были расположены по центру ядра, нити хроматина — по периферии. В ядрах фиброцитов подслизистого слоя 2-3 ядрышка находились на одном из полюсов ядра, хроматин — по всей окружности внутренней каемки ядра. В миоцитах 5-7 ядрышек размещались ближе к периферии ядра, нити хроматина в виде толстой линии — по внутренней каемке ядра. Ядра мезотелия были равномерно окрашены в фиолетовый цвет, в центре находился хроматин (зона просветления), интенсивно окрашенные гранулы располагались по периферии.

При проведении гистохимической реакции по Эйнарсону цитоплазма эпителиальных клеток оказалась гомогенно окрашена в матово-синий цвет, местами встречались редкие глыбки РНП темно-синего цвета, которые располагались апикально. Цитоплазма миоцитов гомогенная, желтоватого цвета.

Все эти изменения, обнаруженные у коров с разным состоянием репродуктивной системы, оказывают влияние на проходимость яйцевода: абсолютную с высоким коэффициентом проходимости (КП = 224,0) выявили у животных с субинволюцией матки, абсолютную со средним коэффициентом — у стельных коров (КП = 197,2) и телок (КП = 207,9), абсолютную с низким коэффициентом (КП = 177,2) — у коров, больных эндометритом. Абсолютная непроходимость, зафиксированная у 5 % телок, объясняется врожденными аномалиями развития яйцеводов, при которых они имеют слепой конец и при продувании расширяются. При субинволюции матки яйцеводы находились в состоянии абсолютной проходимости. Показатель КП в правом яйцеводе при его среднем значении 193 лишь в одном случае опустился до 120. В левом яйцеводе значение коэффициента было довольно высоким; минимальное составляло 190, максимальное — 280. При эндометрите у 14 % коров отмечена относительная непроходимость. Канал яйцевода был закупорен большим количеством экссудата. Кроме того, хронические воспалительные процессы сопровождались разрастанием соединительной ткани стенки органа и параовариальных структур. Коэффициент проходимости у стельных коров в первую и вторую треть беременности варьировал. В первую треть значение КП левого яйцевода было ниже, с 4-го мес оно начинало превышать значение коэффициента проходимости правого. С 4-го мес показатели стабилизировались и плавно повышались как для правого, так и для левого яйцевода. Изменения в правом и левом яйцеводах происходили одинаково (независимо от срока стельности); этот факт подтверждает положительный коэффициент корреляции ($r = +0,85$) между КП правого и левого яйцеводов.

Таким образом, эпителий яйцевода у коров представлен реснитчатыми и секреторными клетками, которые в фолликулярную фазу полового цикла интенсивно секретируют липопротеиды в ампуле и истмусе. Мышечный слой яйцеводов представлен тремя пучками: внутренним кольцевым и двумя продольными. Кроме того, мышечные пучки встречаются в соединительной ткани серозной оболочки. В стенке яйцеводов гранулированные тучные клетки выявляются периваскулярно и в рыхлой соединительной ткани. Их дегрануляция закономерно усиливается в фолликулярную фазу полового цикла. У стельных коров древовидное строение складок слизистой оболочки яйцеводов сглаживается, за счет чего величина

просвета органа увеличивается, интенсивно функционируют секреторные клетки, в подслизистой зоне скапливаются гранулированные формы тучных клеток, утолщается и уплотняется мышечный слой, формируется жировая капсула мезосальпинкса. Предложенный нами способ диагностики непроходимости яйцеводов (Патент РФ на изобретение № 2260377) позволяет установить скрытую патологию этих органов, проявляющуюся в виде повышенной проходимости, относительной и абсолютной непроходимости. Повышенная проходимость наблюдается при субинволюции матки и объясняется расширением просвета яйцевода за счет гипотонии мышечных волокон и их замедленной ретракции. Относительная непроходимость отмечается при хроническом эндометрите и характеризуется скоплением слизи, проникновением экссудата из матки и развитием воспаления слизистой оболочки яйцевода. Абсолютная непроходимость проявляется при гипоплазии яйцевода как осложнение сальпингита вследствие терапевтических процедур или травмирования органа при ректальной пальпации.

ЛИТЕРАТУРА

1. А м е р х а н о в Х. Племенная база молочного и мясного скотоводства Российской Федерации и перспективы развития. Молочное и мясное скотоводства, 2010, 8: 2-5.
2. Н е ж д а н о в А.Г., Л о б о д и н К.А., Д ю л ь г е р Г.П. Гормональный контроль за воспроизводством крупного рогатого скота. Ветеринария, 2008, 1: 3-7.
3. Б а й м и ш е в Х.Б. Морфофункциональная характеристика маточных труб крупного рогатого скота. В сб: Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарии и зоотехнии. Самара, 2003: 11-13.
4. Д ю д е н к о В.С. Прибор для диагностики проходимости яйцепроводов у коров. Ветеринария, 1968, 4: 81.
5. П е т р о п а в л о в с к и й В.В. Некоторые данные о функциональном состоянии яйцеводов у коров по результатам пертубации. Тр. УСХИ (Киев), 1970, XVI(4): 280-291.
6. К е с с у В.М., Н о а к е s D.E. Uterine tube abnormalities as a cause of bovine infertility. Veter. Rec., 1985, 117(6): 122-124.
7. К i k u c h i M.M., О н у м а Н., О н о Н. e.a. Application of the oviduct insufflation test to Japan cattle. J. Anim. Reprod., 1990, 36(3): 151-158.
8. О б о s h i К. Studies on diagnosis and treatment of oviductal diseases in dairy cows: Application of a tubal-insufflation apparatus and treatment with intra-uterine infusion. Japan. J. Anim. Reprod., 1989, 35(1): 14-19.
9. С к о в о р о д и н Е.Н., Б о г о л ю к С.С. Способ диагностики непроходимости яйцеводов. Пат. № 2260377 РФ. Опубл. 20.09.2005. Бюл. № 26.
10. М е р к у л о в Г.А. Курс патогистологической техники. Л., 1969.
11. К о н о н с к и й А.И. Гистохимия. Киев, 1976.

ФГОУ ВПО Башкирский государственный аграрный университет,
450001 г. Уфа, ул. 50 лет Октября, 34,
e-mail: skovorodinen@mail.ru

Поступила в редакцию
3 июля 2008 года

FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF OVIDUCTS AND THEIR PATENCY IN COWS

E.N. Skovorodin, S.S. Bogolyuk

S u m m a r y

The clinical, macro- and micromorphological methods permit to study the oviduct in cows of the Black-and-White breed. The oviduct epithelial tissue is ciliated and secretory cells, muscular layer — three muscle bundle. In oviduct wall the mast cells are presented in perivascular space and areolar tissue. Their degranulation was increased during follicular phase of sexual cycle. In pregnant cows the dendroid structure of folds in oviduct mucous coat smoothes out, as a result of that the size of organ's opening increases, the secretory cells function intensified, the granular forms of mast cells accumulate in submucous zone, the muscular layer becomes more thick and solid, the adipose capsule of mesosalpinx is formed. A method for diagnosis of cow oviduct patency is proposed, which allows to determine the latent pathology of these organs, manifested as a heightened patency, a relative patency and an absolute obstruction.