УДК 619:591.465.31:636.2

DOI: 10.31563/1684-7628-2019-49-1-87-99

Е.Н. Сковородин

ВЛИЯНИЕ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА ЭМБРИОГЕНЕЗ ЯИЧНИКОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

***Ключевые слова:* эмбриональное развитие; яичники плода; морфогенез яичников; коровы; патология обмена веществ.**

Введение. Ущерб от бесплодия крупного рогатого скота очень значителен. В США и ряде стран Западной Европы ежегодный уровень выбраковки коров достигает 34 % в основном за счет длительного бесплодия [37]. Восполнить эти потери можно лишь интенсивным вводом в маточное стадо первотелок. Этот процесс сдерживают следующие факторы. Во-первых, у них гораздо чаще, чем у полновозрастных коров,

возникают проблемы с оплодотворением. Во-вторых, в сельхозпредприятиях Российской Федерации наступление половой и физиологической зрелости у телок нередко задерживается на срок от шести до двенадцати месяцев [38], а при позднем вступлении телок в пору продуктивной жизни потребность в них возрастает до 50 % от числа основного стада, что является следствием не только скудного кормления растущих живот-

ных, но и врожденным бесплодием, имеющим генетическую природу или обусловленным болезнями беременных [37]. К числу внешних факторов, предрасполагающих к возникновению болезней беременных, следует, прежде всего, отнести погрешности в кормлении, включая общее голодание, хронический дефицит тех или иных питательных веществ, недоброкачественные корма, содержащие ядовитые вещества, микотоксины и т. д. Развивающаяся при этом фетоплацентарная недостаточность проявляется не только абортами, но и нарушениями в развитии плода (гипотрофия, иммунодефициты и т. п.) [39], а также последующим снижением способности телок к оплодотворению вследствие аномалий половых органов [28, 30].

Цель исследования – изучить функциональную морфологию овариальных желез в пренатальном онтогенезе в норме и при патологии обмена веществ у коров-матерей. Научная новизна настоящей работы заключается в том, что впервые с помощью комплекса макроскопических, морфометрических, гистологических, гистохимических и электронно-микроскопических методов проведено подробное комплексное исследование формирования яичников крупного рогатого скота в пренатальном онтогенезе в норме и при патологии течения беременности у коров-матерей. Изучено распространение аномалий и пороков развития органов размножения телок. Впервые описаны поликистоз яичников плодов крупного рогатого скота как форма гиперплазии овариальных желез, а также подробно изучены причины и морфологические проявления гипоплазии яичников, связанные с нарушениями в системе мать – плацента – плод. Представленное многолетнее исследование позволяет внести ясность в эти вопросы и разработать конкретные практические меры профилактики врожденного бесплодия.

Из литературы известно, что нормальное развитие яичников в эмбриональный период в дальнейшем определяет плодовитость и репродуктивную функцию половозрелого животного [9, 26]. Например, аномалии внутриутробного развития крупного рогатого скота могут проявляться снижением количества полноценных примордиальных фолликулов, что ведет к снижению полноценных эмбрионов [14]. Гонады вначале обладают лабильной организацией, затем формируются яичники или семенники [20, 27]. Развитие репродуктивных органов – это сложный процесс, реализующийся на протяжении нескольких стадий онтогенеза. Выяснение механизмов органогенеза позволяет четко определять этиопатогенез аномалий и уродств репродуктивной системы, следовательно, целена-

правленно профилактировать эти патологические процессы.

Первым этапом половой дифференциации является момент оплодотворения, когда половая хромосома спермия определяет генетический пол зиготы. Этот этап является первой критической фазой дивергентной дифференциации пола, когда изменение числа хромосом может приводить к уродствам и нарушениям воспроизводительной функции в дальнейшем. Второй этап – это появление морфологических признаков соматического пола.

Мезонефрические протоки и парамезонефрические (мюллеровы) протоки [16]. Под влиянием тестостерона мезонефрические протоки развиваются в семявыводящие каналы, формируются предстательная и пузырьковидная железы. Под действием мюллерова ингибирующего фактора дегенерируют парамезонефрические протоки [21]. Вероятно, этот фактор ингибирует развитие овариальных желез [23].

Индифферентные гонады содержат мигрировавшие гоноциты, а также клетки покровного эпителия, соединительнотканной мезенхимы и мезонефроса. Последний оказывает влияние на дальнейшую эволюцию соматических элементов и половых клеток в зачатках гонад [16].

Формирование гонад у крупного рогатого скота происходит в конце первого месяца развития у эмбрионов длиной тела 8–11 мм. Первые гоноциты в гонадах этого вида животных обнаруживаются у зародышей 13 мм длиной, то есть возрастом 30 суток [16]. Дифференциация в сторону яичников у эмбрионов начинается в конце зародышевого периода. Она увеличивается в размерах за счет роста эпителия и мезенхимной основы. К тридцати пяти суткам в гонаде обнаруживаются зачатковый эпителий, мезенхима с развивающимися эпителиальными тяжами и гоноцитами [16]. В этот период из клеток мезонефрического происхождения, иммигрирующих в гонады зародыша, развивается сеть яичника [16]. У шестинедельного эмбриона коровы гонады уже дифференцированы по полу. Весь орган заполнен корковым веществом от покровного эпителия, стромы и до мезонефроса, на котором яичник зафиксирован. К началу седьмой недели происходит отделение органа от мезонефроса и формирование сосудистой ножки яичника (мезовариума) [18].

У полуторамесячных плодов половые железы отделены от мезонефроса, но связаны с ним воротами овариальной железы [18]. Позднее овариальные железы отличаются от семенников по гистологическим признакам. Очень рано, задолго до формирования фолликулов у коров яичники начинают продуцировать стеро-

идные гормоны. При этом в зачатке яичников формируются клеточные тяжи, состоящие из соматических клеток, оогоний. По гистологическому строению в этот период зачатки гонад самок и самцов пола становятся весьма схожими. Наличие в зачатке тестикула Лейдиговских клеток – единственный гистологический критерий, позволяющий различить пол зачатка гонады [2]. Происходит линейное увеличение объема яичника во время пренатального онтогенеза [28–30]. Масса яичника у зародышей увеличивается быстрее, чем масса тела. У крыс, к примеру, эти процессы после рождения идут параллельно [4].

Исследователи констатировали вариабельность макроскопической структуры яичников, особенно в последний месяц беременности. Рост и развитие фолликулов у телочек-эмбрионов начинает очень рано. Значительная часть фолликулов, не достигая даже вторичной структуры, атрезируются, но некоторая часть их превращается в третичные фолликулы, достигая 4 мм в диаметре. Овуляции автор не наблюдал [10].

Период интенсивного роста яичников описывают у 6–8-месячных плодов крупного рогатого скота. Отмечают развитие фолликулов вплоть до полного созревания и овуляции, без формирования лютеиновых структур. Овариальные железы зародышей напоминают в этот период яичники половозрелого животного. К третьему месяцу эмбриогенеза происходит начало массового роста фолликулов вплоть до образования полости, видимой невооруженным глазом [14].

У плодов шестимесячного возраста фолликулы видны на поверхности яичников. У некоторых животных они могут быть заполнены кровью. Однако указывается, что у некоторых шестимесячных плодов встречаются органы, в которых не обнаруживают развитых фолликулов, что свидетельствует о большой вариабельности. У новорожденных яичники уже хорошо развиты и достигают размеров более восемнадцати мм, что придает их поверхности пузырчатый вид. Фолликулы достигают пяти миллиметров в диаметре, но большинство их подвергается заполнению полости соединительнотканными элементами, придающими им вид рубца (облитерация). Вероятно, это можно рассматривать как признак начала эндокринной функции овариальных желез, необходимой для формирования всего организма самки [32].

Некоторые исследователи отмечали формирование в яичниках 7–8-месячных плодов макроскопически выявляемых полостных фолликулов. Облитерационной и кистозной атрезии подвергались вторичные и третичные фолликулы к девяти месяцам. Поэтому паренхима коркового вещества гонад не содержала растущих и созре-

вающих фолликулов [35]. Значительное количество фолликулов у поздних плодов крупного рогатого скота были в состоянии атрезии. Только часть из них подвергалась лютеинизации. Лютеиновые атретические тела у плодов образованы гипертрофированными клетками теки и гранулезы. По своей структуре эти атретические тела напоминали желтые тела половозрелых животных [12].

Представленная статья посвящена изучению формирования и развития овариальных желез крупного рогатого скота в эмбриогенезе у здоровых коров-матерей и при патологии обмена веществ.

Материал и методы. В хозяйствах исследовали рационы кормления и условия содержания коров. Клиническое состояние животных определяли стандартными методами, а состояние обмена веществ подтверждали с помощью биохимического исследования крови. Отбирали животных и классифицировали их на следующие группы (таблица 1). Первая группа – коровы без патологии обмена веществ и полученные от них плоды и новорожденные телята ($n = 91$). Вторая группа – коровы, кормление которых было энергетически неполноценным, рационами, несбалансированными по основным питательным элементам, содержащиеся без активного движения, с признаками нарушения обмена веществ (кетоз, нарушения минерального обмена, гиповитаминоз А), подтвержденные биохимическим исследованиям крови, полученные от них плоды и новорожденные телята ($n = 71$).

На мясокомбинате после убоя проводили тщательное исследование туш и органов коров и полученных от них плодов. Возраст плодов определяли по дате осеменения коровы, уточняли по массе и длине тела от основания хвоста до затылочной кости (crown-rump length). Новорожденных телят в возрасте до пятнадцати суток убивали для последующих органометрических, гистологических, гистохимических и электронномикроскопических исследований. Все эксперименты были проведены в соответствии с законодательством Российской Федерации (Закон РФ «О ветеринарии»; Уголовный кодекс Российской Федерации. Статья 245. «Жестокое обращение с животными»; Приказ Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и с учетом Европейской конвенции по защите домашних животных (Council of Europe – ETS no. 125 – European Convention for the Protection of Pet Animals) [40, 41, 42, 43]. Материал фиксировали в жидкости Карнуа, обезвоживали в спиртах

возрастающей концентрации и заливали в парафин. На ротормном микротоме получали срезы толщиной 5 мкм и после депарафинации окрашивали их гематоксилином-эозином и по Паппенгейму. Коллагеновые волокна обнаруживали по ван Гизону, по Маллори. Дезоксирибонуклеопротеиды и рибонуклеопротеиды выявляли в срезах по Браше и Эйнарсону, по Фельгену, гли-

коген и нейтральные гликопротеиды выявляли по МакМанусу, кислые гликозаминогликаны определяли по Сидмену. После фиксации в жидком азоте в криостате получали срезы и в них гистоэнзимологически, с подсчетом количества гранул на стандартной площади среза, определяли активность щелочной и кислой фосфатазы по Берстону [22].

Таблица 1 Характеристика использованного материала

Возраст плодов и телят	Первая группа	Вторая группа
Ранний и средний этап пренатального онтогенеза		
От 20 до 90 суток	10	10
Поздний этап пренатального онтогенеза		
3 месяца	10	5
4 месяца	10	5
5 месяцев	10	5
6 месяцев	11	10
7 месяцев	10	7
8 месяцев	10	7
9 месяцев	10	7
Всего плодов	81	56
Новорожденные телята		
1–14 суток после рождения	10	15
Всего животных	91	71

Для электронной микроскопии материал фиксировали в охлажденном 2,5 % глутаральдегиде на фосфатном буфере с pH 7,3. Фиксировали в 1 % растворе осмиевой кислоты на фосфатном буфере. Кусочки заливали в эпон-аралдит. Ультратонкие срезы монтировали, контрастировали цитратом свинца и просматривали в

$$\text{объем яичника} = (4/3 \pi) \times (0,5 \times \text{Дл.}) \times (0,5 \times \text{Шр.}) \times (0,5 \times \text{Тлщ.}),$$

где Дл. – длина, Шр. – ширина, Тлщ. – толщина органа [30].

Для статистического анализа использовали критерии Стьюдента, Т-критерия Уайта, Х-критерия Ван-дер-Вардена в зависимости от распределения.

Результаты исследований и их обсуждение. Установили, что индифферентные гонады бычков и телочек закладываются в начале пренатального онтогенеза на двадцатые – тридцать четвертые сутки в виде выпячиваний вентромедиальной поверхности мезонефросов. В них различается целомический эпителий, мезенхимная основа, синусоидные капилляры и оогонии. Гонады быстро растут за счет митотического деления клеток. Морфологически яичники можно различить у 34–45-суточных зародышей. Они содержат основные структуры органа: мезовариум, корковое вещество с сетью, мозговое вещество, покровный эпителий.

электронном микроскопе ЭМФ-100И при увеличении на 6000–22000. У ранних эмбрионов получали с дорсо-каудальной части туловища серийные срезы. У более старших плодов определяли линейные показатели овариальных желез. Объем овариальных желез плодов рассчитывали по предложенной нами формуле:

Поскольку последующее формирование и развитие яичников определяется интенсивным митотическим делением оогоний и вступлением их в профазу I мейоза, формированием яйценосных шаров, плотность расположения половых клеток в корковом веществе к трем месяцам внутриутробного периода значительно увеличивается. У четырехмесячных плодов в глубоких зонах коркового и мозгового вещества формируются фолликулы. К рождению фолликулярные стадии половых клеток преобладают, а оогонии, расположенные в яйценосных шарах, исчезают. Электронно-микроскопическое и гистохимическое исследование развивающихся фолликулов свидетельствует об асинхронном оогенезе у плодов крупного рогатого скота. В яичниках обнаруживаются половые клетки на нескольких стадиях профазы I мейоза с разным морфофункциональным состоянием ядра (рисунки 1–6).

Рисунок 1
Яичник 6-мес. плода. Ооцит на стадии
диплотены профазы I мейоза. Ув. 12000

Рисунок 2
Яичник 7-мес. плода. Ооцит на стадии
диплотены профазы I мейоза. Ув. 12000

Рисунок 3
Примордиальный фолликул 7-мес. плода.
Ооцит окружен фолликулярными клетками. Ув. 12000

Рисунок 4
Ооцит 9-мес. плода на стадии
диплотены профазы I мейоза. Ув. 12000

Рисунок 5
Электронная микрофотография коркового вещества
Ооцит яичника 9-мес. плода. Ув. 22000

Рисунок 6
Яичник 7-мес. плода. Цитоплазматические включения
в ядре ооцита. Ув. 22000

Апоптоз половых клеток начинается после сорока пяти суток плодного развития и регистрируется в дальнейшем на протяжении всей жизни. Интенсивность программируемой гибели обеспечивает постепенное исчезновение оогоний и ооцитов в составе яйценосных шаров, отбор растущих фолликулов, из которых в дальнейшем формируются антральные стадии пузырьков. Апоптоз половых клеток проявляется нарушениями мейотических преобразований ядра и цитоплазмы, а при патологии – наличием аномальных включений (рисунки 7, 8). Необходимо отметить, что при патологии основную роль в исчезновении половых клеток играет морфофункциональное состояние гистиона фолликула, непосредственно влияющее на развитие этих структур (рисунки 9–12).

В конце шестого месяца внутриутробного развития плода в яичниках невооруженным гла-

зом можно увидеть единичные полостные фолликулы. Мы считаем, что это нормальные структуры, развитие и инволюция которых играет важную роль в формировании коркового и мозгового вещества овариальных желез. Исследовали наличие асимметрии в развитии овариальных желез. Для этого мы определяли массу и объем правого и левого яичников, начиная с трехмесячного возраста плода. Правый яичник тяжелее и крупнее, чем левый. Разница достоверна при $P < 0,05$. Особенно это выражено с момента интенсивного развития полостных фолликулов (7 месяцев внутриутробного развития). Многослойные и полостные фолликулы подвергаются различным формам атрезии. Установили, что заполнение полости овариальных фолликулов плодов крупного рогатого скота может протекать двумя путями. Первый тип, наиболее часто встречающийся, – облитерационный.

Рисунок 7
Миелопо-добные включения в цитоплазме ооцита.
Ув. 22000

Рисунок 8
Ядро и цитоплазма ооцита в первичном фолликуле
новорожденной телки. Ув. 12000

Рисунок 9
Фолликул новорожденной телки.
Ооцит, фолликулоцит, базальная мембрана
и окружающая соединительная ткань. Ув. 8000

Рисунок 10
Межклеточные контакты
в первичном фолликуле новорожденной телки.
Ув. 12000

Рисунок 11
Первичный фолликул новорожденной телки.
Прозрачная зона и микроворсинки. Ув. 10000

Рисунок 12
Фолликулярные клетки, окружающие
близко расположенные ооциты. Ув. 10000

Он характеризуется дистрофией и атрофией фолликулоцитов и заполнением полости соединительной тканью. Второй тип – лютеинизация – характеризуется гиперплазией клеточных элементов гранулезы и внутренней теки. Клеточные элементы этих структур заполняют полость пузырька. Этот тип атрезии мы обнаруживали в последний месяц стельности, когда фолликулы яичника плода становятся достаточно крупными. Описанную многими авторами так называемую кистозную атрезии мы не обнаруживали, хотя формирование кист при патологии возможно.

По нашим данным, покровный эпителий не участвует в формировании структур коркового и мозгового вещества яичников. Эпителиоциты выполняют секреторную функцию. Интенсив-

ность секреции определяется уровнем гормонов, секретируемых яичниками, что ярко проявляется при патологии. В этом случае эпителий и подлежащая белочная оболочка формирует структуры, напоминающие вдавления, каналы, инклюзионные кисты или выступающие над поверхностью образования типа папиллом.

Сеть яичника (производная мезонефроса) формируется на самых ранних стадиях пренатального онтогенеза. В два месяца пренатального развития в ней можно определить следующие части: внутрияичниковую, соединяющую и внеяичниковую. В дальнейшие периоды онтогенеза они сохраняются и развиваются пропорционально размерам органа и выполняют, прежде всего, экскреторную функцию. Активизация внутрияичниковой части сети при формирова-

нии фолликулов косвенно может свидетельствовать о её участии в формировании основных структур яичника.

При патологии обмена веществ у коров-матерей, у поздних плодов развивается гипоплазия овариальных желез (рисунок 13). Яичники характеризуются маленькими величиной и массой, отсутствием в них антральных фолликулов, массовым исчезновением генеративных элементов, гаметопатиями.

У трех коров с острыми интоксикациями обнаружили увеличение количества и величины антральных фолликулов в яичниках плодов, сопровождающееся их кистозными изменениями (рисунок 14), и кровоизлияния в полость фолликулов. По нашему мнению, эти изменения

Рисунок 13
Влагиалище, матка и яичники 9-мес. плода.
Гипоплазия яичников плода

Из литературы до сих пор не совсем ясно, как формируются органы размножения самок на ранних этапах онтогенеза. По нашим данным, появление первичных недифференцированных гонад у коров происходит в эмбриогенезе довольно рано. Уже у двадцатисуточных плодов можно обнаружить пролиферацию целомического эпителия на поверхности мезонефроса. В гонадах эмбрионов, не имеющих признаков пола, уже выявляется мезенхимная основа, единичные оогонии, целомический эпителий, формируются синусоидные капилляры. Это подтверждается и исследованиями других авторов, которые обнаруживали эти образования у эмбрионов в несколько иные сроки эмбриогенеза [16]. Очень важно отвергнуть представление о том, что гонады формируются позднее других органов, поскольку половая дифференциация тела и органов начинается довольно рано и на этот процесс влияют разные гормональные профили самок и самцов.

Позднее у сорокапятисуточных эмбрионов гонады интенсивно растут и дифференцируются в яичники или семенники, что происходит на фоне регрессии первичной почки. В яичниках появляются основные структуры органа: мезовариум, корковое и мозговое вещество с сетью

можно рассматривать как форму гиперплазии интерстициальной ткани овариальных желез или, другими словами, как поликистоз яичников плода, связанный с нарушением гормональных взаимоотношений между матерью и плодом (фетоплацентарная недостаточность).

В нашей работе мы исследовали формирование яичника как целостного органа. Для этого применяли комплекс органомерических, гистологических, гистохимических и электронно-микроскопических методов с учетом течения стельности у коров-матерей. Это позволило нам интегрировать результаты, полученные на разных уровнях исследования, и представить формирование овариальной железы в целом с учетом сложных внутриорганных связей.

Рисунок 14
Влагиалище, матка и яичники 9-мес. плода.
Поликистоз яичников плода

яичника, покровный эпителий. На этом основании по гистологическим признакам их можно отличить от семенников [18].

Мы впервые определили в этом возрасте объем яичника с помощью объемной реконструкции серийных срезов, абсолютный и относительный объемы коркового и мозгового вещества, плотность расположения половых клеток. К двум месяцам масса и объем яичников заметно увеличиваются. Больше всего растет объем мозгового вещества по отношению к корковому, что связано с выполнением трофической функции. В корковом веществе интенсивно делятся оогонии, число которых значительно увеличивается (в 6 раз). Некоторые авторы рассматривают покровный эпителий как «зародышевый», формирующий «эпителиальные тяжи» и даже генеративные элементы. Гистохимическое и электронно-микроскопическое исследования свидетельствуют о том, что даже на ранних стадиях развития плода он имеет мезотелиальный характер и обладает выраженной секреторной активностью [16]. Признаков разрастания покровного эпителия вглубь яичника между клетками мезенхимы или участие его в гаметогенезе мы не обнаружили. В органе четко различается поверхностная зона, где происходит ми-

тотическое размножение половых клеток, и сосудистая мозговая зона.

У млекопитающих в течение всей репродуктивной жизни подавляющее большинство половых клеток гибнет. В исследованиях, посвященных динамике этого процесса, в яичниках плодов млекопитающих выявлены волны дегенерации [33, 34]. Однако описание механизмов элиминации половых клеток противоречивы [8]. Мы установили, что к двум месяцам внутриутробного развития около 2 % оогоний имеют признаки деструкции ядра и цитоплазмы. Интенсивность и морфология этого процесса в дальнейшем имеют в каждом возрастном периоде выраженные особенности.

Средний этап пренатального онтогенеза характеризуется формированием основных структур овариальных желез. Уже появляется и эндокринная функция овариальных желез, которую мы констатировали с помощью гистохимических и гистоэнзимологических методов. Биохимические исследования других авторов свидетельствуют о способности к образованию стероидных гормонов в этот период. В небольшом количестве образуется тестостерон, андростендиол, эстрон и отмечается значительный уровень эстрадиола [2, 4]. Эмбриологи и патологи склонны рассматривать некоторые моменты развития зародыша, как «критические». Во время этих фаз качественно меняется структура и функция биологических систем, а организм становится крайне чувствителен к неблагоприятным факторам, нарушающим гомеостаз и течение беременности [20, 27].

Мы выделяем три критические фазы развития репродуктивной системы от оплодотворения до двухмесячного возраста плода. Первая критическая стадия – это оплодотворение. При нарушении числа хромосом или при неполноценности гамет может произойти не только гибель зиготы, но и возникнуть химеризм по XY-хромосомам, мономия Тернера, гоносомальные анеуплоидии, X-трисомии и т. п. Давно доказано внегонадное происхождение половых клеток [36]. На протяжении всего изученного периода онтогенеза мы на своих препаратах не наблюдали гаметогенез из стромальных овариальных структур, покровного эпителия других компонентов зачатков. Первичные половые клетки мигрируют в гонады из желточного мешка эндодермы [10, 11, 12]. Это происходит у крупного рогатого скота в первый месяц внутриутробного развития. Данную стадию мы рассматриваем как вторую критическую фазу, т. к. в это время могут возникать нарушения миграции гонотицитов и гаметогенеза. Третьей критической фазой

является установление гонадного пола в возрасте сорок пять суток, когда могут развиваться гермафродитизм и фримартинизм.

Во время позднего, завершающего этапа эмбрионального развития происходят не менее значительные события. Прежде всего, это выражается в формировании примордиальных, первичных, вторичных и даже третичных фолликулов. После колонизации зачатков гонад первичными половыми клетками, деления их и вступления в профазу I мейоза ооциты переходят на стадию диплотены. Начинается процесс фолликулообразования [31, 35].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что к трем месяцам внутриутробного развития половые клетки в корковом веществе яичников располагаются очень тесно, поскольку оогонии и ооциты находятся в составе яйценосных шаров. Тщательное морфологическое исследование серийных срезов яичника не позволяет утверждать, что в этом периоде формируются фолликулы; это соответствует результатам, полученными другими авторами [1, 14, 32]. Примордиальные фолликулы, по нашим данным, появляются у четырехмесячных плодов, хотя в составе яйценосных шаров преобладают оогонии и ооциты. В дальнейшем происходит асинхронное вступление ооцитов в фолликулярную стадию. Их переход в стадию диплотены профазы I мейоза, формирование фолликулярной оболочки выражаются яркими структурными изменениями. Центральное положение занимает ядро. В связи со значительной транскрипционной активностью, накоплением ДНК происходит деконденсация хромосом. Активно функционируют ядрышки, которые характеризуются нуклеонемной структурой. Увеличивается число и дифференциация органелл в цитоплазме. Появляется наиболее характерная структура примордиальных ооцитов – парануклеарный комплекс. Заметно повышается активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов. Растет объем ядра и цитоплазмы.

Большинство половых клеток к семимесячному возрасту окружены фолликулярным эпителием, дифференцируется их ультраструктура. Увеличивается степень конденсации хромосом. Теряют нуклеонемную структуру и становятся более осмиофильными ядрышки. Появляется комплекс дилатаций в ядерной оболочке. Вероятно, наблюдаемые внутри дилатаций включения могут быть предварительной стадией в продукции предшественников митохондриальных телец [8].

Наличие так называемых «капюшоноподобных» крист митохондрий, по нашим данным, является видовой особенностью ооцитов плодов крупного рогатого скота. Подобные своеобразные митохондрии и небольшое количество крист в них свидетельствует о том, что они выполняют большое количество побочных функций [7]. Изменения ядерно-цитоплазматических отношений в ооцитах примордиальных фолликулов сопровождаются изменением взаимоотношений с фолликулярными клетками. Последние располагаются в тесной связи с клетками, не имеют специальных примыкающих структур и отделяют половые клетки от окружающей соединительной ткани коркового вещества. Фолликулярные клетки не богаты органеллами и их ультраструктура и гистохимия свидетельствуют о невысокой функциональной активности.

Фолликулогенез сопровождается перестройкой стромально-сосудистого компонента органа. К четырехмесячному возрасту корковое вещество занимает две трети объема яичника, что происходит на фоне умеренного роста массы и объема органа. В дальнейшем отмечается неравномерный ускоренный рост мозгового вещества органа. А ближе к рождению увеличение объема коркового вещества снова опережает рост мозгового вещества. Меняется структура соединительной стромы ткани. При наличии яйценосных шаров межклеточное вещество слабо развито. При появлении фолликулов, особенно антральных, происходит развитие волокнистого компонента соединительной ткани, ускоряется рост мозгового вещества, сосудов и нервов органа. У четырехмесячных плодов группы половых клеток окружены общей соединительнотканной оболочкой, а к концу внутриутробного периода каждый фолликул имеет собственную гранулезу и текальную оболочку. Развитие фолликулов стимулирует рост стромально-сосудистого компонента органа. Она, в свою очередь, выполняя опорную и трофическую функцию, обеспечивает дифференциацию и сохранение пула половых клеток [5, 17]. Развитие мозгового вещества также направлено на выполнение трофической функции. Образование примордиальных фолликулов, а затем и антральных фолликулов невозможно без качественной перестройки соединительной ткани, выполняющей механическую, трофическую, защитную и структурно образовательную функции [24].

Проведенное нами комплексное многоуровневое морфологическое исследование соединительной ткани, окружающей фолликулы, свидетельствует о том, что она отличается от обычной

рыхлой соединительной ткани других органов. Она характеризуется, прежде всего, присутствием малодифференцированных соединительнотканых клеток. Последние имеют выраженную отростчатую форму, округлое, богатое эухроматином ядро и в то же время содержат мало рибонуклеопротеидов в цитоплазме. Исследователи рассматривают подобные клетки как blastopodopodobnye или, точнее, fibroblastopodopodobnye клетки, которые способны развиваться в интерстициальные клетки [16]. Видимо, тканевые структуры, окружающие ооцит, правильно рассматривать как своеобразный гематофолликулярный барьер, альтеративные изменения которого могут приводить к массовой гибели фолликулов [5]. Что мы и наблюдали у поздних плодов, полученных от коров с патологией обмена веществ. Кормление этих животных было энергетически неполноценным и не сбалансированно по основным питательным веществам. Диагностировали недоразвитие органов размножения плодов, и прежде всего яичников. Эти изменения можно рассматривать как гипоплазию. В органах сохраняются структуры, обнаруживаемые только в раннем эмбриональном развитии (оогонии, яйценосные шары) и, в свою очередь, замедляется развитие фолликулов. Гипоплазия органов пищеварения и центральных органов иммунитета подробно описана исследователями у телят-гипотрофиков. Гипоплазия органов размножения детально описана нами впервые, хотя известны генетически обусловленные гипоплазии яичников у шведского скота.

При патологии первичные изменения мы обнаруживали в гранулезах. Они являлись дистрофическими, отличались исчезновением характерных для этих клеток межклеточных контактов. Фолликулоциты перестают делиться, прозрачная зона утолщается, ооцит подвергается пикнозу. В соединительной ткани текальной оболочки отмечали явления гемостаза, отека, мукоидного и фибриноидного набухания.

У плодов, полученных от коров, содержащихся на сбалансированном рационе и в оптимальных условиях содержания, без патологии обмена веществ и нарушений течения беременности, исчезновение непустых фолликулов не носит массовый характер. Оно обусловлено, прежде всего, нарушением мейотических преобразований ядра. Ранее мы показали, что у телок, которые родились от коров, получавших избыточное количество силоса в сухостойный период, а также при хроническом фузариотоксикозе и при гиподинамии, могут наблюдаться недоразвитие полового аппарата и задержка полового созревания [30]. В этом плане большое

значение имеет знание закономерностей формирования антральных фолликулов у коров. Данные из литературных источников не вносят ясность в вопрос, когда полостные фолликулы формируются, развиваются и как исчезает их полость [6, 13, 19, 28]. По нашим данным, полость в фолликулах начинает формироваться уже у шестимесячных плодов, но обычно макроскопически они не обнаруживаются. Затем этот процесс нарастает и у девятимесячных плодов невооруженным глазом обнаруживается до трех третичных фолликулов. Их величина может достигать 4 мм в диаметре.

На основании обнаружения у поздних плодов полостных фолликулов с развитой внутренней текой определении гистохимических характеристик продуцирующих гормоны структур (присутствие суданофильных и ШИК-позитивных включений, активность фосфатаз) можно сделать вывод, что гипоталамо-гипофизарно-яичниковая система плода активно работает в последней трети стельности, половые железы активно синтезируют гормоны уже в начале их формирования и дифференцировки [2, 9].

Три фактора определяют развитие антральных фолликулов у плодов: гонадотропины адеиногипофиза матери, хориогонины плаценты, собственные гонадотропные гормоны зародыша. О разном уровне этих гормонов свидетельствует выраженная вариабельность строения овариальных желез плода в отношении формирования пузырьков. Крайней степенью гиперстимуляции роста овариальных фолликулов является впервые описанный нами у крупного рогатого скота поликистоз яичников плода, который является формой гиперплазии фолликулярного аппарата. Аналогичные изменения описаны у других млекопитающих (лошади, жирафы) и человека [3].

А вот у поздних плодов, полученных от коров с хроническими формами патологии обмена веществ, мы обнаружили отсутствие третичных фолликулов, задержку инволюции эмбриональных структур, массовую дегенерацию первичных фолликулов. Рано проявляются признаки атрезии, вследствие чего третичные фолликулы не успевают сформироваться до размеров видимых макроскопически. Гистохимическое исследование

свидетельствует о гипоплазии гормональноактивной текальной ткани и выраженном снижении ее эндокринной функции.

Выводы. Установили, что индифферентные гонады крупного рогатого скота закладываются в конце зародышевого этапа (20–34 сутки пренатального развития). У 34–45-суточных зародышей они дифференцируются в яичники и содержат основные дефинитивные структуры органа. Дальнейшее развитие яичников определяется активным митотическим делением оогоний и формированием яйценосных шаров. У 4-месячных плодов на границе коркового и мозгового вещества начинают формироваться фолликулы. У 6–9-месячных телок ооциты и окружающие их структуры достигают дефинитивного состояния. Апоптоз половых клеток начинается уже у 45-суточных зародышей, регистрируется на всем протяжении пренатального онтогенеза и определяется изменением структуры ядра. При патологии основную роль в исчезновении генеративных изменений играют нарушения структуры сосудисто-тканевого окружения. В норме после шести месяцев внутриутробного развития в яичниках появляются единичные полостные фолликулы, которые определяются макроскопически. При острых формах патологии беременности наблюдается поликистоз яичников, а при нарушении обмена веществ у коров-матерей у поздних плодов развивается гипоплазия овариальных желез. Последняя у новорожденных теллят, перенесших желудочно-кишечные заболевания, прогрессирует и может принимать необратимый характер. Таким образом, при разработке биотехнологических методов воспроизводства крупного рогатого скота, биологически активных и химиотерапевтических препаратов, рационов, технологий кормления и содержания стельных коров необходимо учитывать, что определенные сроки беременности являются «критическими» для формирования овариальных желез плода. Это время оплодотворения и образования зиготы, формирования индифферентных гонад и миграции гоноцитов (20–34-е сутки), дивергентной дифференциации пола (34–45-е сутки), начала формирования примордиальных фолликулов (4 месяца), образования антральных фолликулов (6–7 месяцев).

Библиографический список

1. Aerts, J.M. Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects / J.M. Aerts, P.E. Bols // *Reprod. Domest Anim.* 2010. V. 45. P. 180–187.

2. Allen, J.J. Regulation of steroidogenesis in fetal bovine ovaries: differential effects of LH and FSH / J.J. Allen, S.L. Herrick, J.E. Fortune // *Journal of molecular endocrinology.* 2016. V. 57. P. 275–286.

3. Barreto, R.S.N. Reproductive system development in male and female horse embryos and fetuses: Gonadal hyperplasia revisited / R.S.N. Barreto, P. Romagnoli, A.M. Mess // *Theriogenology*. 2018. V. 108. P. 118–126.
4. Burkhart, M.N. Morphological development and characterization of aromatase and estrogen receptors alpha and beta in fetal ovaries of cattle from days 110 to 250 / M.N. Burkhart, J.L. Juengel, P.R. Smith, D.A. Heath, G.A. Perry // *Anim. Reprod. Sci.* 2010. V. 117. P. 43–54.
5. Clara, C.M. Apoptosis in ovarian granulosa cells of cattle: Morphological features and clearance by homologous phagocytosis / C.M. Clara, C.P. Romina, A. Maruri // *Acta histochemica*. 2015. V. 117. P. 92–103.
6. Danilovic, L. Z-cells and oogonia/oocytes in the advanced process of autophagy are the dominant altered cells in the ovaries of hypothyroid newborn rats / L. Danilovic // *Acta Veterinaria*. 2017. V. 67. P. 92–106.
7. Edmund, S. *Cytology*. (Third edition) / S. Cibas Edmund, S. Barbara, M.D. Ducatman. 2009. 257 p.
8. Fair, T. Oocyte ultrastructure in bovine primordial to early tertiary follicles / T. Fair, S.C.J. Hulshof, P. Hyttel // *Anatomy and embryology*. 1997. V. 195. P. 327–336.
9. Faraidoon, A.M.A. An abattoir study of the congenital abnormalities of ovaries and uterine tubes in slaughtered non-pregnant cows in sulaimani province / A.M.A. Faraidoon // *Сел. хоз-во – проблемы и перспективы* / Гродн. гос. аграр. ун-т. 2016. Т. 33. С. 132–141.
10. Fortune, J.E. The ovarian follicular reserve in cattle: What regulates its formation and size? / J.E. Fortune, M.Y. Yang, J.J. Allen // *Journal of animal science*. 2013. V. 91. P. 3041–3050.
11. Fortune, J.E. In vitro and in vivo regulation of follicular formation and activation in cattle / J.E. Fortune, M.Y. Yang, W. Muruvi // *Reproduction, fertility and development*. 2011. V. 23. P. 15–22.
12. Fortune, J.E. The earliest stages of follicular development: Follicle formation and activation: / J.E. Fortune, M.Y. Yang, W. Muruvi // *8th International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants*. Anchorage, AK, 2010. Society of Reproduction and Fertility. 2010. V. 67. P. 203–216.
13. Hummitzsch, K. A new model of development of the mammalian ovary and follicles / K. Hummitzsch, H.F. Irving-Rodgers, N. Hatzirodos // *PLOS ONE* 8578. FEB 7. 2013.
14. Ireland, J.J. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle / J.J. Ireland, F. Ward, F. Jimenez-Krassel, J.L. Ireland, G.W. Smith // *Hum. Reprod.* 2007. V. 22. P. 1687–1695.
15. Kenngott R., Sinowatz F. Expression and distribution of intermediate-filament proteins and laminin during the development of the bovine Mullerian duct / R. Kenngott, F. Sinowatz // *Anat. Histol. Embryol.* 2008. V. 37. P. 223–230.
16. Kenngott, R. The role of ovarian surface epithelium in folliculogenesis during fetal development of the bovine ovary: a histological and immunohistochemical study / R. Kenngott, M. Vermehren, K. Ebach, F. Sinowatz // *Sexual Development*. 2013. V. 7. P. 180–195.
17. Kranc, W. Selected molecular and physiological aspects of mammalian ovarian granulosa cells in primary culture / W. Kranc // *Med. veter.* 2016. V. 72. P. 723–727.
18. Kurilo, L.F. Development of ovaries in bovine fetuses / L.F. Kurilo, N.P. Tepliakova, G.V. Lavrikova // *Ontogenez*. 1987. V. 18. P. 500–506.
19. Leung, P.C.K. *The Ovary* / P.C.K. Leung, E.Y. Adashi. Academic Press, San Diego 2003. 250 p.
20. McGeady, T.A. *Veterinary Embryology*. 2nd edition / T.A. McGeady, P.J. Quinn, E.S. Fitzpatrick. 2017. 260 p.
21. Monniaux, D. Regulation of anti-Mullerian hormone production in domestic animals / D. Monniaux, L. Drouilhet, C. Rico // *Reproduction fertility and development*. 2013. V. 25. P. 1–16.
22. Mulisch M., Welsch U. *Romeis Mikroskopische Technik*, ed 18. 2010. 345 p.
23. Pankhurst, M.W. Anti-Mullerian hormone overexpression restricts preantral ovarian follicle survival / M. Mulisch, U. Welsch // *Journal of endocrinology*. 2018. V. 237. P. 153–163.
24. Rehfeld, A. *Compendium of histology. A Theoretical and practical guide* / A. Rehfeld, M. Nylander, K. Karnov. 2017. 158 p.
25. Rodriguez, F.M. Role of component of the insulin-like growth factor system in the early stages of ovarian follicular persistence in cattle / F.M. Rodriguez // *Journal of comparative pathology*. 2017. V. 157. P. 2–3.
26. Sarraj, M.A. Mammalian fetal ovarian development: consequences for health and disease / M.A. Sarraj, A.E. Drummond // *Reproduction*. 2012. V. 143. P. 151–163.
27. Scott, F. Gilbert. *Developmental biology*. Tenth edition / F. Gilbert Scott. 2013.
28. Skovorodin, E.N. Development of the genital organs of the heifers in prenatal ontogenesis / Evgeny N. Skovorodin // *Evgeny N. Agricultural Biology*. 1997. № 6. P. 61–66.

29. Skovorodin, E.N. Ultrastructural pathology of the oocyte in cattle / Evgeny N. Skovorodin // Veterinary Medicine Journal. 1997. № 2. P. 42–45.
30. Skovorodin, E.N. Morphogenesis of Bovine Ovaries in Prenatal Ontogenesis in Norm and in Pathology of Metabolism in Cows-Mothers / Evgeny N. Skovorodin et al // J. of Engineering and Applied Sciences. 2018. V. 13. Issue 11 Si. P. 8768–8781.
31. Smits J.E., Cortvrindt R.G. The earliest stages of folliculogenesis in vitro / J.E. Smits, R.G. Cortvrindt // Reproduction. 2002. V. 123. P. 185–202.
32. Tanaka, Y. Appearance and number of follicles and change in the concentration of serum FSH in female bovine fetuses / Y. Tanaka, K. Nakada, M. Moriyoshi, Y. Sawamukai // Reproduction. 2001. V. 121. P. 777–782.
33. Tilly, J.L. Apoptosis and ovarian function / J.L. Tilly // Rev. Reprod. 1996. № 1. P. 162–172.
34. Vaskivuo, T.E. Apoptosis in the human ovary / T.E. Vaskivuo, J.S. Tapanainen // Reprod. Biomed Online. 2003. V. 6. P. 24–35.
35. Yang, M.Y. The capacity of primordial follicles in fetal bovine ovaries to initiate growth in vitro develops during mid-gestation and is associated with meiotic arrest of oocytes / M.Y. Yang, J.E. Fortune // Biol. Reprod. 2008. V. 78. P. 1153–1161.
36. Zayed, A.E. Prenatal development of murine gonads with special reference to germ cell differentiation: a morphological and immunohistochemical study / A.E. Zayed, M.M. Abd-Elnaeim, S. Abd-Elghaffar, A. Hild, R. Brehm, K. Steger // Andrologia. 2007. V. 39. P. 93–100.
37. Полянцев, Н.И. Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения [Текст] / Н.И. Полянцев. Москва, 2015. 480 с.
38. Скориков, В.Н. Акушерская и гинекологическая патология у коров-первотелок симментальской породы при разном возрасте ввода их в воспроизводство [Текст] / В.Н. Скориков, А.Г. Нежданов, В.И. Михалев // Ветеринария. 2017. № 1. С. 38–41.
39. Михалёв, В.И. Профилактика задержки внутриутробного развития и гибели эмбрионов у коров [Текст] / В.И. Михалёв, Е.Г. Лозовая, А.Г. Нежданов, С.М. Юдин // Ветеринария. 2017. № 11. С. 47–50.
40. О ветеринарии [Текст]: Закон РФ.
41. Жестокое обращение с животными [Текст]: статья 245 // Уголовный кодекс Российской Федерации.
42. О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных [Текст]: приказ министерства здравоохранения СССР № 755 от 12 августа 1977 г.
43. Council of Europe – ETS no. 125 – European Convention for the Protection of Pet Animals.

Сведения об авторе

Сковородин Евгений Николаевич, доктор ветеринарных наук, профессор, зав. кафедрой морфологии, патологии, фармакологии и незаразных болезней, ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ, 450001, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34, тел.: (347) 228-28-77, e-mail: skovorodinen@mail.ru.

Хотя многие аспекты эмбрионального развития яичников изучены, но относительно мало известно о влиянии течения беременности на формирование яичников плодов. Цель данного исследования – изучить функциональную морфологию овариальных желез в пренатальном онтогенезе в норме и при патологии обмена веществ у коров-матерей. По нашим данным, гонады у бычков и телочек закладываются в начале пренатального онтогенеза на тридцать четвертые сутки на поверхности мезонефросов. У телочек к сорока пяти суткам они дифференцируются в яичники и содержат все основные структуры органа. Оогенез у плодов коров протекает не синхронно. В яичниках можно обнаружить ооциты на разных стадиях профазы I мейоза и с разной ультраструктурой хроматина. В конце шестого ме-

сяца пренатального развития в овариальных железах появляются единичные полостные фолликулы, которые можно увидеть невооруженным глазом. По нашему мнению, развитие и инволюция этих нормальных структур играют существенную роль в морфогенезе яичников. Исчезновение полости третичных фолликулов яичников плодов крупного рогатого скота протекает двумя путями: облитерационным и по типу лютеинизации. При хронических заболеваниях стельных коров в последнюю треть беременности у поздних плодов развивается гипоплазия органов размножения, а при острых заболеваниях обнаруживается увеличение количества и величины антральных фолликулов в яичниках плодов, подвергающихся кистозным изменениям (поликистоз яичников плода).

E. Skovorodin

THE EFFECT GESTATION COURSE ON EMBRYOGENESIS OF OVARIES IN CATTLE

Key words: *embryonic development; fetal ovary; ovarian morphogenesis; cows, metabolism pathology.*

Authors' personal details

Skovorodin Evgeny, Doctor of veterinary sciences, professor, head of the Morphology, pathology, pharmacy and noncontagious diseases department, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Bashkir State Agrarian University», 450001, Ufa, 50-letia Octiabria St., 34, phone: +7 (347) 228-28-77, e-mail: skovorodinen@mail.ru.

Although many aspects of embryonic ovarian development have been studied, relatively little is known about the effect of gestation on fetal ovary formation. The objective of this investigation was to study the functional morphology of ovarian glands in prenatal ontogenesis in norm and in pathology of metabolism in cows-mothers. According to our data, gonads in bull-calves and in cow calves are laid at the beginning of prenatal ontogenesis on the thirty-fourth day on the surface of mesonephros. By the forty-fifth day, in cow calves they differentiate into ovaries and contain all the basic structures of the organ. Ontogenesis in the fetuses of cows is not synchronous. Oocytes can be detected in ovaries at different stages of the first meiotic division prophase and with different

chromatin ultrastructure. At the end of the sixth month of prenatal development in the ovarian glands, there appear single cavitory follicles which can be seen with the naked eye. In our opinion, the development and involution of these normal structures play an important role in ovarian morphogenesis. Disappearance of the cavity of the tertiary follicles of the ovaries of the bovine cattle fetuses proceeds in two ways: obliteration and luteinization. In chronic diseases of pregnant cows at the last stage of pregnancy, late fetuses develop hypoplasia of reproductive organs, and in acute diseases, an increase in the number and size of antral follicles in the ovaries of fetuses subjected to cystic changes (polycystosis of the fetal ovaries) is found.

© Сковородин Е.Н.