

Ультраструктурна організація звивистих сім'яних каналців яєчка щура в нормі та за умов експериментального цукрового діабету

Л.Р.Матешук-Вацеба, І.І.Савка

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра нормальної анатомії
Львів, Україна

Метою дослідження було встановити особливості ультраструктури звивистого сім'яного каналця яєчка щура в нормі та в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету. За допомогою методу електронної мікроскопії встановлено, що стінка звивистого сім'яного каналця щура побудована з трьох шарів – базального, міоїдного та волокнистого, перші зміни ультраструктури звивистих сім'яних каналців спостерігаються вже через два тижні перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету і нарастають упродовж наступних термінів експерименту. Деструктивні зміни при цукровому діабеті проявляються перебудовою ультраструктури усіх шарів стінки звивистого сім'яного каналця, зокрема розпушенням та перервністю базальних мембран, потовщенням шару колагенових волокон у неклітинних шарах стінки звивистого сім'яного каналця, зморщенням ядер, інвагінаціями нуклеолеми, редукцією крист мітохондрій міоїдних клітин та суспендоцитів, дегенерацією сперматозоїдів. Робота є основою для подальших досліджень і морфологів, і клініцистів щодо розробки в перспективі нових методів діагностики, профілактики та лікування патології яєчка у хворих на цукровий діабет.

Ключові слова: яєчко, ультраструктура, цукровий діабет, щур.

ВСТУП

Актуальність проблеми цукрового діабету зумовлена значною поширеністю захворювання, а також тим, що він є основою для розвит-

ку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідизації та смертності [1, 6]. Діабетична патологія супроводжується розвитком пізніх ускладнень [7]. Одним з органів, який страждає при цукровому діабеті, є яєчко. Проте у фаховій літературі виявлено лише поодинокі праці, присвячені патології статевих органів при цукровому діабеті [3, 4]. Одним із перспективних напрямів дослідження змін ультраструктури органів за умов цукрового діабету є використання експериментальних моделей [2, 5].

Метою дослідження було встановити особливості ультраструктури яєчка щура в нормі та в динаміці перебігу експериментального цукрового діабету.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження виконані на 20 білих статевозрілих самцях щурів віком 4,5-7,5 місяця і масою тіла 130-150 г. Матеріал дослідження представлений ультрамікроскопічними зрізами яєчка. Моделювання експериментального цукрового діабету викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину («Sigma» США), приготованому на 0,1 М цитратному буфері, рН=4,5, із розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини. Розвиток цукрового діабету контролювали за зростанням рівня глюкози в крові, який вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози понад 13,4 ммоль/л через 2, 4, 6, 8 тижнів після початку експерименту.

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тва-

ринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

При виконанні роботи використовувався метод електронної мікроскопії. Тварину виводили з експерименту шляхом передозування внутрішньоочередовинного наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг). Відразу після смерті тварини здійснювався забір і стандартне проведення матеріалу для електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі УЖТП-3 за допомогою скляних ножів. Для дослідження відбирали стрічки зрізів сріблястого або ніжно-цитринового кольору. Зрізи контрастували спочатку в 2% розчині ураніл ацетату, а потім цитрату свинцю. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа УЕМВ-100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа $\times 1000$ -12400.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Стінка звивистого сім'яного каналця щура побудована з трьох шарів — базального, міоїдного та волокнистого. Базальний шар утворений базальною мембраною та колагеновими волокнами. Базальна мембрана відмежовує вміст сім'яного каналця. Міоїдний шар складається з міоїдних клітин. Волокнистий шар містить базальну мембрану і сплетення колагенових волокон, до яких ззовні прилягають фібробластичні клітини. Таким чином, у стінці сім'яного каналця можна виділити шари, розміщені паралельно. Два з них побудовані з клітин, а два з неклітинних структур. Внутрішній неклітинний шар складається з базальної мембрани, до якої прилягає шар колагенових волокон. Внутрішній клітинний шар складається з міоїдних клітин. Ці клітини мають витягнуту форму і великі ядра. У цитоплазмі цих клітин чітко виражені елементи апарату Гольджі, гранулярної ендоплазматичної сітки. Мітохондрії дрібні, округлої або овальної форми. Характерною для цих клітин є наявність міофіламентів. Зовнішній неклітинний шар теж складається з базальної мембрани та колагенових волокон. До зовнішнього неклітинного шару прилягають клітини зовнішнього клітинного шару. Ці клітини належать до фібробластичного ряду.

Основною складовою частиною звивистого сім'яного каналця є сперматогенний епітелій. Він представлений власне клітинами сперматогенного епітелію, що відображають усі фази сперматогенезу, та сустентоцитами, або клітинами Сертолі. Усі вони містяться на базаль-

ній мембрані внутрішнього неклітинного шару стінки сім'яного каналця, проте безпосередній контакт з нею мають лише сперматогонії, сперматоцити на стадії прелептонеми та сустентоцити. Сустентоцити мають неправильну конічну форму. Ядра мають грушоподібну форму, містять ядерця. Оболонка ядер сустентоцитів утворює численні інвагінації. У цитоплазмі сустентоцитів міститься значна кількість мітохондрій, ліпідних включень, первинних лізосом. Добре розвинені апарат Гольджі та гладка ендоплазматична сітка. Мітохондрії є поліморфними, різних розмірів, мають електроннощільний матрикс та кристи у вигляді трубочок. У заглибинах на поверхнях сустентоцитів розміщені дозріваючі сперматогенні клітини. Між сусідніми клітинами Сертолі утворюються щільні замикаючі контакти. Зона цих контактів ділить вміст звивистих сім'яних каналців на два поверхи — зовнішній (базальний) і внутрішній (длюменальний). У базальному поверсі містяться сперматогонії, адлюменальний поверх містить сперматоцити 1-го та 2-го порядку, сперматида, сперматозоїди.

Сполучна тканина навколо звивистих сім'яних каналців містить густу сітку лімфогемокапілярів. Структури стінки звивистого сім'яного каналця та стінки гемокапіляра формує гематотестикулярний бар'єр. У сполучній тканині залягають також ендокриноцити яєчка. Ендокриноцити яєчка округлої або овальної форми, містять гладку ендоплазматичну сітку. Ядра їх неправильної форми, розміщені ексцентрично. Для мітохондрій ендокриноцитів характерні трубочасті і везикулярні кристи. У цитоплазмі ендокриноцитів містяться включення глікогену, глікопротеїнів. На периферії цитоплазми деяких клітин виявляється значна кількість вакуолей.

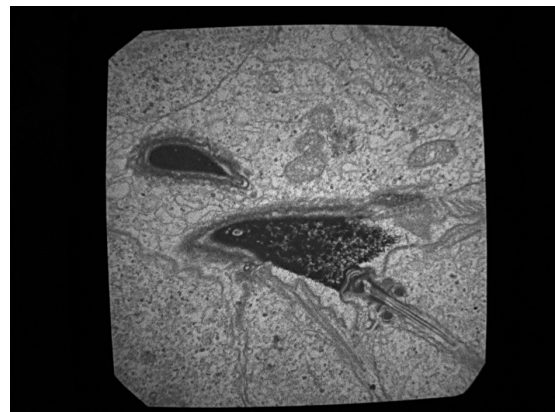


Рис. 1. Звивистий сім'яний каналець яєчка щура через два тижні перебігу експериментального цукрового діабету. Електронна мікрофотографія. Зб.: $\times 4000$

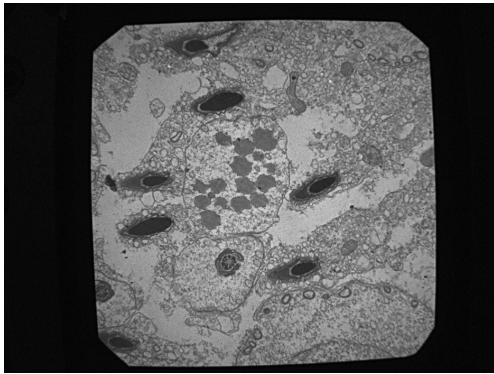


Рис. 2. Звивистий сім'яний каналець яєчка щура через шість тижнів перебігу експериментального цукрового діабету. Електронна мікрофотографія. Зб.: $\times 4000$

Через два тижні перебігу цукрового діабету більшість звивистих сім'яних каналців зберігають будову, близьку до звичайної (рис. 1). Однак у поодиноких сім'яних звивистих каналцях виявлено незначні зміни. Спостерігається зміщення шарів сперматогенного епітелію в бік просвіту каналців. Базальні мембрани набрякли. Виявлено сперматогонії типу А, з деструкцією крист мітохондрій, збільшенням кількості дрібних пухирців. У сперматоцитах та сперматидях на стадії прелептонеми цитоплазма слабкої щільності, ядра збільшені за розмірами, мітохондрії набрякли. Спостерігається дезорганізація структурних компонентів гладкої ендоплазматичної сітки та апарату Гольджі.

Через чотири тижні перебігу цукрового діабету спостерігаються більш глибокі зміни ультраструктури стінки звивистого сім'яного каналця. Контури зовнішнього та внутрішнього клітинних шарів дещо розмиті. Цитоплазма міоїдних клітин неоднакової електронної щільності, у ній з'являються вакуолі. Ядра витягнутої форми, з маргінальним розміщенням хроматину в нуклеоплазмі. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки розширені, апарат Гольджі представлений дрібними пухирцями. Мітохондрії з просвітленим матриксом і поодинокими кристами. У цитоплазмі клітин Сертолі виявлено багато вакуолей і ліпідних включень. Ядра неправильної форми. Нуклеома утворює значні інвагінації. Хроматин розміщується в нуклеоплазмі рівномірно. Канальці і цистерни гладкої ендоплазматичної сітки розширені. Апарат Гольджі представлений декількома великими пухирцями. Мітохондрії з матриксом слабкої щільності і деформованими кристами.

Через шість тижнів перебігу стрептозотиніндукованого цукрового діабету спостерігаються ушкодження звивистих сім'яних каналців, деструктивні зміни сперматид та сперматоцитів на стадії пахітени, а також у клітинних та неклітинних шарах стінки сім'яних

каналців (рис. 2). У цитоплазмі міоїдних клітин збільшується кількість везикул і мікропіноцитозних пухирців. У деяких ділянках міофіламенти зруйновані. Нуклеолема ядер суспендоцитів утворює інвагінації, хроматин розміщений маргінально. У цитоплазмі збільшується кількість крупних везикул та лізосом, а також клітинних включень. Мітохондрії з набряклим матриксом та неправильним розміщенням крист.

Через вісім тижнів перебігу експерименту цитоплазма міоїдних клітин просвітлена, ядра неправильної форми, з розрідженим хроматином у нуклеоплазмі. У мітохондріях відмічається гомогенізація крист. У суспендоцитах цитоплазма слабкої електронної щільності за рахунок збільшення кількості везикул та вакуолей. В ядрах хроматин розміщується нерівномірно. Відмічається фрагментація цитомембран каналців, цистерн гладкої ендоплазматичної сітки та пухирців апарату Гольджі. Зменшується кількість клітин сперматогенного епітелію. Нуклеоплазма ядер у зв'язку з нерівномірно розміщеним хроматином має неоднакову щільність, профілі гладкої ендоплазматичної сітки й апарату Гольджі різко розширені. У цитоплазмі ендокриноцитів збільшується кількість вакуолей.

Через десять тижнів перебігу стрептозотиніндукованого цукрового діабету базальна мембрана подекуди нерівно розширена, розпушена, перервана. Ядра міоїдних клітин зморщені, гіперхромні. Цитоплазма просвітлена, вакуолізована. Наростає кількість колагенових волокон у базальному шарі стінки звивистого сім'яного каналця. Ядра суспендоцитів великі, неправильної форми, з глибокими інвагінаціями, з нерівномірно розміщеним хроматином та світлою нуклеоплазмою. У цитоплазмі виявляються різних розмірів везикули. Матрикс мітохондрій низької електронної щільності. Кристи редуковані. У цитоплазмі сперматоцитів з'являються крупні вакуолі. Структура мітохондрію порушена, кристи не визначаються, матрикс просвітлений. Канальці гладкої ендоплазматичної сітки розширені. Апарат Гольджі фрагментований. Сперматозоїди знаходяться на різних стадіях дегенерації. Злиття плазматичних мембран сперматозоїдів здійснюється різноманітними способами (головка до головки, головка до тіла, хвіст до тіла та ін.). У місці злиття спостерігається зруйнування плазматичних мембран аглютинованих сперматозоїдів.

ВИСНОВКИ

1. Стінка звивистого сім'яного каналця щура, як і у людини, побудована з трьох шарів — базального, міоїдного та волокнистого.

2. Перші зміни ультраструктури звивистих сім'яних каналців спостерігаються вже через два тижні перебігу стрептозотоциніндукованого цукрового діабету і наростають упродовж наступних термінів експерименту.

3. Деструктивні зміни при цукровому діабеті проявляються перебудовою ультраструктури всіх шарів стінки звивистого сім'яного каналця, зокрема розпушенням та перервністю базальних мембран, потовщенням шару колагенових волокон у неклітинних шарах стінки звивистого сім'яного каналця, зморщенням ядер, інвагінаціями нуклеоми, редукцією крист мітохондрій міоїдних клітин та суспендоцитів, дегенерацією сперматозоїдів.

Робота є основою для подальших досліджень і морфологів, і клініцистів щодо розробки в перспективі нових методів діагностики, профілактики та лікування патології яєчка у хворих на цукровий діабет.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бродяк І.В. Вплив аміногуанідину на активність NO-синтази в лейкоцитах периферичної крові за умов стрептозотоцинового діабету в щурів / І.В.Бродяк, Н.О.Сибірна // Експериментальна фізіологія та біохімія. — 2006. — №3. — С. 45-49.
2. Кіхтяк О.П. Можливості відтворення цукрового діабету в експерименті / О.П.Кіхтяк, Н.В.Скрипник // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. — 2004. — №2. — С. 118-120.
3. Лучицький Є.В. Роль судинного чинника в порушенні статевої функції у чоловіків, хворих на цукровий діабет (огляд літератури) / Є.В.Лучицький, Т.П.Безверха // Ендокринологія. — 2006. — №1. — С. 55-62.
4. Структурно-функціональний стан та кровопостачання яєчок у хворих на цукровий діабет / Є.В.Лучицький, С.К.Кобяков, В.М.Славное та ін. // Буковинський медичний вісник. — 2002. — №1. — С. 79-81.
5. Цісельський Ю.В. Біохімічні зміни в організмі щурів при експериментальному цукровому діабеті 2 типу / Ю.В.Цісельський // Експериментальна фізіологія та біохімія. — 2008. — №2. — С. 17-19.
6. American Diabetes Association: Peripheral arterial disease in people with diabetes // Diabetes Care. — 2003. — Vol. 26. — P. 333-341.
7. Stevens M. The aetiology of diabetic neuropathy: the combined roles of metabolic and vascular defects / M.Stevens, E.Feldman, D.Greene // Diabetic Med. — 1995. — Vol. 12. — P. 566-579.

Л.Р.Матешук-Вацеба, И.И.Савка. Ультраструктурная организация извитых семенных канальцев яичка крысы в норме и в условиях экспериментального сахарного диабета. Львов, Украина.

Ключевые слова: яичко, ультраструктура, сахарный диабет, крыса.

Целью исследования было установить особенности ультраструктуры извилистого семенного канальца яичка крысы в норме и в динамике течения экспериментального сахарного диабета. С помощью метода электронной микроскопии установлено, что стенка извилистого семенного канальца крысы построена из трех слоев — базального, миоидного и волокнистого. Первые изменения ультраструктуры извилистых семенных канальцев наблюдаются уже через две недели течения стрептозотоцининдуцированного сахарного диабета и нарастают в течение следующих сроков эксперимента. Деструктивные изменения при сахарном диабете проявляются перестройкой ультраструктуры всех слоев стенки извилистого семенного канальца, в частности разрыхлением и прерывностью базальных мембран, утолщением слоя коллагеновых волокон в неклочочных слоях стенки извилистого семенного канальца, сморщиванием ядер, инвагинацией нуклеомы, редукцией крист митохондрий миоидных клеток и суспендоцитов, дегенерацией сперматозоидов. Работа является основой для дальнейших исследований и морфологов, и клиницистов по разработке в перспективе новых методов диагностики, профилактики и лечения патологии яичка у больных сахарным диабетом.

L.R.Mateshuk-Vatseba, I.I.Savka. Ultrastructural organization of convoluted seminiferous tubules of rat testis in normal and in experimental diabetes. Lviv, Ukraine.

Key words: testicle, ultrastructure, diabetic rat.

The aim of the was to determine the features meandering tubule ultrastructure of rat testis in normal and in dynamic flow experimental diabetes. By means of electron microscopy revealed that the wall meandering rat seminiferous tubules constructed of three layers: basal, mioid and fiber, the first changes in the ultrastructure of convoluted seminiferous tubules observed 2 weeks course streptozotocininduction diabetes and grow over the next term experiment. Destructive changes in diabetes manifested restructuring ultrastructure of all layers of the wall winding tubule, particularly loosening and continuity basement membrane thickening layer of collagen fibers in the non-cellular of the wall winding tubule, nuclei shrinkage, nukleomy intussusception, reduction of mitochondrial cristae and suspentotsytiv mioid cells, degeneration sperm. The work is the basic for further research and morphologists and clinicial to develop in the future new methods of diagnosis, prevention and treatment of testicular pathology in patients with diabetes mellitus.

Надійшла до редакції 21.06.2013 р.