

- теристика розвитку двигательних центрів в шейних сегментах спинного мозга человека /К.В.Шулейкина //Архив анатомии, гистол. и эмбриол. - 1959. - №5. - С.42-54.
- Dasen J. Hox networks and the origins of motor neuron diversity //J.Dasen, T.Jessell //Curr. Top. Dev. Biol. - 2009. - №88. - P. 169-200.
- Eyre J.A. Development of the human spinal cord /J.A.Eyre, G.J.Clowry //Brain. - 2002. - №9. - P.2134-2136.
- Saitsu H. Involvement of the axially condensed tail bud mesenchyme in normal and abnormal human posterior neural tube development //H.Saitsu, K.Shiota //Congenit Anom (Kyoto). - 2008. - №1. - P.1-6.

Школьников В.С.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СТРУКТУР СПИННОГО МОЗГА ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА 14-15 НЕДЕЛЬ ВНУТРИУРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Резюме. Во время исследования плодов человека возрастом 14-15 недель внутриутробного развития установлены морфометрические параметры и особенности формирования образований серого и белого вещества спинного мозга.

Ключевые слова: морфометрические параметры, спинной мозг, серое вещество, белое вещество.

Shkolnikov V.S.

MORPHOMETRICAL PARAMETERS OF STRUCTURES OF SPINAL CORD OF THE HUMAN FETUS OF 14-15 WEEKS OLD OF INTRAUTERINE PERIOD

Summary. The study of human fetus at the aged 14 - 15 weeks old of fetal development the morphometric parameters and characteristics of the formation of masses of gray and white substance of the spinal cord are established.

Key words: morphometric parameters, spinal cord, gray substance, white substance.

Стаття надійшла до редакції 15.11.2012р.

© Сміюха О.А.

УДК: 616.681-007.23: 616-092+611.165

Сміюха О.А.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЯЄЧКА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ВАРИКОЦЕЛЕ

Резюме. Ультроструктурні дослідження яєчок тварин при моделюванні варикоцеле показали, що значно змінюються всі структурні компоненти органа. Спостерігається деструкція звивистих сім'яних канальців, підтримувальних клітин, сперматогенного епітелію.

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

Вступ

Варикоцеле, будучи одним з несприятливих прогностичних чинників розвитку безпліддя у чоловіків, викликає великі зміни в спермограмі від олігоспермії до азооспермії [Никифоров и др., 2009; Филоненко, Бабушкин, 2012]. До теперішнього часу основним методом вивчення патогенезу чоловічого безпліддя залишається морфологічний метод, який у комплексі з клінічними даними дозволяє проводити діагностику сомато-стативного стану хворого і вибрати метод лікування. Проведення морфологічного дослідження яєчка дозволяє визначити патологію та рівень пошкодження сперматогенезу [Schoor et al., 2002]. При варикоцеле відбувається розвиток патологічного процесу у структурних компонентах яєчка (так звана "варикозна орхопатія"), що має прямий негативний вплив на гермінативну функцію яєчок [Кондаков, Пыков, 2000]. Встановлено, що циркуляторна гіпоксія яєчка тривалістю 30 та 60 хв. викликає в ньому значні структурні зміни зі зменшенням діаметрів звивистих сім'яних трубочок, зниженням в них кількості статевих клітин, що розвиваються, особливо сперматоцитів на стадії пахітени та сперматид 7 етапу розвитку, котрі є особливо чутливими до циркуляторної гіпоксії [Глодан,

2008]. Припускають, що необструктивна форма азооспермії при варикоцеле пов'язана з ультроструктурними змінами в сім'яних канальцях.

Мета дослідження: встановити субмікроскопічні зміни структурних компонентів яєчка при моделюванні варикоцеле.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження проведені на 10 безпорідних собаках-самцях, масою від 9 до 12 кг. На проведення експерименту отриманий дозвіл комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету імені 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 розілили на 2 групи: контрольну та дослідну. У контрольній групі тварин двом безпородним собакам (контроль 1) ніяких втручань не проводили; 3

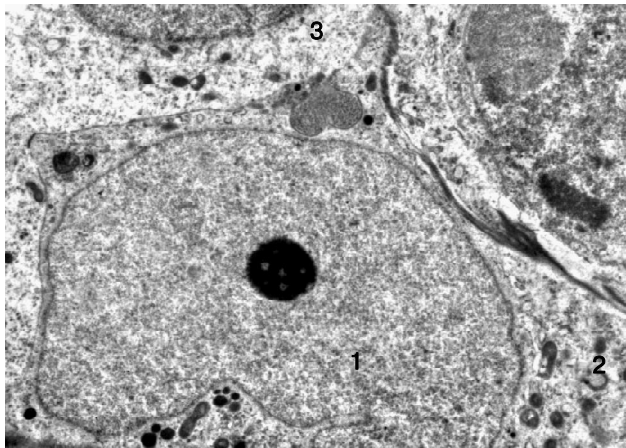


Рис. 1. Субмікроскопічна організація внутрішнього розташування клітин звивистого сім'яного каналця сім'яника інтактної тварини. Ядро (1) і цитоплазми (2) підтримувальної клітини, сперматоцит першого порядку. x7000.

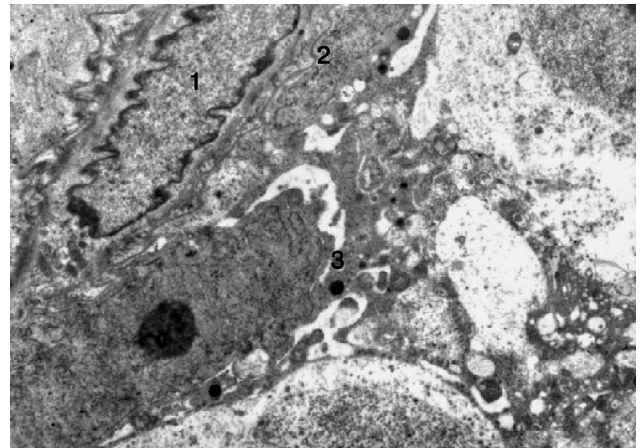


Рис. 2. Субмікроскопічна організація стінки звивистого каналця та нижньої частини його внутрішнього клітинного складу у тварин при моделюванні варикоцеле. Ядро (1) і цитоплазма (2) міюдної клітини, sustentоцит (3), сперматоцит I порядку (4). x7000.

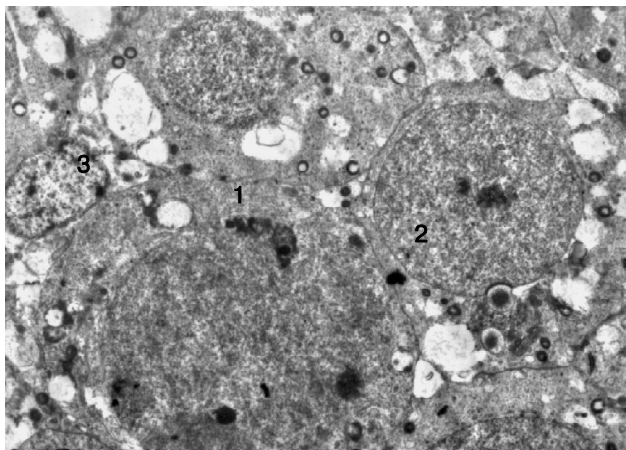


Рис. 3. Ультраструктура сперматогенного епітелію у звивистому сім'яному каналціку при експериментальному варикоцеле. Сперматоцит першого порядку (1), другого порядку (2), сперматогонія (3). x6000.

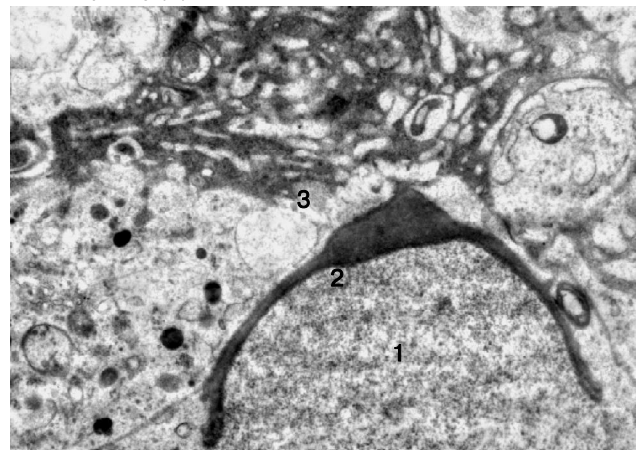


Рис. 4. Субмікроскопічна організація сперматиди в звивистому сім'яному каналціку сім'яника тварини при варикоцеле. Фрагмент ядра (1), акросома (2), цитоплазма підтримувальної клітини (3). x14000.

тваринам (контроль 2) під тіопенталовим наркозом проводили розтин черевної порожнини, після чого поширо ушивали черевну стінку та через 30 діб виконували розсікання й ушивання лівого пахвинного каналу.

Тваринам дослідної групи (5 собак) створювали модель варикоцеле. Після створення моделі варикоцеле ніяких втручань не проводили. 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 діб. На наступну добу операцію проводили під тіопенталовим наркозом: внутрішньоплеврально в ділянці заднього кута правої лопатки вводили свіжевиготовлений 2% розчин тіопенталу натрію із 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 у місці між нижньою порожнистою й яєчковою венами. Введеним через ниркову вену бужом зруйновані клапани яєчкової вени. Рану поширо зашивали.

Через 30 діб досліджували обидва яєчка. Для збору 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 у 2,5% розчині глутаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксо-

ували в 1% розчині чотирьохоксику осмію на фосфатному буфері, 1% розчині танінової кислоти, зневоднювали у батареї спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, проводили в сумішах ацетону та епону та заливали у суміш епону та аралдиту. Морфологічні структури контрастували у процесі зневоднення матеріала 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.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів.

Результати. Обговорення

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження ячок у контрольній групі тварин показали, що на базальній мембрані стінки звивистих каналців розміщені клітини Сертолі - суспендоцити та сперматогонії.

Підтримувальні клітини (клітини Сертолі) мають неправильну форму з відростками, плазмолема основи лежить на базальній мембрані. Крупні округло-овальні ядра з поодинокими інвагінаціями каріолеми мають електронно прозору каріоплазму, тому що в ній переважає еухроматин. Наявні осміофільні ядрця, багато рибосомальних гранул (рис. 1). У перинуклеарній ділянці цитоплазми наявні органели, невеликі мітохондрії, окремі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, рибосоми, переважно первинні лізосоми, спостерігаються мікрофіламенти.

На базальній мембрані біля бічних ділянок плазмолема підтримувальних клітин розташовані сперматогонії, невеликі клітини ядерного типу. Вище наявні сперматоцити першого і другого порядку, а ще вище сперматиди і сперматозоїди. Сперматиди першого порядку, що утворились у фазі росту клітин - клітини більші сперматогоній, у частині з них помітні хромосоми (див. рис. 1).

Внаслідок мейозу утворилися сперматоцити другого порядку, вони менші, ніж попередні клітини, мають кругле ядро і невелику площу цитоплазми.

У результаті фази дозрівання утворилися сперматиди, для яких характерна витягнута форма, овальне ядро, полярне розташування цитоплазми та формування акросоми. Остання має над'ядерне розташування і відрізняється значною осміофілією.

Сперматиди у фазі формування перетворюються у сперматозоїди, в яких визначається головка з осміофільним подовженим ядром над котрим розташована акросома. За ядром визначається проксимальна центріоль, а дистальна формує акросому хвостового відділу - джгутик. На подовжньому відділі спіралью розташовані мітохондрії навколо трубочок аксонами.

Субмікроскопічні дослідження сім'яників тварин при моделюванні варикоцеле показали, що значно змінюються всі структурні компоненти органа. У стінці звивистих сім'яних каналців ядра міоїдних клітин зберігають продовговату форму, проте їх каріолема утворює чисельні інвагінації. В цитоплазмі клітини частково пошкоджується міофібрили та мітохондрії, лізосоми. Базальна мембрана нерівномірно потовщена виглядає набряклою, просвітлюється і не чітко контурується (рис. 2).

Спостерігається деструкція підтримувальних клітин. Частина з них має осміофільну каріо- і цитоплазму. Ядра пікнотично змінені, з інвагінаціями каріолеми та вогнищево розширеними перинуклеарними просторами. Виявляється деструкція органел, каналці ендоплазматичної сітки розширені, на окремих ділянках значно, та утворюють світлі порожнини неправильної форми. Пошкоджені мітохондрії мають електронно прозорий матрикс, редуковані кристи. Цитоплазматичні відрости витончені, в них також наявна деструкція органел (див. рис. 2).

Спостерігається також пошкодження сперматогонного епітелію. Наявні пошкоджені сперматогонії мають пікнотичне з інвагінаціями каріолеми ядро та безструктурну цитоплазму. Більшість сперматоцитів першого порядку мають набряклу з просвітленими ділянками цитоплазми. Їх каріолема нечітко контурована (див. рис. 2, рис. 3).

У сперматоцитах першого і другого порядку цитоплазма має вакуолі різних розмірів, пошкоджені мітохондрії з осміофільним обвідком круглі включення. Розширюються міжклітинні проміжки (див. рис. 3).

Характерним для частини сперматид є дефекти акросоми, порушується чіткість плазматичної і ядерних мембран, каріоплазма виглядає гомогенною (рис. 4).

Встановлена також глибока деструкція частини сперматозоїдів. Їх головка зменшена зі значно осміофільним пікнотичним ядром. Цитоплазма навколо ядра також ущільнена, без структури. Навколо живих сперматозоїдів наявні електронно світлі зони, а групи клітин занурені у цитоплазму суспендоцитів (можливо вони фагоцитовані для утилізації).

В інтерстиції кровоносні капіляри залежно від площі перерізу мають різні просвіти, але в них завжди виявляються формені елементи крові, переважно еритроцити. Порушена чіткість базальної мембрани. Ядра ендотеліоцитів зберігають округлоовальну форму, але в них багато гетерохроматину, що утворює осміофільні ділянки, переважно біля каріолеми. Цитоплазма ендотеліоцитів нерівномірної товщини, має набряклі просвітлені ділянки без органел.

У клітинах Лейдига ядра зменшені, мають неправильну форму, електронно щільні гетерохроматинові ділянки у каріоплазмі. У цитоплазмі є електронно світлі, набряклі, безструктурні ділянки, ліпідні значної осміофільності включення розташовані групами. Невеликі мітохондрії мають гомогенний матрикс, у якому погано контуруються кристи.

Таким чином, аналіз отриманих нами результатів

виявив, що при варикоцеле в яєчках відбуваються зміни звивистих сім'яних каналців, пригнічення функції клітин Лейдига, ураження інтерстиціальної та сполучної тканини яєчка.

Багато дослідників вважають, що зміни в основних компонентах яєчка, як у паренхімі, так і в стромі обумовлені гіпоксією [Nistal et al., 2004].

Факторами, що негативно впливають на сперматогенез, вважаються механічне стиснення сім'явидних шляхів варикозно-розширеними венами [Кадыров, 2006], гіпоксія яєчок внаслідок стазу крові у венах сім'яного канатика, порушення венозного кровотоку та ретроградний рух крові, що призводять до збільшення температури яєчок і порушення синтезу стероїдів [Кадыров и др., 2010], пошкодження гематотестикулярного бар'єру з розвитком аутоімунних процесів, недостатність вироблення андрогенів клітинами Лейдига [Eisenberg, Lipshultz, 2011], порушення мікроциркуляції в яєчку внаслідок підвищення венозного тиску [Страхов, 2001], прямий скид у венозну систему лівого яєчка гормонів і вазоактивних субстанцій лівого наднир-

ника і нирки [Naughton et al., 2001].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. При експериментальному варикоцеле в гонадах тварин відбуваються значні зміни всіх структурних компонентів яєчка.

Деструкція підримувальних клітин проявляється пікнотично зміненими ядрами, деструкцією органел.

2. Пошкодження сперматогенного епітелію характеризується ураженням сперматогоній, сперматоцитів першого та другого порядку.

3. Клітини Лейдига змінюють свою форму, мають малі ядра, електронно світлі, набряклі та безструктурні ділянки цитоплазми, зруйновані мітохондрії.

4. Встановлена глибока деструкція частини сперматозоїдів.

При проведенні подальших досліджень планується визначити субмікроскопічні зміни структурних компонентів яєчка після оперативних втручань з метою ліквідації варикоцеле.

Список літератури

- Глодан О.Я. Морфофункціональні зміни в яєчку в умовах затискання кровонесних судин сім'яного канатика /О.Я.Глодан //Галицький лік. вісник.- 2008.- Т.15, №1.- С.12-14.
- Кадыров З.А. Варикоцеле /Кадыров З.А.- Душанбе, 2006.- 269с.
- Кадыров З.А. Двустороннее варикоцеле /З.А.Кадыров, Х.С.Ишонаков, Н.Ш.Сархадов.- Душанбе, 2010.- 96с.
- Кондаков В.Т. Варикоцеле /В.Т.Кондаков, М.И.Пыков.- М. ВИДАР-М.- 2000.- 99с.
- Никифоров О.А. Варикоцеле и infertility мужчин /О.А.Никифоров, В.И.Бачурин, С.А.Гриневич //Урология.- 2009.- №2.- С.56-58.
- Страхов С.А. Варикозное расширение вен гроздевидного сплетения и семенного канатика (варикоцеле) /Страхов С.А.- М., 2001.- 235с.
- Филоненко Т.Г. Значение биопсии яичка в диагностике мужского бесплодия /Т.Г.Филоненко, Е.Ю.Бабушкин //Таврический медико-биол. Вестник.- 2012.- Т.15, №1 (57).- С.277-280.
- Eisenberg M.L. Varicocele-induced infertility: Newer insights into its pathophysiology /L.M.Eisenberg, L.I.Lipshultz //Indian J. Urol.- 2011.- Vol.27, №1.- P.58-64.
- Naughton C.K. Pathophysiology of varicoceles in male infertility /C.K.Naughton, A.K.Nangia, A.Agarwal //Hum. Reprod. Update.- 2001.- Vol.7, №5.- P.473-481.
- Physiopathology of the infertile testicle. Etiopathogenesis of varicocele /M.Nistal, R.Gonzalez-Peramato, A.Serrano [et al.] //Archivos Espanoles de Urologia.- 2004.- Vol.57, №9.- P.883-904.
- Schoor R.A. The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility /R.A.Schoor, S.Elhanbly // J. Urol.- 2002.- Vol.167, №1.- P.197-200.

Смиуха А.А.

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЯИЧКА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ВАРИКОЦЕЛЕ

Резюме. Ультраструктурные исследования яичек животных при моделировании варикоцеле показали, что значительно изменяются все структурные компоненты органа. Наблюдается деструкция извитых семенных канальцев, поддерживающих клеток, сперматогенного эпителия.

Ключевые слова: варикоцеле, моделирование, яичко, электронная микроскопия.

Smiyuha O.A.

SUBMICROSCOPIC CHANGES IN STRUCTURAL COMPONENTS FOR MODELING VARICOCELE TESTICULAR

Summary. The ultrastructural studies of varicocele testicular animals showed that significantly change all the structural components of the organ. There is destruction of convoluted seminiferous tubules, supportive cells, spermatogenic epithelium.

Key words: varicocele, modeling, testis, electron microscopy.

Стаття надійшла до редакції 15.11.2012р.