

УДК 616.681–007.23: 616–092+611.165

© В. І. Півторак, О. А. Сміюха, М. П. Булько, 2013

ЕЛЕКТРОННО-МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЯЄЧКА ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ВАРИКОЦЕЛЕ ТА ОПЕРАЦІЇ ЗА ВЛАСНИМ МЕТОДОМ

В. І. Півторак, О. А. Сміюха, М. П. Булько*Кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – проф. Костюк Г. Я.), Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. 21018 Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова 56. E-mail: pivtorakv@gmail.com*

ELECTRON MICROSCOPIC CHANGES IN THE TESTICLE STRUCTURAL COMPONENTS AFTER VARICOCELE MODELING AND SURGERY BY THE AUTHORS' METHOD

V. I. Pivtorak, O. A. Smiyukha, M. P. Bul'ko

SUMMARY

We have performed experimental studies on ten mongrel male dogs. In the animals of the experimental group (five dogs) varicocele was modelled. In 30 days after varicocele creation, we performed surgeries on the animals of experimental group by our own method. We formed inervenous anastomoses to improve the blood outflow from the pampiniform plexus. The both testicles were examined in 60 days after creation of the varicocele model. After surgical correction of the experimental varicocele with use of the method that we worked out, we established a high regenerative ability of the testicles and a full restoration of their structural components. The use of venous anastomoses helps to reduce the venous pressure in the venous plexus, the blood outflow from the testicles, promotes normalization of testicular hemodynamics and eliminate circulatory hypoxia of the testicles, and improve the spermatogenesis indices.

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЯИЧКА ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ВАРИКОЦЕЛЕ И ОПЕРАЦИИ ПО СОБСТВЕННОМУ МЕТОДУ

В. И. Пивторак, А. А. Смиюха, Н. П. Булько

РЕЗЮМЕ

Экспериментальные исследования проведены на десяти беспородных собаках-самцах. Животным опытной группы (пять собак) создавали модель варикоцеле. Через 30 дней после создания модели варикоцеле животным опытной группы проводили оперативное вмешательство по собственной методике. Формировали венозные анастомозы для улучшения оттока крови из гроздевидного сплетения. Через 60 дней после создания модели варикоцеле исследовали оба яичка. После хирургической коррекции экспериментального варикоцеле по собственному методу отмечалась высокая регенеративная способность яичка и полное восстановление его структурных компонентов. Применение венозных анастомозов решает вопрос уменьшения венозного давления в венозных сплетениях, отводящих кровь от яичка, способствует нормализации тестикулярной гемодинамики и устранению циркуляторной гипоксии яичка и улучшает показатели сперматогенеза.

Ключові слова: варикоцеле, моделювання, яєчко, лікування, електронна мікроскопія.

Вивчення особливостей вен і паренхіми яєчка, які мають відношення до виникнення варикоцеле та порушення сперматогенезу не втрачає своєї актуальності у зв'язку з тим, що варикозне розширення вен зумовлює порушення репродуктивної функції [1, 8] та є одним із провідних чинників чоловічої безплідності [5]. Нездатність венозної ланки тестикулярного басейну адекватно приймати надходить об'єм крові обумовлена наступними чинниками: аномаліями венозних судин [6], клапанною недостатністю, природженою мезенхімальною недостатністю сполучної тканини венозної стінки [2], що призводить до синтезу патологічного колагену, який не здатний за своїми фізико-хімічними властивостями виконувати притаманні йому функції (підтримання балансу в'язкості і пружності).

При реносперматичному рефлюксі крові до яєчка механізм пошкодження сперматогенного епітелію визначають адрено-рефлюксом (токсичним впливом гормонів кори надниркових залоз),

метаболітів оксиду азоту, гіпертермією та гіпоксією гермінативного епітелію, ендокринним дисбалансом у функціонуванні клітин Лейдига і Сертоллі, міоїдних клітинах, експресією в сперматозоїдах гена HSPA2 [9].

Невизначеність і суперечливість в оцінці патофізіологічних порушень при варикоцеле, після хірургічного лікування варикоцеле, відсутність принципів вибору хірургічної тактики, обумовлюють дослідження ультраструктури компонентів яєчка після патогенетично обумовленого оперативного втручання [4].

На підставі морфологічного вивчення яєчка при експериментально-біологічному моделюванні варикоцеле і його хірургічній корекції сьогодні визріла необхідність вивчити причини недостатньо високої ефективності оперативного лікування, можливості таких ускладнень як безплідність, атрофія яєчка, визначення таких оперативних втручань, які гарантують часткове чи повне відновлення сперматогенезу в яєчку.

Мета дослідження: встановити субмікроскопічні зміни структурних компонентів яєчка після операції за власним методом, проведеної через 30 діб після моделювання варикоцеле.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведені на десяти безпородних собаках-самцях, масою від 9 до 12 кг. На проведення експерименту отриманий дозвіл комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 1 від 13 січня 2011 р.), якою встановлено, що проведені дослідження відповідають етичним та морально-правовим вимогам згідно наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. При проведенні досліджень дотримувалися основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21 лютого 2006 року.

Собак розподілили на контрольну та дослідну групи. В контрольній групі тварин двом безпородним собакам (контроль 1) ніяких втручань не проводили; трьом тваринам (контроль 2) під тіопенталовим наркозом проводили розтин черевної порожнини, після чого поширено ушивали черевну стінку та через 30 діб виконували розсікання й ушивання лівого пахвинного каналу.

Тваринам дослідної групи (п'ять собак) створювали модель варикоцеле. Моделювання варикоцеле проводили на безпородних собаках-самцях. Парентерально вводили гонадотропин 300 од/кг маси та 0,2 мл 1% розчину прогестерона на добу протягом 10-ти діб. На наступну добу операцію проводили під тіопенталовим наркозом: внутрішньооплевралью в ділянці заднього кута правої лопатки вводили свіже виготовлений 2% розчин тіопенталу натрію з розрахунку 1,5–2 мл на 1 кг маси тіла тварини (30–40 мг/кг). Для премедикації використовували внутрішньом'язове введення 2% розчину димедролу з розрахунку 0,2 мл на 1 кг маси тіла тварини (3–5 мг/кг) та 2,5% розчину аміназину з розрахунку 0,2 мл на 1 кг (5–7,5 мг/кг). Проводили серединну лапаротомію, накладали лігатуру на ліву ниркову вену на 2/3 її діаметра в місці між нижньою порожнистою й яєчковою венами. Введеним через ниркову вену бужом зруйновані клапани яєчкової вени. Рану поширено зашивали.

Через 30 діб після створення моделі варикоцеле тваринам дослідної групи проводили оперативне втручання за власною методикою [3]. Незважаючи на технічну складність цих операцій високу вірогідність тромбозу з подальшою тромбоемболією [6], формували міжвенозні анастомози для поліпшення відтоку крові з лозоподібного сплетення. Паріетальну очеревину відводили медіально. Заочеревинно знаходили яєчкову вену та глибоку вену, що огинає клубову кістку, перетинали їх таким чином, щоб проксимальний

кінець гілки глибокої вени, що огинає клубову кістку, мав повноцінний клапан. За допомогою прецизійної техніки нирковий кінець яєчкової вени та проксимальний кінець глибокої вени, що огинає клубову кістку зшивали між собою, формуючи анастомоз за типом «кінець-в-кінець». Яєчковий кінець яєчкової вени та проксимальний кінець додаткової поверхневої вени (або поверхневої вени, що огинає клубову кістку) теж зшивали між собою, формуючи анастомоз за типом «кінець-в-кінець». Дистальні кінці глибокої вени, що огинає клубову кістку, та додаткової поверхневої вени (або поверхневої вени, що огинає клубову кістку) перев'язували. Інтраопераційно при проведенні реконструктивних операцій вводили внутрішньовенно 0,3–0,5 мл гепарину, 5 мл трентала.

Через 60 діб після створення моделі варикоцеле досліджували обидва яєчка. Для забору матеріалу тварин після попередньої премедикації повторно вводили в наркоз, фіксували на операційному столі і проводили обробку операційного поля як для оперативного втручання. Операційну рану обробляли антисептиками і закривали її стерильними салфетками. Після цього проводили операцію по видаленню яєчок, і забирали матеріал для морфологічного дослідження. Для електронно-мікроскопічного дослідження кусочки яєчка фіксували в 2,5%-ому розчині глутаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксували в 1%-ому розчині чотирьохокисю осмію на фосфатному буфері, 1% розчині танінової кислоти, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, проводили в сумішах ацетону та епону та заливали в суміш епону та аралдиту. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином уранілацетата, а на зрізах – цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40–60 нм, отримані на ультрамікроскопі УМТП-7, вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

Статистична обробка отриманих результатів проведена з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Субмікроскопічні дослідження показали, що при варикоцеле за умов розробленого оперативного втручання (власно розробленого методу) у сім'яниках тварин на багатьох ділянках звивистих сім'яних каналців встановлена нормалізація структури стінки та сперматогенного епітелію.

В складі стінки каналців міоїдні клітини мають подовчасті, чітко контуровані без інвагінації каріолеми ядра, збережену цитоплазму з міофібрилами. Базальна мембрана чітко контурована, помірної товщини. Багато підтримувальних клітин з крупними округлими, з еухроматином у каріоплазмі ядрами. У цитоплазмі невеликі мітохондрії, переважно первинні лізосоми, є фагосоми (рис. 1).

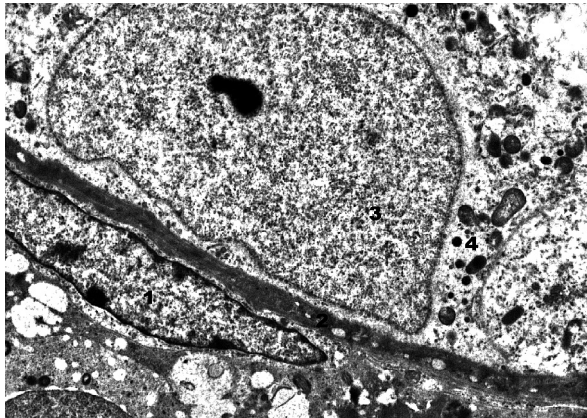


Рис. 1. Субмікроскопічна організація стінки сім'яного каналця та клітини Сертолі при моделюванні варикоцеле та власній операції. Міоїдна клітина (1), базальна мембрана (2), ядро (3): цитоплазма (4) x7000

Збережена структура сперматогоній, сперматочитів першого і другого типів. У сперматидях чітко ядро та сформована акросома. Проте наявні помірно розширені міжклітинні простори та окремі вакуолі у цитоплазмі сперматочитів.

Ближче до просвітів звивистих каналців виявляються сперматозоїди, які мають незмінену ультраструктурну організацію. У сформованій головці чітко визначається овальне осміофільне ядро, акросома, невеликий обвідок цитоплазми. За ядром наявна проксимальна центріоль та є ознаки формування хвостового відділу (рис. 2).

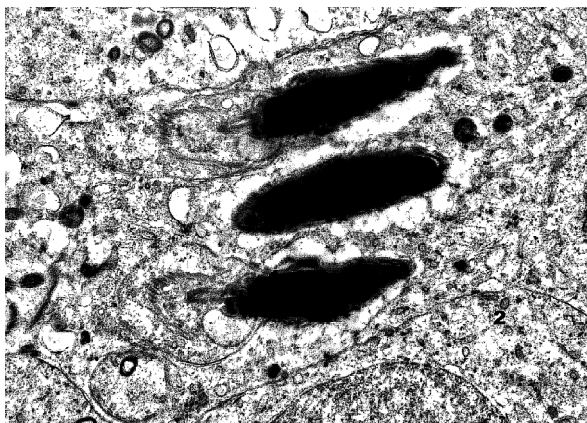


Рис. 2. Субмікроскопічна організація сперматогенного епітелію звивистого сім'яного каналця при варикоцеле та операції за власним методом. Сперматозоїд (1), сперматочит другого типу (2). x12000

У пухкій сполучній тканині, що розмежує звивисті сім'яні каналці, часто виявляються клітини Лейдига. Ультраструктурна організація частини з них свідчить про її активний стан. У цитоплазмі добре розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, багато рибосом, біля ядра локалізований комплекс Гольджі з цистернами і вакуолями у яких різна електронна щільність, що відображає синтетичний процес.

Ендокриноцити розташовані близько до стінки гемокапілярів. Останні мають помірні просвіти, не так значно кровонаповнені. На чіткій, неширокій базальній мембрані розташовані ендотеліоцити з вузькими цитоплазматичними ділянками.

Таким чином, після хірургічної корекції експериментального варикоцеле за власним способом відзначалася висока регенеративна здатність яєчка і повне відновлення його структурних компонентів.

Висновки. Субмікроскопічні дослідження показали, що при варикоцеле за умов розробленого оперативного втручання (створення двонаправленого анастомозу) у сім'яниках тварин на багатьох ділянках звивистих сім'яних каналців встановлена нормалізація структури стінки та сперматогенного епітелію.

Застосування венозних анастомозів вирішує питання зменшення венозного тиску в венозних сплетеннях, що відводять кров від яєчка, сприяє нормалізації тестикулярної гемодинаміки й усуненню циркуляторної гіпоксії яєчка, сприяє венозному дренажу органа, знижуючи ємкість його кровоносного русла та покращує показники сперматогенезу.

При проведенні подальших досліджень планується порівняти субмікроскопічні зміни структурних компонентів яєчка після формування міжвенозних анастомозів для поліпшення відтоку крові з гроноподібного сплетення та після операції за Іванісевичем.

Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова «Особливості компенсаторно-приспосувальних процесів в організмі при захворюваннях органів черевної порожнини, малого тазу та клініко-експериментальне обґрунтування нових способів хірургічного лікування» (№ державної реєстрації: 0106U006045).

ЛІТЕРАТУРА

1. Жиборев Б. Н. Варикоцеле, мужской гипогонадизм и репродуктивный прогноз / Б. Н. Жиборев // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. – 2008. – № 2. – С. 7–14.
2. Люлько О. В. Патоморфологічні зміни яєчок хворих на варикоцеле / О. В. Люлько, А. Л. Суварян, С. В. Садиков // Андрологія. – 2010. – № 5. – С. 20–26.
3. Пат. на корисну модель № 58808 У України, МПК А 61В17/00. Спосіб диференційованого хірургічного лікування хворих на варикоцеле / Сміюха О. А., Погорілий В. В., Півторак В. І., Монастирський В. М.: заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u201011754, Заявл. 04. 10. 2010. Опубл. 26.04.11. Бюл. № 8., 2с.
4. Сироид Д. В. Проблемы оперативного лечения варикоцеле / Д. В. Сироид, Н. В. Антипов // Клінічна анатомія та оперативна хірургія, 2009. – Т. 8. – № 4. – С. 76–78.

5. Топка Э. Г. Морфология внутриорганного русла мужской половой железы человека в норме и семенников некоторых животных при экспериментальных воздействиях / Э. Г. Топка // Вісник проблем біол. і мед. – 2003. – № 5. – С. 42–45.
6. Хмара Т. В. Поєднані вади чоловічих сечостатевих органів у 9-місячного плода / Тез. доп. Всеукр. наук. конф. «Акт. пит. вікової анат. та ембріотопографії» / Т. В. Хмара, Ф. Д. Марчук // Клін. анатомія та оперативна хірургія. – Т. 5, № 2. – 2006. – С. 84
7. Щебенюков М. В. Современные методы лечения варикоцеле / М. В. Щебенюков, В. К. Хабалов // Вестн. хирургии им. Грекова И. И. – 2002. – № 4. – С. 107–111.
8. Jequier A. M. Male infertility: a guide for the clinician / A. M. Jequier. – Blackwell, Science, 2000. – 375p.
9. Lima S. B. Expression of the HSPA2 gene in ejaculated spermatozoa from adolescents with and without varicocele / S. B. Lima, M. A. Cenedeze, R. P. Bertolla, [et al.] // Fertil. Steril. – 2006. – Vol. 86, № 6. – P. 1659–1663.