

DOI: 10.26693/jmbs03.07.026

УДК 618.11/.16-091-053.13-02:618.3(043.5)

Купріянова Л. С.¹, Цурман Л. Г.², Саранча Р. А.²,
Береза К. О.², Козубенко М. В.², Немченко Є. В.²,
Петриковець Ю. В.²

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ЯЄЧНИКІВ ПЛОДІВ У РІЗНІ ТЕРМІНИ ГЕСТАЦІЇ ВІД МАТЕРІВ, ПЕРЕБІГ ВАГІТНОСТІ У ЯКИХ БУВ ФІЗІОЛОГІЧНИМ

¹Одеський національний медичний університет, Україна

²Чорноморський національний університет ім. Петра Могили, Миколаїв, Україна

Lara_kupriyanova@ukr.net

Проведено комплексне дослідження будови яєчників плодів у різні терміни гестації від матерів, вагітність у яких була фізіологічною. Враховуючи основні етапи дозрівання та становлення фетальних гонад, весь матеріал розподілено на групи (21–28 тижнів, 29–36 тижнів та 37–42 тижні), відповідно до яких встановлено особливості будови органів плодів. Наведено характерні для кожного періоду гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні особливості. А саме: загальна будова органу; рівень функціональної активності клітин, встановлений гістохімічними методами; особливості ендотеліну – продукуючої активності судинного компонента яєчників; характер колагенотворення; ступень виразності апоптозних змін; рівень гормональної активності фетальних гонад. Надано специфічні особливості будови, за якими можна визначити рівень структурної та функціональної зрілості яєчників плода і використати під час вивчення будови таких у плодів від матерів з ускладненою вагітністю.

Ключові слова: яєчники, плід, вагітність, колаген, ендотелін-1, апоптоз, естроген, прогестерон.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження є фрагментом комплексних науково-дослідницьких праць кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету МОЗ України «Патоморфологічні особливості формування плоду і новонародженого під впливом патології матері» (№ державної реєстрації 0110U001805, 2010–2014 р.р.); «Вплив плідно-материнської інфекції на ембріогенез та фетогенез нащадків (клініко-морфологічне дослідження)» (№ державної реєстрації 0115U000987, 2015–2019 р.р.), які входять в координаційний план пріоритетних напрямів, затверджений Міністерством охорони здоров'я України.

Вступ. Як відомо, яєчник – парний орган, який забезпечує функціонування жіночої статеві системи

жінок і виконує дві основні функції: генеративну (утворення жіночих статевих клітин) та ендокринну (продукція статевих гормонів широкого спектру дії) [1, 2, 3]. Закладка та формування яєчника відбувається на ранніх етапах внутрішньоутробного розвитку дівчинки і до 32–34 тижня формування яєчника закінчується [4]. На момент народження фетальний яєчник сформований структурно і функціонально [5]. Тому доцільно вважати, що екстрагенітальна патологія матері вкрай негативно впливає на становлення фетальних гонад [6, 7]. Для досконалого вивчення впливу патології матері на органогенез яєчників плодів необхідно виявити особливості будови яєчників здорових плодів. У сучасній літературі відносно цього питання є безліч інформації, однак бракує даних стосовно комплексного уявлення щодо будови яєчників плодів відповідно до основних етапів формування гонади, а також таких показників, як: імуногістохімічні особливості будови сполучної тканини яєчників, ступеню виразності апоптозних змін серед яйцеклітин, ендотеліно-продукуючої активності судинного компонента яєчників плодів та гормональної функції фетальних гонад.

Мета дослідження – виявлення імуногістохімічних особливостей будови яєчників плодів у різні терміни гестації від матерів, перебіг вагітності у яких був фізіологічним.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом дослідження послужили 58 плодів від матерів, вагітність у яких була фізіологічною (за даними медичної документації). Відповідно до основних етапів закладки і формування фетальних гонад весь матеріал було поділено на підгрупи: 17 плодів зі строком гестації 21–28 тижнів, 17 плодів – 29–36 тижнів, 24 плода – на терміні 37–42 тижні.

Всі плоди загинули інтранатально та антенатально (без ознак мацерації плоду). Причиною інтранатальної смерті було гостре порушення

матково-плацентарного кровообігу (передчасне відшарування нормально розташованої плаценти), а також плацентарно-плодового кровообігу (абсолютна короткість пуповини, обвиття пуповини навколо різних частин тілу плоду). Причиною антенатальної загибелі плоду були: гостра гіпоксія, що розвилась ще до моменту настання пологів, як наслідок гострого порушення матково-плацентарного кровообігу та патології пуповини.

Проведені дослідження повністю відповідають законодавству України принципам Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Союзу Європи стосовно прав людини і біомедицини (підтверджено рішенням комісії з біоетики, протокол № 3, 2006 р.).

Робота була проведена відповідно до вимог і норм «Інструкції щодо проведення судово-медичної експертизи» (наказ МОЗ України № 6 від 17.01.1995 р.), типового положення стосовно питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Методи дослідження: макроскопічний, органометричний, гістологічний, імуногістохімічний, морфометричний, статистичний.

З кожного яєчника вирізали по три шматочки таким чином, щоб в об'єкті були всі складові органи. Матеріал фіксували на буферному нейтральному розчині формаліну, після чого переносили до спирту і заливали в парафін [8].

На мікромомі з виготовлених блоків робили зрізи товщиною 3–5 мкм, які переносили до 70% спирту, а потім – до води. Після повного розплавлення зрізи приклеювали на скло [9].

Для встановлення відносних об'ємів основних елементів в яєчниках використовували метод «полів» Автандилова Г. Г. [9].

Вивчення препаратів, які були забарвлені гістологічними методами, а також морфометричне дослідження проводились на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus Db-soft (Version 3:1) [10].

Імуногістохімічне дослідження проводилось прямим методом Кунса та пероксидазним методом [11, 12].

Прямим методом Кунса в модифікації М. Brostman (1979) проводили імуногістохімічне дослідження з використанням МКАт до колагенів I, III та IV типів, до ендотеліну-1 і CD 95 (Chemicon International Inc., Temecula California) [11, 12].

Препарати, оброблені МКАт з використанням прямого методу Кунса, вивчали на люмінесцентному мікроскопі «Axioskop 40» (Carl Zeiss, ФРН). Оптичну щільність імунофлюорисценції колагенів I, III та IV типів, ендотеліну-1, а також кількість апоптозно змінених яйцеклітин визначали за методом Губіної-Вакулік Г. І. та соавторів (Губіна-Вакулік Г. І.,

Сорокіна І. В., Марковський В. Д., Купріянова Л. С., Сидоренко Р. В. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах. Патент на корисну модель № 46489; СО 1 № 33/00 від 25.12.2009, Бюлетень № 4). Дослідження проводили на мікроскопі «Axioskop 40» з використанням програмного забезпечення Biostat.exe.

Апоптозний індекс визначався в яєчниках плодів серед статевих клітин. Показник апоптозного індексу вираховувався за формулою $AI = (\text{кількість апоптозних клітин в } 1 \text{ мм}^2 / \text{щільність клітин в } 1 \text{ мм}^2) \times 100\%$ [8, 9].

За кожним використаним маркером проводили контрольні дослідження хибно позитивних та хибно негативних реакцій [12].

Імуногістохімічні реакції оцінювались за ступенем інтенсивності фарбування та розподілу імунопозитивних клітин згідно з рекомендаціями, що було приведено сучасними авторами [12]. Ступінь інтенсивності забарвлення описувалась наступним чином: (–) – негативна реакція (жодної забарвленої клітини); (+) – слабка (позитивно забарвлені окремі розкидані клітини); (++) – помірна (більша кількість інтенсивно забарвлених клітин і (++++) – надмірна (інтенсивно забарвлені практично всі клітини) [11, 12].

Опис імуногістохімічних реакцій при обробці МКАт до естрогену та прогестерону проводилось з урахуванням, як інтенсивності фарбування, так із вказуванням вмісту імунопозитивних клітин (виражено в % співвідношенні до загальної кількості клітин) [12].

Для вияву гормональної активності фетальних яєчників використовували вищеописану методику, а в якості МКАт використовували естроген-рецептор альфа (ER), (DAKO clone EP1) та прогестерон-рецептор (PR), (DAKO clone PgR 636). Окрім опису інтенсивності фарбування (негативна, слабо позитивна, позитивна реакція) оцінювали процентне співвідношення клітин, що експресують поверхневі рецептори до естрогену та прогестерону [12].

Стан ендотелію судинної тканини оцінювався шляхом проведення імуногістохімічного дослідження з використанням маркеру CD 34 [12].

Статистична обробка даних проводилась на персональному комп'ютері з використанням статистичних пакетів «Excell for Windows», «Statistica 7.0. for Windows», «SigmaStat 3.1. for Windows» [13, 14].

Перевірка розподілу на відповідність закону Гаусса виконувалась за допомогою критеріїв Шапіро-Вілکا або χ^2 Пірсона. У ролі характеристики групи для ознак з розподілом, відповідним до закону Гаусса, визначали середнє арифметичне значення (M), його статистичну похибку (S_m),

стандартне відхилення (SD) [15]. Для обробки отриманих цифрових даних застосовували також кореляційний аналіз та багатомірний регресійний аналіз [16, 17].

Результати дослідження та їх обговорення.

У всіх випадках розташування яєчників було типовим. А саме: біля бічної стінки малого тазу, горизонтально. Форма фетальних гонад – довгасто-

овальна. Поверхня білісуватого кольору. Тканина на розрізі сірувато-рожевого кольору, однорідної консистенції.

Основні органометричні показники яєчників досліджуваних плодів наведено в **таблиці 1**.

Всі яєчники вкриті білковою оболонкою, переважним компонентом котрої є тонкі колагенові волокна.

Таблиця 1 – Органометричні показники яєчників плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю

	Маса, кг	Довжина, м	Товщина, м	Ширина, м	Об'єм, м ³
21–28 тижнів	1,89 ± 0,02 × 10 ⁻³	1,85 ± 0,03 × 10 ⁻²	1,31 ± 0,02 × 10 ⁻²	1,78 ± 0,06 × 10 ⁻²	0,039 ± 0,001
29–36 тижнів	2,85 ± 0,07 × 10 ⁻³	2,34 ± 0,08 × 10 ⁻²	1,34 ± 0,04 × 10 ⁻²	2,17 ± 0,07 × 10 ⁻²	0,067 ± 0,002
37–42 тижні	3,06 ± 0,11 × 10 ⁻³	2,59 ± 0,09 × 10 ⁻²	1,48 ± 0,05 × 10 ⁻²	2,45 ± 0,08 × 10 ⁻²	0,090 ± 0,003

Під білковою оболонкою в гонадах всіх плодів розташовані статеві клітини. Скупчення статевих клітин місцями формують острівці. Велика кількість клітин в стані дегенерації. Середні показники кількості статевих клітин та апоптозно змінених ооцитів наведено в **таблиці 2**.

Таблиця 2 – Показники кількості статевих клітин та апоптозно змінених ооцитів в яєчниках плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю

	Кількість статевих клітин, екз. в полі зору	Кількість апоптозно змінених ооцитів, %
21–28 тижнів	44,89 ± 1,06	22,72 ± 0,80
29–36 тижнів	18,94 ± 0,67	31,64 ± 1,12
37–42 тижні	15,29 ± 0,54	35,30 ± 1,23

На терміні гестації 21–28 тижнів розподіл на корковий та мозковий шари є нечітким.

Показники відносних об'ємів коркового та мозкового шару в яєчниках плодів наведено в **таблиці 3**.

Таблиця 3 – Показники відносних об'ємів коркового та мозкового шару в яєчниках плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю, (%)

	Відносний об'єм коркового шару	Відносний об'єм мозкового шару
21–28 тижнів	61,2 ± 2,14	38,8 ± 1,36
29–36 тижнів	61,17 ± 2,12	38,43 ± 1,38
37–42 тижні	61,12 ± 2,10 %	38,88 ± 1,41

Корковий шар представлено примордіальними та первинними фолікулами. Імуногістохімічними методами встановлено, що в структурі базальної мембрани примордіальних фолікулів превалює колаген IV типу, в той час як колаген III типу виявляється у вигляді маленьких осередків світіння зі зниженою інтенсивністю.

Показники інтенсивності світіння колагенів IV та III типів в структурі базальної мембрани фолікулів наведено в **таблиці 4**.

Таблиця 4 – Показники інтенсивності світіння колагенів IV та III типів в структурі базальних мембран примордіальних фолікулів в яєчниках плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю, (умов. од. опт. щільн.)

	Інтенсивність світіння колагену IV типу	Інтенсивність світіння колагену III типу
21–28 тижнів	1,57 ± 0,05	0,42 ± 0,01
29–36 тижнів	1,63 ± 0,06	0,48 ± 0,02
37–42 тижні	1,67 ± 0,06	0,52 ± 0,02

Пероксидазним методом також показано превалювання колагену IV типу в структурі базальних мембран фолікулів. А саме: в яєчниках плодів зі строком гестації 21–28 тижнів встановлено надмірну реакцію (+++) при обробці препаратів МКАт до колагену IV типу, і помірну реакцію (++) при обробці препаратів МКАт до колагену III типу. В гонадах плодів зі строком гестації 29–36 тижнів і 37–42 тижнів виявлено слабку реакцію до колагену III типу (+) і надмірну реакцію до колагену IV типу (+++).

У складі сполучної тканини основних структурних компонентів яєчника плодів незалежно від строку гестації визначаються колагени I та III типу. Інтенсивність світіння даних типів колагенів наведено в **таблиці 5**.

Превалювання колагену I типу підтверджено пероксидазним методом у всіх випадках. Так, спостерігається інтенсивна реакція +++ до колагену I типу і помірна реакція – слабка експресія + до колагену III типу.

Судини яєчників плодів у різні терміни гестації тонкостінні, помірного кровонаповнення. В стінках судин імуногістохімічними методами встановлено

Таблиця 5 – Інтенсивність світіння колагенів в структурі сполучної тканини в яєчниках плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю, умов. од. опт. щільн.

	Інтенсивність світіння колагену I типу	Інтенсивність світіння колагену III типу
21–28 тижнів	3,78 ± 0,13	2,64 ± 0,09
29–36 тижнів	3,37 ± 0,05	2,44 ± 0,02
37–42 тижні	4,48 ± 0,16	1,92 ± 0,07

наявність колагенів IV та III типів. Причому виявлено інтенсивну реакцію на колаген IV типу (+++) і помірну реакцію до колагену III типу (++) . Показники інтенсивності світіння колагенів в стінках судин яєчників наведено в **таблиці 6**.

Таблиця 6 – Показники інтенсивності світіння колагенів IV та III типів в судинах яєчників плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю, умов. од. опт. щільн.

	Інтенсивність світіння колагену IV типу	Інтенсивність світіння колагену III типу
21–28 тижнів	1,25 ± 0,04	0,48 ± 0,02
29–36 тижнів	1,37 ± 0,05	0,44 ± 0,02
37–42 тижні	1,41 ± 0,05	0,40 ± 0,05

Експресія колагену IV типу була надмірною (+++), колагену III типу – слабкою (+).

Імуногістохімічним методом встановлено оптичну щільність імунофлюоресценції ендотеліоцитів в судинах яєчників плодів у різні терміни гестації, середні показники якої наведено в **таблиці 7**.

Таблиця 7 – Показник оптичної щільності імунофлюоресценції ендотеліоцитів в судинах яєчників плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю, умов. од. опт. щільн.

	Судини артеріального типу	Судини венозного типу
21–28 тижнів	0,32 ± 0,01	0,64 ± 0,02
29–36 тижнів	0,38 ± 0,01	0,67 ± 0,02
37–42 тижні	0,39 ± 0,01	0,67 ± 0,02

Пероксидазним методом в яєчниках плодів зі строком гестації 21–28 тижнів встановлено помірну реакцію до ендотеліну-1 (++) в судинах яєчників як артеріального, так і венозного типів. На терміні гестації 29–36 тижнів і 37–42 тижні виявлено в судинах венозного типу виявлено помірну реакцію ендотеліну-1 (++) , в судинах артеріального типу – слабку реакцію до ендотеліну-1 (+).

Використання МКАт до гормонів яєчника показало, що у плодів на терміні гестації 21–28 тижнів

має місце надмірна реакція на естроген (+++, до 80% клітин), та негативна на прогестерон (--). У плодів зі строком гестації 29–36 тижнів визначається позитивна реакція на естроген (+++, 85 % клітин), та негативна реакція на прогестерон. В яєчниках плодів зі строком гестації 37–42 тижні встановлено надмірну реакцію на естроген (+++, 90% клітин), та помірну реакцію на прогестерон (++, 75% клітин).

За даними літератури надані особливості будови яєчників плодів у різні терміни гестації від матерів з фізіологічною вагітністю відповідають анатомічній і гістологічній нормі [18–22]. Особливості становлення колаген синтезуючої функції, ендотелін – продукуючої активності судинного компонента, рівня продукції гормонів у різні етапи внутрішньоутробного розвитку співпадають із основними періодами ембріогенезу яєчників плода [23, 24, 25, 26].

Таким чином, в статті наведено основні етапи формування будови і становлення функціональної активності яєчників плодів у різні етапи внутрішньоутробного розвитку плода. А саме: процес дозрівання колагенів в структурі сполучної тканини базальних мембран фолікулів та основних компонентів органу; ступінь ендотелін – продукуючої активності судин венозного та артеріального типів; становлення гормональної функції фетальних гонад; виразність апоптозних змін ооцитів.

Висновки. В статті наведено основні органометричні, гістологічні, імуногістохімічні та морфометричні особливості будови яєчників плодів у різні строки гестації від матерів з фізіологічною вагітністю.

1. Органометричним методом встановлено, що в період від 21 до 42 тижня вагітності відбувається збільшення показників маси органу на 38,24%, довжини яєчників – на 28,57%, ширини гонад – на 27,35%, товщини яєчників – на 11,49%, об'єму органу – на 56,67%.
2. Морфометричним методом показано, що всі яєчники представлені корковою та мозковою речовиною. Причому у всіх випадках коркова речовина превалює над мозковою. Показник відносного об'єму коркової речовини варіює в рамках від 61,57 до 61,12%, мозкової речовини – від 38,43 до 38,88%.
3. Склад ооцитів від 21-го до 42-го тижня вагітності зменшується на 65,25%, що обумовлено фізіологічною загибеллю статевих клітин і відображається підвищенням показника апоптозного індексу 35,15%.
4. В структурі базальних мембран фолікулів імуногістохімічним методом встановлено наявність I і III типів колагенів, показники оптичної щільності яких підвищуються відповідно до строку гестації на 16% та 19,23% відповідно. Причому колаген I типу в структурі базальних мембран фолікулів переважає.

5. У складі сполучної тканини фетальних гонад мають місце колагени I і III типів, інтенсивність світіння яких змінюється наступним чином: колагену III типу зменшується на 27,3%, колагену I типу збільшується на 16,4%. Однобічно скеровані зміни з боку інтенсивності світіння основних типів колагенів відмічаються в судинах яєчників: інтенсивність світіння колагену IV типу підвищується на 11,35%, колагену III типу зменшується на 16,67%.
 6. Рівень ендотелін – продукуючої активності в судинах як артеріального, так і венозного типів яєчників підвищується від 21-го до 42-го тижня внутрішньоутробного розвитку на 18% і 5% відповідно.
 7. Гормональна активність фетальних гонад зростає від 2-го до 42-го тижня вагітності. А саме: при обробці препаратів МКАт до естрогену встановлено підвищення гормон-продукуючої функції (від 80% у плодів зі строком гестації 21–28 тижнів до 90% у плодів зі строком гестації 37–42 тижні). Також відмічається поява продукції прогестерону у плодів зі строком гестації 37–42 тижні (75%). В той час, як у плодів зі строком гестації 21–36 тижнів такої не спостерігається.
 8. Описані особливості будови яєчників можуть бути використані під час вивчення такої у плодів від матерів з ускладненою вагітністю відповідно до основних етапів закладки і формування фетальних гонад.
- Перспективи подальшого дослідження.** В подальшому планується виявити імуногістохімічні особливості будови яєчників плодів від матерів, вагітність у яких ускладнена прееклампсією різного ступеню тяжкості, а також перебіг вагітності у яких відбувався на тлі хронічної інфекції нижніх статевих шляхів з метою вивчення провідних ланок патогенезу порушення гермінативної функції у жінок, що були народжені від матерів з такою патологією.

References

1. Znamenska TK, Boychuk TM, Hodovanets YuD. Orhanizatsiya ta perspektyvy rozvytku perynatalnoi dopomohy u Ukraini. *Neonatalogiya, khirurgiya ta perynat med.* 2013; III(1): 13-8. [Ukrainian]
2. Tsirelnikov NI. Platsentarno-plodnye vzaimootnosheniya kak osnova razvitiya i differentsirovki definitivnykh organov i tkaney. *Arkhiv patologii.* 2008; 2: 55-9. [Russian]
3. Frolova OH, Puhacheva TN, Hudymova VV. Statystyka perynatalnogo periodu. *Akush y hynekol.* 2012; 5: 36-8. [Ukrainian]
4. Afanasev Yul, Yurina NL. *Gistologiya.* M: Meditsina; 1989. 600 p. [Russian]
5. Danilov RK, Klishov AA, Borovaya TG. *Gistologiya cheloveka v multimedia.* Uchebnik dlya studentov meditsinskikh vuzov. SPb: ELBI-SPb; 2004. p. 306-15. [Russian]
6. Di Renzo GC, Giardina I, Clerici G, Brillo E, Gerli S. Progesterone in normal and pathological pregnancy. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016; 1: 35-48. PMID: 27662646. DOI: 10.1515/hmbci-2016-0038
7. Gailly-Fabre E, Kerlan V, Christin-Maitre S. Pregnancy-associated hormones and fetal-maternal relations. *Ann Endocrinol (Paris).* 2015; 76(6 Suppl 1): 39-50. [French] PMID: 26776288. DOI: 10.1016/S0003-4266(16)30006-3
8. Slavin MB. *Metody sistemnogo analiza v meditsinskikh issledovaniyakh.* M: Meditsina; 1989. 304 p. [Russian]
9. Zhakota DA, Tertychnyy AS, Ryzhov EA, i soavt. Modernizatsiya metodov vzyatiya i podgotovki tkaney dlya gistologicheskogo issledovaniya. *Arkhiv patologii.* 2010; 6: 52-4. [Russian]
10. Subbotin MYa, Laguchev SS, Oganesyana TG, i soavt. *Gistologicheskaya tekhnika.* Ed by VG Eliseev. M: «Medgiz»; 1954. 167 p. [Russian]
11. Kononskiy AI. *Gistokhimiya.* Kiev: «Vishcha shkola»; 1976. 277 p. [Russian]
12. Kosharnyi VV, Shatorna VF. Vykorystannya imunohistokhimichnykh metodiv doslidzhennya v embriologii. *Patologiya.* 2009; 6(2): 66-9. [Ukrainian]
13. Atramentova LA, Utevskaia OM. *Statysticheskiye metody v biologiy.* Gorlovka; 2008. 247 p. [Russian]
14. Borovkov AA. *Matematycheskaya statystyka.* M: «Nauka»; 1984. 286 p. [Russian]
15. Gorelik AL, Skripkin VA. *Metody raspoznavaniya.* M: «Statistika»; 1977. 382 p. [Russian]
16. Kendall M, Styuart A. *Teoriya raspredeleniy.* M: Mir; 1966. 312 p. [Russian]
17. Kendall M, Styuart A. *Mnogomernyy statysticheskiy analiz y vremennyye ryady.* M: Mir; 1976. 274 p. [Russian]
18. Zhukovskiy MA. *Detskaya endokrinologiya.* M: «Meditsina»; 1995. p 368-78. [Russian]
19. Kalinovska IV. Henetychni aspekty nevyynoshuvannya vahitnosti. *Bukovynskiy medychniy visnyk.* 2016; 20(2): 35-8. [Ukrainian]
20. Savchenko ON. *Gormony yaichnika i gonadotropnye gormony.* Leningradskoe otdelenie izdatelstva «Meditsina»; 1967. 269 p. [Russian]
21. Silina TM. *Vikovi morfofunktsionalni osoblyvosti yayechnykh, matky i matkovykh trub v normi ta pid vplyvom estrogeniv v eksperymenty:* Abstr. Dr. Sci. (Med.). K; 2005. 34 p. [Ukrainian]
22. Teppermen Dzh, Teppermen Kh. *Fiziologiya obmena veshchestv i endokrinnoy systemy.* M: «Mir»; 1989. 642 p. [Russian]

23. Eskin IA. *Osnovy fiziologii endokrinnykh zhelez*. M: «Vysshaya shkola»; 1975. 296 p. [Russian]
24. Conley A. J. Review of the reproductive endocrinology of the pregnant and parturient mare. *Theriogenology*. 2016; 86 (1): 355-65. PMID: 27156685. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.049
25. Grabar' VV. Interconnection between assisted reproductive technologies, pregnancy complications and risk of birth defects. *Georgian Med News*. 2014; 227: 7-14. PMID: 24632639
26. Henriques AC, Carvalho FH, Feitosa HN, Macena RH, Mota RM, Alencar JC. Endothelial dysfunction after pregnancy-induced hypertension. *Int J Gynaecol Obstet*. 2014; 124(3): 230-4. PMID: 24326066. DOI: 10.1016/j.ijgo.2013.08.016

УДК 618.11/.16-091-053.13-02:618.3(043.5)

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЯИЧНИКОВ ПЛОДОВ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ГЕСТАЦИИ ОТ МАТЕРЕЙ, ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ У КОТОРЫХ БЫЛО ФИЗИОЛОГИЧНЫМ

Куприянова Л. С., Цурман Л. Г., Саранча Р. А., Береза К. О., Козубенко М. В., Немченко Е. В., Петриковец Ю. В.

Резюме. Проведено комплексное исследование строения яичников плодов в различные сроки гестации от матерей, течение беременности у которых было физиологичным. Учитывая основные этапы дозревания и становления фетальных гонад, весь материал разделен на группы (21–28 недель, 29–36 недель, 37–42 недели), в соответствии с которыми установлены особенности строения органов плодов. Представлены характерные для каждого периода гистологические, гистохимические и иммуногистохимические особенности. А именно: общее строение органа; уровень функциональной активности клеток, оцененный гистохимическими методами; особенности эндотелин-продуцирующей активности сосудистого компонента яичников; характер коллагенообразования; степень выраженности апоптозных изменений; уровень гормональной активности фетальных гонад. Наведены специфические особенности строения, по которым представляется возможным установить степень структурной и функциональной зрелости яичников плода, и использовать при изучении таковых у плодов от матерей с осложненной беременностью.

Ключевые слова: яичник, плод, беременность, коллаген, эндотелин-1, апоптоз, эстроген, прогестерон.

UDC 618.11/.16-091-053.13-02:618.3(043.5)

Immunohistochemical Features of the Ovaries Structure in Fetuses at Various Periods of Gestation from Mothers with Physiological Pregnancy

Kupriyanova L. S., Tsurman L. G., Sarancha R. A., Bereza K.O., Kozubenko M.V., Nemchenko E.V., Petrykovets Iu. V.

Abstract. The purpose of the study was to reveal immunohistochemical features of the ovaries structure in the fetuses in different gestational periods from mothers with physiological pregnancy.

Material and methods. The study material was the ovaries of fetuses from the mothers with a physiological pregnancy. All fetuses died intranatal and antenatal. The cause of the death of the fetuses was an acute disorder of the utero-placental and placental-fetal circulation. In accordance with the main stages of the formation of ovaries in fetuses, all the material was divided into the following subgroups: 21–28 weeks, 29–36 weeks and 37–42 weeks of gestation. All ovaries were cortical and cerebral. Cortical substance prevails in the structure of the organ. In the period from 21 to 42 weeks, the main parameters of the ovaries increase and reach the physiological norm.

Each ovary was cut into three pieces in such a way that all the components of the body were in the object. The material was fixed on a buffer neutral solution of formalin, then transferred to alcohol and poured into paraffin. On the microtome of the manufactured blocks, sections were cut in thickness of 3–5 microns, which carried to 70% of alcohol, and then to water. After complete melting, the slices were glued to the glass.

To establish the relative volumes of the main elements in the ovaries, we used the Avtandilov method of «fields».

The study of preparations that were stained with histological methods, as well as a morphometric study, were performed on a microscope of Olympus BX-41 using Olympus Db-soft programs (Version 3: 1). Immunohistochemical study was carried out by direct Koons method and peroxidase method.

The direct Koons method in the modification of M. Brosman carried out an immunohistochemical study using MKA to collagen I, III and IV types, to endothelin-1 and CD 95 (Chemicon International Inc., Temecula California).

Results and discussion. We detected collagens of types 3 and 4 in the structure of the connective tissue of the basement membranes of the follicles. Moreover, type 4 collagen prevailed. With an increase in gestational age, the intensity of luminescence of type 4 collagen increased in the basement membranes of the ovarian follicles of the fetus.

In the ovaries of the fetuses from 21 to 42 weeks of gestation, there is a physiological death of the eggs. This is confirmed by a decrease in the number of eggs and an increase in the number of apoptotic modified cells.

In the connective tissue composition of the main organ's components, collagens of types 1 and 3 are determined. Moreover, with an increase in the period of gestation, the intensity of luminescence of type 1 collagen increased while the intensity of luminescence of type 3 collagen decreased. Collagen type 4 predominated in the walls of blood vessels. Collagen type 3 was defined as a weak glow.

We established the level of endothelin production in vessels of the arterial and venous types. It was higher in the vessels of the venous type than in vessels of the arterial type.

The immunohistochemical method established the level of hormonal activity of the ovaries of the fetuses. Estrogen production was enhanced by the end of pregnancy. Progesterone production appeared between 37–42 weeks.

Conclusions. The described features of the structure of the ovaries correspond to the physiological norm and can be used to study the characteristics of the structure of the ovaries of fetuses from mothers with a complicated pregnancy.

Keywords: ovary, fetus, pregnancy, collagen, endothelin-1, apoptosis, estrogen, progesterone.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 07.09.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування