

УДК: 611.637 + 572.7 + 611.161 + 616.-089.583.29
© Ковешніков В.Г., Пастухова В.А., 2011

МОРФОГЕНЕЗ ВНУТРІШНІХ ЧОЛОВІЧИХ СТАТЕВИХ ОРГАНІВ В УМОВАХ ПОМІРНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ

Ковешніков В.Г., Пастухова В.А.

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Вступ. В останні роки дослідниками різних спеціальностей багато уваги приділяється вивченню впливу різноманітних фізичних факторів на організм людини, особливо високих температур [1-3]. Найчастіше впливу гіпертермії підлягають робітники гарячих цехів машинобудівних та металургійних заводів, вугільних шахт, де люди постійно знаходяться в умовах теплової дії мікроклімата виробництва. Впливу температурного фактора піддаються також військові в період виконання навчальних і бойових завдань, особливо у південних країнах. За даними метеорологів в літній період в європейських країнах, в тому числі і на Україні температура навколишнього середовища перевищує 40-45⁰ С, тому усі пересічні громадяни теж знаходяться в гіпертермічних умовах протягом досить значного часу. Поодинокі та суперечливі повідомлення [4,5] про наявність гонадотропного ефекту загальної хронічної гіпертермії вимагають ретельного та всебічного вивчення цих питань, оскільки в період зростаючої екологічної загрози в сучасних умовах проблема збереження репродуктивного здоров'я є дуже актуальною. Тому **метою** нашого дослідження було проведення комплексного аналізу якісних та кількісних змін статевих органів щурів-самців після впливу на організм помірної гіпертермії.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом дослідження були внутрішні статеві органи статевозрілих щурів-самців, які щодня протягом 5 годин перебували в камері при температурі 39,6-40,9⁰С (помірна гіпертермія). Досліди проводилися згідно умов утримання та використання лабораторних тварин. З експерименту тварин вилучали через 60 діб. В цей же період імуноферментним методом визначали рівень вільного тестостерону в плазмі крові піддослідних тварин.

Для мікроскопічного дослідження сім'яники фіксували в суміші Карнуа, занурювали в парафін, готували тонкі зрізи та забарвлювали їх гематоксиліном і еозином. Препарати тонких зрізів фотографували за допомогою цифрової фотокамери та мікроскопу «Olympus». На препаратах яєчок розраховували наступні параметри: діаметр сім'яних каналців та товщину епітелія каналців. Виходячи із отриманих результатів, для кожного каналця розраховували коефіцієнт, який відображає відсоток заповненості каналця епітелієм. Також підраховували індекс сперматогенезу за чотирибальною системою Fogg and Cowing [6], визначали ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію. Дослідження над'яєчок включало вивчення відносної площі паренхіми та судинно-стромального компоненту органу, також заміряли діаметри ядер епітелію голівки над'яєчка і обчислювали їх об'єм. На препаратах передміхурової залози, зафарбованих гематоксиліном і еозином, вимірювали висоту

клітин залозистого епітелію. В сім'яних пухирцях експериментальних тварин вивчали висоту клітин епітелію, більший та менший діаметри ядер епітелію та їх об'єм.

При заборі матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки яєчок та передміхурової залози, розміром 1 мм³ фіксувалися у 2,5 % розчині глутарового альдегіду на фосфатному буфері з наступною дофіксацією в 1 % розчині OsO₄. Зневоднювання матеріалу та заключення його у суміш епоксидних смол проводилися згідно загально прийнятої методики [7]. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультратомі УМТП-4 Сумського виробничого об'єднання «Електрон» (Україна), після контрастування вивчалися та фотографувалися на електронному мікроскопі EM-125 того ж виробника.

Для імуноферментного дослідження рівня тестостерону крові забирали у тварин перед декапітацією з клубових судин. Рівень тестостерону в плазмі периферійної крові визначали із застосуванням імуноферментного фотометру «ЕФОС» 9305 (Росія) з дотриманням інструкцій виробника.

Статистичну обробку цифрових даних, отриманих при морфометричних дослідженнях, проводили з використанням пакета статистичних комп'ютерних програм для Windows та Excel. Оцінка наявності або відсутності значущих відмінностей між вибірок, що порівнювалися, здійснювалася за параметричним критерієм Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Одразу після закінчення експерименту вірогідних відмінностей між розмірно-ваговими показниками експериментальної та контрольної серії виявлено не було, але спостерігалось незначне збільшення всіх показників. Маса яєчок та над'яєчок через 60 діб впливу помірної гіпертермії була більшою відповідно на 2,5% та на 2% у порівнянні з контрольними показниками. Схожі зміни властиві і показнику маси передміхурової залози та сім'яних пухирців, яка одразу після закінчення впливу помірної гіпертермії збільшилась на 3,2% в порівнянні з контролем. Також спостерігається незначне збільшення лінійних розмірів: довжина та ширина вентральної частки передміхурової залози збільшуються на 2,6% та 2,7%, довжина та ширина сім'яних пухирців в цей же період збільшуються на 2,2% та 2,1% відповідно до контролю.

Рівень тестостерону в групі статевозрілих щурів зменшився на 5,2% в порівнянні з контрольними показниками.

В експериментальній групі статевозрілих тварин на рівні світлової мікроскопії на 1 добу після закінчення дії помірної гіпертермії в яєчках спостерігається незначне венозне повнокрів'я з наявністю в просвітах судин скупчення формених елементів крові. Подекуди периваскулярно визнача-

ються дрібновогнищеві крововиливи, визначається помірний набряк сполучної тканини. Більшість сім'яних каналців зберігають будову, близьку до звичайної. Однак, в порівнянні з контрольною серією тварин, збільшується до 15% кількість сім'яних каналців з легким ступенем пошкодження. Периваскулярно в субкапсулярних ділянках органу спостерігається накопичення трансудату з вмістом білкових речовин. Сперматогенний епітелій каналців яєчка виглядає дещо набряклим, визначаються ознаки його дисконплектації, агрегації. В суспендоцитах спостерігається вакуолізація цитоплазми. Часткова деструкція сперматогенного епітелію у формі цитолізу, дисконплектації сперматоцитів та сперматозоїдів спостерігається в поодиноких каналцях, що розташовуються субкапсулярно (рис.1).

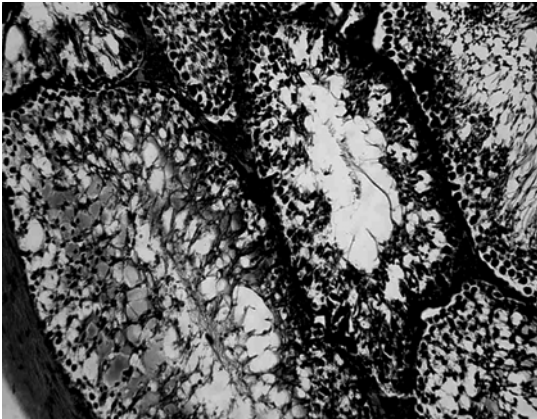


Рис. 1 Яєчко щурів статевозрілого віку через 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії. Дисконплектації сперматоцитів та сперматозоїдів в просвіті поодиноких сім'яних каналців яєчка. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: 400.

Однак, в більшості каналців визначаються ознаки нормального сперматогенезу з поліморфною морфологічною картиною залежно від фази сперматогенезу. В більшості сім'яних каналців яєчок спостерігаються сперматиди та сперматозоїди. Діаметр звивистих сім'яних каналців щурів, які знаходились під впливом помірної гіпертермії, збільшився в порівнянні з контрольними показниками на 5,05%, товщина епітелію та відсоток наповненості сім'яного каналця епітелієм при цьому зменшуються – на 4,3% та 7,6% відповідно. Протягом експерименту проходить незначне збільшення паренхіми яєчка на 3,4%. Проте, ці морфометричні показники не є статистично достовірними.

Сперматогенний епітелій виявився дуже чутливим до дії гіпертермічного фактору. Навіть за умови впливу помірної гіпертермії, спостерігався характерний перерозподіл клітин (рис. 2): вміст сперматогоніїв та сперматоцитів залишився незмінним, порівняно із контрольною групою тварин, проте значно збільшився вміст сперматид (до $47,8 \pm 8,9\%$) за рахунок зниження процентного співвідношення зрілих сперматозоїдів ($36,8 \pm 2,1$), що свідчить про негативний вплив помірної гіпертермії на сперміогенез. За рахунок зменшення кількості сперматоцитів в багатьох сім'яних каналцях відбувається зниження індексу сперматогенезу на 1,8% в порівнянні з контролем.

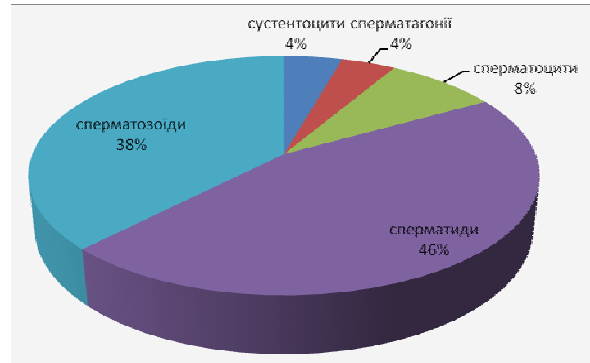


Рис. 2. Співвідношення різних типів клітин в епітелії звивистих сім'яних каналців через 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії.

При ультраструктурному дослідженні встановлено, що через 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії структурна цілісність звивистих каналців яєчка, в цілому, зберігається. Проте залишаються характерні ультраструктурні зміни окремих їх елементів. Відмічено розпушення та потовщення волокнистого шару стінки каналців. Фібробласти не формують суцільного шару, що сприяє підвищенню проникності гематотестикулярного бар'єру. Ядра міоїдних клітин ущільнені, пікноморфні. Їх цитоплазма - електронноущільнена за рахунок значної кількості міофіламентів, вміщує поодинокі активні мітохондрії та незначну кількість піноцитозних пухирців. Базальна мембрана сперматогенного епітелію потовщена.

В над'яєчках щурів через 1 добу після закінчення впливу на організм помірної гіпертермії відмічаються ознаки повнокрів'я венозних судин та помірно вираженого набряку сполучної тканини. Просвіти каналців виглядає розширеним. В просвітах прослідковується утворення агрегатів сперматозоїдів і їх просякнення еозинофільними масами (рис. 3). Клітини епітелію над'яєчка статевозрілих щурів експериментальної серії мають призматичну форму, з крупними ядрами. Об'єм ядер епітелію над'яєчка був на 8,1% більшим по відношенню до контрольних показників. Між елементами судинно-стромального компоненту йде незначне збільшення відносної площі паренхіми над'яєчка статевозрілих щурів: через 1 добу після закінчення експерименту на 6,1% по відношенню до контролю.

Передміхурова залоза щурів, які знаходились в умовах впливу помірної гіпертермії, має характерну будову: ззовні вона вкрита тонким сполучнотканинним шаром з невеликою кількістю пучків гладких міоцитів. Паренхіма, в свою чергу, представлена групами альвеолярних залозок, які складаються з кінцевих секреторних відділів і проток. У просвіті залоз наявний гомогенний секрет, який однак має різні властивості щодо показників гомогенності. На 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії в простаті визначаються ознаки набряку сполучної тканини та розширення просвітів секреторних відділів залоз. Висота клітин епітелію передміхурової залози щурів експериментальної серії збільшується по відношенню до контрольних показників на 5,6% ($p < 0,05$). В стромі передміхурової залози через 1 добу після закінчення дії помірної гіпертермії спостерігається зменшення вмісту колагенових волокон. Гладком'язові клітини збері-

гають свою ультраструктурну цілісність, містять значну кількість міофіламентів, субсарколемально розміщені кавеоли. Групи гладких міоцитів оточені дещо розпушеною базальною мембраною. Ендотелій гемокapілярів стоншений, з численними мікрроворостами на люменальній поверхні. Цитоплазма ендотеліоцитів електронно ущільнена, в ній візуалізуються піноцитозні везикули. Все це вказує на реактивну активацію транспортно-трофічної функції термінального відділу судинного русла за умови помірної гіпертермії.

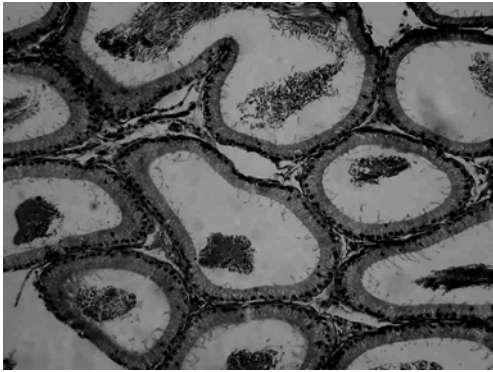


Рис. 3. Над'яєчко шурів статевозрілого віку на 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії. Утворення агрегатів сперматозоїдів в просвітах каналців над'яєчка і їх просякнення еозинофільними масами. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: 200.

Базальна мембрана епітелію секреторних відділів залоз простати зберігає на всьому протязі свою цілісність, рівномірна. Напівдесмосоми забезпечують міцне з'єднання епітеліального пласту з нею. Характерною є поява ділянок епітеліоцитів з ознаками апоптозу (рис. 4). Такі клітини втрачають контакти з сусідніми епітеліоцитами, ущільнюються, мають пікноморфне гіперхромне ядро, розширені каналці ендоплазматичної сітки. Інколи вони розміщуються навколо лімфоциту, що проник в товщу епітеліального шару. Останній проявляє ознаки білоксинтетичної активності, містить розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, ядро з переважанням еухроматину, вираженим ядерцем та численними ядерними порами.

Популяція епітеліоцитів представлена переважно клітинами в стадії активного синтезу. Вони мають свої особливості. Спостерігається маргинація хроматину в ядрі, яке утворює численні інвагінації каріолеми. Цитоплазма дещо ущільнена. В базальній частині епітеліоцитів спостерігається значна кількість гіпертрофованих, видовженої форми мітохондрій. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки розширені (переважно в апікальній частині клітини), вміст їх має підвищену електронну щільність. Зменшений вміст електроннощільних гранул. Натомість з'являється значна кількість мембранних включень із неоднорідним дрібнофібрилярним вмістом, які просторово пов'язані із структурами комплексу Гольджі, який у даній групі тварин добре виражений. Гранули на апікальній поверхні епітеліоцитів не утворюють підмембранних скупчень, кількість мікрворсинок також дещо зменшена, що вказує на зниження секреції компонентів простатичного секрету. На користь цього також свідчить відсутність в більшості ацинусів

простатичної рідини. Таким чином, на фоні активних білоксинтетичних процесів в епітеліоцитах даної серії тварин спостерігається порушення виділення утвореного секрету.

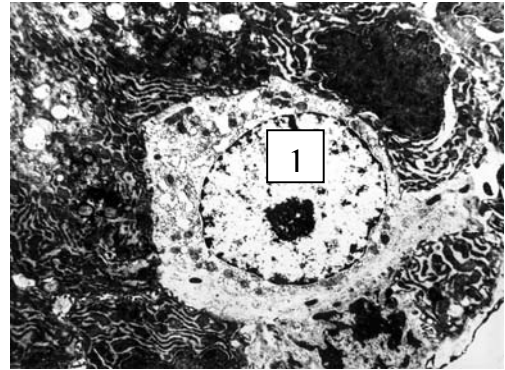


Рис. 4. Ультраструктура передміхурової залози статевозрілих шурів через 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії. Апоптозно змінені епітеліоцити навколо міжепітеліального лімфоцита (1). Зб. 8000.

Просвіт сім'яних пухирців шурів після 2-х місячного впливу помірної гіпертермії виглядає розширеним, в ньому визначається густий секрет, що забарвлюється рівномірно еозинофільно (рис. 5).

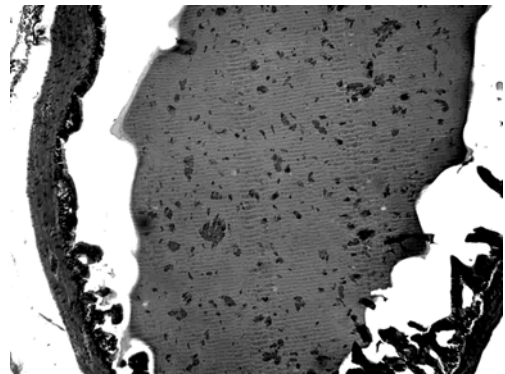


Рис. 5. Сім'яний пухирець статевозрілих шурів через 1 добу після закінчення впливу помірної гіпертермії. Розширення просвіту сім'яних пухирців з наявністю в них густого секрету. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: 400.

При вивченні розмірів епітеліоцитів та їх ядер встановлено, що при впливі помірної гіпертермії у статевозрілих шурів головні протоки сім'яних пухирців вкриті циліндричними епітеліоцитами. Середня висота клітин через 1 добу після закінчення впливу гіпертермії складає $12,68 \pm 0,15$ мкм, що на 2,5% більше, ніж в контрольній серії тварин. Ядра епітеліоцитів розташовуються в базальній частині клітин, мають рівномірно розташований хроматин. Ядра клітин епітелію крупні, про що свідчать їх розмірні показники: більший діаметр складає $5,78 \pm 0,2$ мкм, менший - $3,67 \pm 0,12$ мкм, що відповідно на 2,8% та 2,5% більше, ніж у контрольній серії тварин. Об'єм ядер на перший день після припинення впливу помірної гіпертермії збільшився на 5,5%

Висновки. Таким чином, навіть незначне підвищення загальної температури навколишнього середовища (помірна гіпертермія) призво-

дять до достатньо виражених змін в яєчках та над'яєчках у щурів, які проявляються порушенням мікроциркуляції (мікротромби та сладж-феномен формених елементів в судинах), дискомплектацією компонентів сперматогенного епітелію та гальмуванням поділу сперматоцитів, що призводить до різкого зменшення вмісту сперма-

тид на ранніх етапах формування. Що стосується передміхурової залози та сім'яних пухирців щурів, які знаходились в умовах впливу на організм помірної гіпертермії, то за даними комплексного морфологічного дослідження спостерігаються ознаки підвищення функціональної активності цих органів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Влияние в эксперименте факторов микроклимата и среды глубоких шахт на цитоморфологию некоторых отделов центральной нервной системы и эндокринной системы / [Каширина Н.К., Михальский В.В., Старлычанова Л.Д., Кашенко С.А.] // XI Всес. съезд ВНОАГЭ. – Винница, 1986. – С. 241.
2. **Плоткин В.Я.** Влияние острого и хронического перегревания на морфологические изменения в печени / В.Я. Плоткин, В.Я. Ребров, О.Н. Нишкурмай // Врачебное дело. – 1998. – № 8. – С. 85-88.
3. **Головина Л.Я.** Функциональное состояние эндокринной системы у рабочих горячих цехов / Л.Я. Головина // Врачебное дело. – 1981. – № 2. – С. 141-143.
4. **Кузнецова Т.Е.** Реакция на тепловой шок некоторых эндокринных органов в раннем постнаталь-
- ном онтогенезе / Т.Е. Кузнецова, О.А. Манеева, Е.Л. Рьжковская // Морфология. – 2002. – Т. 121, № 2-3. – С. 85.
5. **Резников А.Г., Кобяков С.К.** Реакции эндокринных желез самцов крыс на гипертермическое воздействие // Врачебное дело. – 1986. – №3. – С. 71 – 73.
6. **Fogg J.C.,** The changes in cell morphology and histochemistry of the testis following irradiation and their relation to other induced testicular changes. I. Quantitative random sampling of germinal cells at intervals following direct irradiation / J.C. Fogg, R.F. Cowing // Cancer res. – 1951. – №11. – P. 23-30.
7. **Карупу В. Я.** Электронная микроскопия / В. Я. Карупу. – Киев: Вища школа, 1984. – 208с.

Ковешніков В.Г., Пастухова В.А. Морфогенез внутрішніх чоловічих статевих органів в умовах помірної гіпертермії // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 109-112.

За допомогою комплексного морфологічного аналізу були досліджені статеві органи щурів-самців після 2-місячного впливу помірної гіпертермії. Виявлені достатньо виражені змін в яєчках та над'яєчках у щурів, які проявляються порушенням мікроциркуляції в судинах та дискомплектацією компонентів сперматогенного епітелію. При цьому спостерігаються ознаки підвищення функціональної активності передміхурової залози та сім'яних пухирців експериментальних тварин.

Ключові слова: яєчки, над'яєчки, передміхурова залоза, сім'яні пухирці, помірна гіпертермія, щури.

Ковешников В.Г., Пастухова В.А. Морфогенез внутренних мужских половых органов в условиях умеренной гипертермии // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 109-112.

При помощи комплексного морфологического анализа были исследованы половые органы крыс-самцов после 2-месячного воздействия умеренной гипертермии. Выявлены достаточно выраженные изменения в яичках и придатках яичек, которые проявляются нарушениями микроциркуляции в сосудах и дисконплектацией компонентов сперматогенного эпителия. При этом наблюдаются признаки повышения функциональной активности предстательной железы и семенных пузырьков экспериментальных животных.

Ключевые слова: яички, придатки яичек, предстательная железа, семенные пузырьки, умеренная гипертермия, крысы.

Koveshnikov V.G., Pastukhova V.A. Morphogenesis of internal male genital organs under moderate hyperthermia // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 109-112.

By means of complex morphological analysis genital organs of male rats were researched after applying moderate hyperthermia during two months. Apparent changes were detected in testes and epididymis characterized in microcirculation irregularity in vessels and disorder of seminiferous epithelium components. Along with that increase of functional activity of prostate and seminal vesicles of experimental animals were observed.

Key words: testes, epididymis, prostate, seminal vesicles, moderate hyperthermia, rats.

Надійшла 28.11.2010 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін