

3. Гололобов В. Г., Дулаев А. К., Деев Р. В. и др. Морфофункциональная организация, реактивность и регенерация костной ткани / Под ред. проф. Р. К. Данилова, проф. В. М. Шаповалова. – СПб.: ВМедА, 2006.
4. Bancroft G. N., Sikavitsas V. I., van den Dolder J. et al. Fluid flow increases mineralized matrix deposition in 3D perfusion culture of marrow stromal osteoblasts in a dose-dependent manner // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 99. N 20. P. 12600–12605.
5. Crisan M., Yap S., Casteilla L. et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs // Cell Stem Cell. 2008. Vol. 3. P. 301–313.
6. de Bruijn J. D., van den Brink I., Mendes S. et al. Bone induction by implants coated with cultured osteogenic bone marrow cells // Adv. Dent. Res. 1999. Vol. 13. P. 74–81.
7. Kanczler J. M., Oreffo R. O. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone // Eur. Cell Mater. 2008. Vol. 15. P. 100–114.
8. Kuznetsov S. A., Mankani M. H., Robey P. G. Effect of serum on human bone marrow stromal cells: ex vivo expansion and in vivo bone formation // Transplantation. 2000. Vol. 12. P. 1780–1787.
9. Mastrogiacomo M., Papadimitropoulos A., Cedola A. et al. Engineering of bone using bone marrow stromal cells and a silicon-stabilized tricalcium phosphate bioceramic: evidence for a coupling between bone formation and scaffold resorption // Biomaterials. 2007. Vol. 7. P. 1376–1384.
10. Kraus K. H., Kirker-Head C. Mesenchymal stem cells and bone regeneration // Vet Surg. 2006. Vol. 3. P. 232–242.

Боровая Т. Г.¹, Диденко Л. В.², Шевлягина Н. В.²

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОВО-ФОЛЛИКУЛЯРНЫХ ГИСТИОНОВ В МОДЕЛИ ГЕНИТАЛЬНОЙ ГЕРПЕС-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹ *Кафедра морфологии медицинского института ИАТЭ, Обнинск*

² *НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, Москва*

Генитальная форма рецидивирующей герпес-вирусной инфекции (ГРГИ) вызывается вирусом простого герпеса 2-го типа (ВПГ-2) и проявляется периодическими высыпаниями и воспалением в области слизистой оболочки наружных гениталий. Как и другие герпес-вирусные инфекции, характеризуется пожизненным сохранением вируса в спинно-мозговых узлах, избирательным поражением эпителиальных тканей, ремиссией в стадии обострения. Чаше встречается у женщин, что придает рассматриваемой проблеме особую актуальность. Женские половые клетки, в отличие от мужских, относятся к стационарным (необновляющимся) клеточным популяциям; их число в яичниках прогрессивно убывает по причине происходящих овуляций и перманентной физиологической гибели (атрезии). В этой связи действие любого повреждающего агента (в том числе предполагаемое

действие ВПП-2) потенциально опасно для женской репродуктивной сферы. Вторая причина актуальности проблемы заключается в эпителиотропности ВПП-2. В яичниках имеется несколько «мишеней» для поражения вирусом, главная из которых – фолликулярный эпителий – входит в состав ово-фолликулярных гистионов (фолликулов) и непосредственно окружает женские половые клетки [1, 2].

Несмотря на актуальность рассматриваемой проблемы и высокие показатели статистики идиопатических форм женского бесплодия, одна из причин которых может заключаться в инфицировании организма ВПП-2 и поражении ово-фолликулярных гистионов, роль ГРГИ в патологии женской репродуктивной функции практически не исследована [3, 4].

Цель исследования – выявление реактивных изменений ово-фолликулярных гистионов в экспериментальной модели ГРГИ.

Материал и методы исследования. Объектом исследования служили яичники половозрелых морских свинок, которые по степени чувствительности к ВПП-2 и закономерностям фолликулогенеза наиболее близки к человеку.

Исследованы 3 группы животных: контрольная, морские свинки в стадии ремиссии и в стадии обострения ГРГИ. Инфицирование животных производили в лаборатории цитокинов НИИ им. Н. Ф. Гамалеи (зав. лаб. – д. б. н. А. Н. Наровлянский) путем интравагинальной аппликации ВПП-2 (штамм MS в концентрации 10 PFU в объеме 0,1 мл). Активацию ГРГИ осуществляли с помощью однократного 10-минутного ультрафиолетового облучения по методу Stanberry L. R. (1989). При анализе материала использованы методы световой и трансмиссионной электронной микроскопии, морфометрии серийных гистологических срезов яичников, иммуноцитохимический метод с поликлональными кроличьими антителами к ВПП-2 и конъюгатом золота (10 нм), метод иммунофлуоресценции.

Результаты исследования и их обсуждение. При подсчете общего содержания фолликулов в яичниках морских свинок в стадии ремиссии, наступившей после трех последовательных обострений инфекции, обнаружено резкое (в 2,9 раза) снижение этого показателя по сравнению с контролем. При очередном обострении выявлено еще более выраженное (в 4,4 раза) уменьшение общей популяции фолликулов в яичниках. Количество здоровых по светооптическим признакам фолликулов у инфицированных животных обеих групп также существенно редуцировалось. Аналогичная отрицательная динамика зарегистрирована в абсолютном содержании здоровых фолликулов по стадиям развития (примордиальных, первичных, вторичных). Хотя абсолютное количество атретических фолликулов (общее и по стадиям развития) в яичниках инфицированных свинок снижалось (общее: до $453,21 \pm 0,53$ на яичник – в стадии ремиссии, $336,65 \pm 2,39$ – в стадии обострения; в контроле – $1214,15 \pm 0,97$), учитывая приведенные выше показатели общей численности фолликулов в яичниках животных всех трех групп, можно заключить, что у инфицированных животных происходит существенная активация атретического процесса. В стадии обострения в гонадах морских свинок отсутствовали третичные (преовуляторные) фолликулы.

При качественном (светооптическом и ультраструктурном) анализе атретических (погибающих) ово-фолликулярных гистионов у животных, инфицированных ВПП-2 (как в стадии ремиссии, так и при обострении), обнаружены

следующие отличия от физиологической гибели фолликулов. Наиболее выраженные изменения наблюдались в структуре клеток фолликулярного эпителия — основного тканевого компонента гистионов: набухание цитоплазмы и ядер эпителиоцитов, маргинация хроматина с признаками хроматинолиза; на ультраструктурном уровне — разрушение органелл мембранного типа и митохондриального аппарата клеток в первую очередь. Специфика изменений фолликулярных гистионов, имевших многослойный эпителий (первичных многослойных, вторичных, или полостных фолликулов), дополнялась картиной дезинтеграции эпителиального пласта и выраженной лейкоцитарной инфильтрации эпителия (в полостных фолликулах). Лейкоцитарная инфильтрация эпителия полостных фолликулов, очевидно, связана с резким повышением проницаемости региональных микрососудов, что «облегчает» проникновение вирусов и лейкоцитов.

Результаты проведенной реакции иммунофлуоресценции на антигены ВПГ-2 позволили установить, что зарегистрированные изменения эпителиальных клеток фолликулярных гистионов связаны с деятельностью вирусов. В эпителии примордиальных фолликулов иммунофлуоресценция антигенов вируса обнаруживалась в ядрах лишь некоторых эпителиоцитов, хотя структурные изменения были одинаково выражены во всех эпителиальных клетках. Эти факты не противоречат друг другу и соответствуют результатам существующих вирусологических исследований, проведенных *in vitro* на клетках одного типа, синхронизированных по фазе жизненного цикла. Согласно этим результатам внесение вируса в одну клетку вызывает однотипные структурные изменения во всех клетках культуры, эти изменения аналогичны нашим наблюдениям в эпителии примордиальных фолликулов. Мы полагаем, коль скоро клетки фолликулярного эпителия примордиальных фолликулов пребывают в состоянии пролиферативного покоя (с чем связано другое название примордиальных фолликулов — покоящиеся), их эпителиоциты можно рассматривать как синхронизированную клеточную популяцию.

В многослойных первичных атретических фолликулах иммунофлуоресценция антигенов ВПГ-2 регистрировалась во многих эпителиальных клетках, что, вероятно, объясняется активной пролиферацией эпителиоцитов на этой стадии развития гистиона и активным «использованием вирусом» биологического потенциала клеток для собственного воспроизводства и поддержания жизнедеятельности.

В полостных атретических фолликулах иммунофлуоресценция регистрировалась в клеточном детрите фолликулярного эпителия, ядрах множественных лейкоцитов, присутствовавших в нем, а также в ядрах эндотелиоцитов региональных сосудов фолликулов и текацитов.

Исследование локализации антигенов ВПГ-2 с помощью метода электронной иммуноцитохимии позволило выявить их присутствие не только в ядрах (ВПГ-2 — ДНК-вирус), но и в митохондриальном матриксе перечисленных выше клеток (рис. 1). В этой связи можно полагать, что ВПГ-2 способен проникать в митохондрии и использовать митохондриальную ДНК для собственной репродукции. Зрелые формы вируса обнаружены нами в эпителиоцитах атретических фолликулов только в стадии обострения ГРГИ (рис. 2).

При исследовании атретических фолликулов разных стадий развития у инфицированных морских свинок (как в стадии ремиссии, так и при обострении)

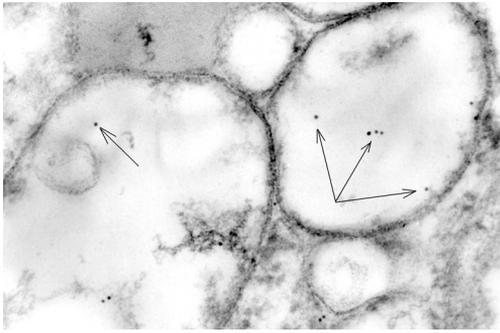


Рис. 1. Метка антигенов ВПГ-2 коллоидным золотом в матриксе митохондрий эпителиоцита. Электронная микрофотография. Непрямая иммуноцитохимическая реакция, ув. 40 000

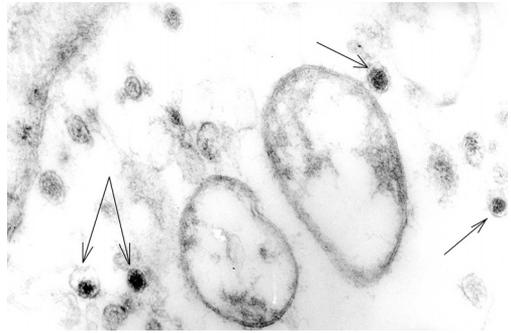


Рис. 2. Зрелые формы ВПГ-2 в эпителиальной клетке фолликулярного гистиона (стадия обострения ГРГИ). Электронная микрофотография, ув. 40 000

мы не зарегистрировали присутствия вирусов (антигенов вирусов) в половых клетках. На стадиях фолликулогенеза, когда в гистионах уже сформирована прозрачная зона (ПЗ) – не клеточная оболочка овоцитов – наблюдалось ее резкое (в 1,5–2 раза) утолщение, по сравнению с аналогичным признаком при физиологической атрезии. В составе ПЗ также не обнаружено зрелых форм ВПГ-2 или его антигенов. Приведенные факты интересно сопоставить с данными литературы о том, что вирус простого герпеса, внесенный *in vitro* в морулу, покрытую прозрачной зоной, не проникает в бластомеры. При удалении ПЗ возбудитель легко попадает в клетки зародыша. Хотя прозрачную зону овоцитов можно лишь условно сравнивать с ПЗ морулы (после оплодотворения ПЗ приобретает дополнительные барьерные свойства, связанные с кортикальной реакцией), все же можно полагать, что ПЗ овоцитов помимо прочих важных функций выполняет барьерную роль и в рассматриваемых условиях способна, вероятно, защитить половую клетку от проникновения вируса.

Как показали результаты наших опытов, половые клетки при атрезии, вызванной действием ВПГ-2, погибают идентично физиологической атрезии. Причиной гибели овоцитов можно считать поражение вирусом их ближайшего микроокружения в лице клеток фолликулярного эпителия. Последний является важнейшим структурно-функциональным компонентом ово-фолликулярных гистионов и, как показали полученные результаты, он подвержен негативному влиянию вируса. При его поражении вирусом половые клетки оказываются нежизнеспособными.

Заключение. В экспериментальной модели генитальной рецидивирующей герпес-вирусной инфекции возникают выраженные реактивные изменения ово-фолликулярных гистионов яичников морских свинок. Они заключаются в активации атрезии и глубоких структурно-функциональных нарушениях основного тканевого компонента гистионов – фолликулярного эпителия. Отсутствие вируса (антигенов вируса) в половых клетках обеспечивается совместно реактивными изменениями фолликулярного эпителия и барьерными свойствами прозрачной зоны гистиона.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Боровая Т. Г.* Актуальные аспекты ово-фолликулогенеза // Успехи совр. естествозн. 2003. № 1. С. 45–49.
2. *Боровая Т. Г.* К вопросу о регуляции гаметогенеза и гистионной организации овариальных фолликулов // Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии, гистогенез и регенерация тканей. СПб., 2004. С. 154–160.
3. *Шевлягина Н. В., Боровая Т. Г., Диденко Л. В.* Морфофункциональные изменения яичников морских свинок в экспериментальной модели хронической герпесвирусной инфекции // Бюлл. эксперим. биол., мед. 2008. № 8. С. 221–226.
4. *Shevlyagina N. V., Borovaya T. G., Didenko L. V.* Influence of herpes simplex infection on cysts formation in ovary // Science of Histochemistry, 2009, Tyrol, Austria.

Брюхин Г. В., Сизоненко М. Л., Романов А. С.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИНКРЕТОРНОЙ ФУНКЦИИ СЕМЕННИКОВ ПОТОМСТВА САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

*Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (заведующий – проф. Г. В. Брюхин)
Челябинской государственной медицинской академии, Челябинск, e-mail: sanis@bk.ru*

В сложившихся социально-экономических условиях репродуктивное здоровье населения становится фактором национальной безопасности, критерием эффективности социальной и экономической политики государства. Оно напрямую связано с решением демографических проблем. Рост интереса к проблеме репродуктивного здоровья мужчин вызван данными, свидетельствующими о снижении качества спермы и, как следствие, возрастании доли мужского фактора в структуре бесплодных браков, которое достигает 60 %. Большинство причин, вызывающих снижение репродуктивной функции мужчин, известно и достаточно хорошо изучено. Вместе с тем в настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что на становление систем жизнеобеспечения потомства оказывают существенное влияние экстрагенитальные заболевания матери, в том числе хронические заболевания гепатобилиарной системы, рост которых отмечается повсеместно.

В связи с этим целью настоящего исследования явился анализ особенностей становления эндокринной функции семенников у потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени различного генеза.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на белых лабораторных половозрелых крысах-самках линии «Вистар», у которых моделировалось хроническое поражение печени различной этиологии. Хроническое токсическое поражение печени у самок крыс моделировали путем подкожного введения по 0,1 мл 40%-ного масляного раствора гепатотропного яда – четыреххлористого углерода (подопытная группа 1) (Саркисов Д. С., Ремизов П. И., 1960). Аутоиммунный процесс с преимущественным поражением печени у животных моделировали путем длительной сенсibilизации гомологичным печеночным