

**ВПЛИВ ПОСТІЙНОЇ БЛОКАДИ КРОВОТОКУ ЯЄЧКОВОЮ АРТЕРІЄЮ
НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ В ЕКСПЕРИМЕНТІ****ДВНЗ «Прикарпатський національний університет****імені Василя Стефаника (м. Івано-Франківськ)****neonila.d@i.ua**

Дослідження виконане відповідно до плану наукової роботи ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника» і є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії і фізіології людини та тварин «Морфофункціональний стан кровоносного русла і тканинних елементів чоловічої статевих залоз в умовах впливу патогенних факторів», № державної реєстрації 0109U009082.

Вступ. Часто причиною зниження сперматогенної та ендокринної функцій яєчка є гострі та хронічні розлади кровообігу в ньому [2,8,9]. Останні можуть мати місце при компресії кровоносних судин яєчка вмістом грижового мішка та при хірургічних операціях на сім'яному канатику [3,5,6,7] з атрофічними змінами і розладами сперматогенезу. Але вплив блокади кровотоку яєчковою артерією на функції яєчка залишилися мало дослідженими [1,10,11], що і послужило **метою даної роботи.**

Об'єкт і методи дослідження. Досліди проведені на 20 лабораторних щурах-самцях масою 180-200 г, розділених на 4 групи, яким під загальним знеболенням блокували кровоток в лівій яєчкової артерії на 1, 7, 15 і 30 діб. Через названі терміни після операції здійснювали евтаназію тварин шляхом передозування наркозу. Для гістологічних досліджень шматочки тканин яєчка фіксували в розчині Буена, поміщали в парафінові блоки, зрізи з яких фарбували гематоксиліном і еозином та реактивом Шифф-йодна кислота з дофарбуванням гематоксиліном Ерліха. В гістологічних препаратах яєчка визначали: діаметр звивистих сім'яних трубочок (у мкм), ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію в них (%), кількість клітин сперматогенного епітелію, які трапляються на VII стадії циклу, об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів (у мкм³). Електронно-мікроскопічне дослідження структур яєчка проводили за загальноприйнятою методикою. Зрізи вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125 К із наступним фотографуванням при збільшенні від 4000 до 16000 разів.

Утримування, вигодовування та евтаназія відповідали чинним міжнародним вимогам щодо гуманного відношення до тварин (Страсбург, 1986) і загальноприйнятим національним нормам біоетики (Київ, 2001). Комісією з питань біоетики Прикарпатського національного університету імені Василя

Стефаника порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Статистичний аналіз отриманих показників проводили за допомогою комп'ютерної системи STATISTICA for Windows®, попарне порівняння результатів здійснювали методами непараметричного аналізу з використанням критерію Манна-Уїтні. Різницю між показниками вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. За нашими спостереженнями через одну добу після блокади кровотоку до яєчка яєчковою артерією в мікросудинах яєчка – явища стазу та дрібні крововиливи в сполучну тканину. Власна оболонка звивистих сім'яних трубочок потовщена за рахунок набряку, їх діаметр становить $(183,93 \pm 2,46)$ мкм. Звичайну будову зберігають 27% сім'яних трубочок, у 30% сім'яних трубочок визначається важкий ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію із зміщенням його шарів у просвіт та перетворенням у детрит. До базальної мембрани 28% звивистих сім'яних трубочок прилягають тільки підтримувальні епітеліоцити та сперматогонії. У 15% трубочок визначається легкий ступінь пошкодження клітин. Загальна кількість первинних сперматоцитів зменшилась до $143,0 \pm 6,28$, вторинних сперматоцитів – до $158,90 \pm 5,50$ і сперматид 7-го етапу розвитку – до $558,60 \pm 16,30$. В інтерстиційній тканині наявний набряк, об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів становить $(87,36 \pm 4,50)$ мкм³.

Із збільшенням терміну досліду до 7 діб просвіт кровоносних мікро судин яєчка звужений за рахунок потовщення їх стінок, в інтерстиції – лімфоцитарна інфільтрація. Діаметр звивистих сім'яних трубочок зменшений до $(157,24 \pm 3,80)$ мкм. У 12% звивистих сім'яних трубочок наявний легкий ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію, у 30% трубочок – важкий ступінь, а 30% сім'яних трубочок спустошені, звичайну будову зберігають 28% звивистих сім'яних трубочок. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів зменшується до $(70,30 \pm 1,50)$ мкм³. В цих умовах кількість первинних сперматоцитів зменшується до $130,50 \pm 5,80$, вторинних сперматоцитів – до $144,32 \pm 6,00$ і сперматид 7-го етапу розвитку – до $479,10 \pm 8,40$.

Через 15 діб після блокади кровотоку в яєчкової артерії гістоструктурні зміни в яєчку нарастають. Так діаметр звивистих сім'яних трубочок становить $(135,70 \pm 2,54)$ мкм, а їх кількість з важким ступенем пошкодження клітин сперматогенного епітелія – 36%, спустошених сім'яних трубочок – 34%, кількість сім'яних трубочок з легким ступенем пошкодження клітин зменшується до 14% і тільки 16% сім'яних трубочок зберігають будову, близьку до контролю. В цих умовах стінка кровоносних судин і власна оболонка звивистих сім'яних трубочок потовщена. Значна кількість сім'яних трубочок деформована. В інтерстиції наявні поодинокі інтерстиційні ендокриноцити, об'єм ядра яких зменшений до $(76,25 \pm 3,48)$ мкм³. Кількість первинних сперматоцитів зменшується до $130,05 \pm 5,48$, вторинних сперматоцитів – до $133,86 \pm 4,60$ і сперматид 7-го етапу розвитку – до $430,30 \pm 9,80$.

На 30 добу експерименту гістоструктурні зміни в яєчку прогресують. Зокрема в стінці звивистих сім'яних трубочок наявна проліферація сполучнотканинних елементів з явищами склерозування. Діаметр звивистих сім'яних трубочок становить $(128,32 \pm 2,00)$ мкм, кількість спустошених трубочок – 40%, сім'яних трубочок з тяжким ступенем пошкодження клітин – 37%, звичайну будову зберігають 8% сім'яних трубочок, у 15% сім'яних трубочок – легкий ступінь пошкодження. Суттєво зменшується кількість первинних сперматоцитів – $125,76 \pm 5,30$, вторинних сперматоцитів – $130,70 \pm 4,80$ та сперматид 7-го етапу розвитку – $408,20 \pm 6,30$. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів становить $(75,30 \pm 1,60)$ мкм³.

В умовах блокади кровотоку яєчковою артерією на 30 добу дослідження кровоносні капіляри яєчка деформовані, просвіт їх звужений, ядра ендотеліоцитів неправильної форми, з периферичною конденсацією хроматину. Внутрішня цитолема ендотеліоцитів з глибокими інвагінаціями, цитоплазма вакуолізована. Елементи комплексу Гольджі та ендоплазматичної сітки розширені, мітохондрії деформовані. Базальна мембрана капілярів фрагментована.

Базальна мембрана сперматогенного епітелія покручена (рис.), ядра міоїдних клітин деформовані, цитоплазма просвітлена, цитоплазматичні органи деформовані, міофіламенти не визначаються.

На відміну від контролю цитоплазматичний матрикс підтримувальних епітеліоцитів, що збереглися, просвітлений, з вираженою вакуолізацією, гребені мітохондрій редуковані, елементи комплексу Гольджі та ендоплазматичної сітки деформовані. В з'єднувальному апараті підтримувальних епітеліоцитів цитолеми зближені із значним розширенням просвіту каналців ендоплазматичної сітки (рис.), мікрофіламенти не визначаються. В цих умовах ядро інтерстиційних ендокриноцитів деформоване, а цитоплазма редукована, матрикс мітохондрій щільний, гребені деформовані, кількість жирових крапель незначна.

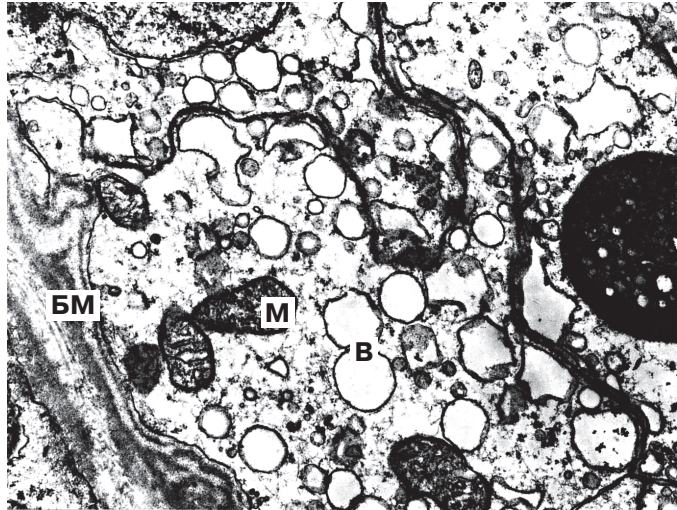


Рис. Покрученість базальної мембрани (БМ), вакуолізація (В) цитоплазми підтримувальних епітеліоцитів та редукація гребенів мітохондрій (М) через 30 діб після блокади кровотоку до яєчка. Електронна мікрофотографія. Зб. 12000.

Таким чином, нами показано, що при блокаді кровотоку яєчковою артерією гістоструктурні зміни в яєчку є більш вираженими, як при блокаді кровотоку артерією сім'яності протоки [6,7] і нарастають із тривалістю експерименту. Особливо очевидними вони є на 30 добу дослідів, коли у 4 рази збільшується в яєчку кількість спустошених трубочок, у 2 рази – кількість трубочок з тяжким ступенем пошкодження клітин сперматогенного епітелія. При цьому у 3 рази зменшується кількість сім'яних трубочок, що мають будову, близьку до контролю. Суттєво (у 2 рази) зменшується у звивистих сім'яних трубочках кількість вторинних сперматоцитів та сперматид 7-го етапу розвитку.

Також слід відзначити, що у розвитку структурно-функціональних змін в яєчку важлива роль належить ультраструктурній перебудові в стінці кровоносних капілярів, власній оболонці звивистих сім'яних трубочок та підтримувальних епітеліоцитах, на що є посилення в літературі [6,8]. Необхідно наголосити, що виявлений нами ступінь кількісних і якісних змін у звивистих сім'яних трубочках корелює зі ступенем гемодинаміки в яєчку, виявлений у чоловіків при косій пахвинній грижі та після пластики стінок пахвинного каналу за допомогою ультразвукової діагностики [3,8].

Висновки

1. Блокада кровотоку до яєчка яєчковою артерією порушує структуру гемокапілярів, міоїдних клітин власної оболонки звивистих сім'яних трубочок та підтримувальних епітеліоцитів – складових гематотестікулярного бар'єра.

2. Найбільш чутливими до блокади кровотоку яєчковою артерією є вторинні сперматоцити та сперматиди.

Перспективи подальших досліджень.

Вважаємо доцільним вивчення впливу хронічної ішемії яєчка на передміхурову залозу.

Література

1. Бойко М.І. Лабораторне дослідження еякуляту в прогнозі успішності циклів ДРТ при чоловічій неплідності / М.І. Бойко, І.С. Чернокульський // Урологія. – 2013. – № 2 (65). – С. 52-53.
2. Гадимов С.И. Мужское бесплодие: современное состояние проблемы / С.И. Гадимов, В.В. Иремашвили, Р.А. Тхагансоева // Ферматека. – 2009. – № 9. – С. 12-17.
3. Гемодинамічні зміни в кровоносних судинах сім'яного канатика та яєчка в умовах косої пахвинної грижі і після пластики пахвинного каналу / Б.В. Грицуляк, В.Б. Грицуляк, Є.А. Литвинець [та ін.] // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 45-48.
4. Гладкова А.И. Андрологические проявления стресса / А.И. Гладкова. – Харьков. – 2013. – 267 с.
5. Глодан О.Я. Вплив на сперматогенез тривалої фіксації сім'яного канатика під час пластики пахвинного каналу в експерименті / О.Я. Глодан // Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т. VII, № 4. – С. 20-22.
6. Зміни цитологічних показників яєчка після травми кровоносних судин сім'яного канатика в експерименті / Б.В. Грицуляк, В.Б. Грицуляк, І.Й. Івасюк [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2014. – № 4 (47). – С. 107-110.
7. Лісова Т.А. особливості цитологічних змін в яєчку в умовах блокади кровотоку артерією сім'явиносної протоки / Т.А. Лісова // Світ медицини та біології. – 2015. – № 2 (50). – С. 149-151.
8. Поливкан М.И. Ультроструктурные изменения в яичке после пластики задней стенки пахового канала при кривой паховой грыже / М.И. Поливкан // Curierul medical. – 2014. – № 3 (57). – Р. 42-44.
9. Чернокульський І.С. Морфологічні особливості чоловічих еякульованих сперматозоїдів в нормі та при неплідності / І.С. Чернокульський, Ю.Б. Чайковський, М.І. Бойко // Світ медицини та біології. – 2013. – № 4 (42). – С. 52-53.
10. Barone M.A. Aprospective study of time and number of ejaculations to azospermia after vasectomy by ligation and excision / M.A. Barone, H. Nazerali, M. Cortes // J. Urology. – 2003. – Vol. 170. – P. 376-379.
11. Schill W.B. Andrology for the clinician / W.B. Schill, F.H. Comhaire, T.B. Hargreave. – Москва. – 2011. – 793 p.

УДК 612.616 : 092.4

ВПЛИВ ПОСТІЙНОЇ БЛОКАДИ КРОВОТОКУ ЯЄЧКОВОЮ АРТЕРІЄЮ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Лісова Т. А.

Резюме. В досліджах на щурах із застосуванням гістологічного та електронно-мікроскопічного методів досліджень вивчено характер кількісних і якісних змін у звивистих сім'яних трубочках в умовах хронічної блокади кровотоку яєчковою артерією. Встановлено, що у віддалені терміни експерименту (30 діб) блокада кровотоку в яєчкової артерії призводить до деформації капілярів, цитоплазматичних органел в ендотеліоцитах, міоїдних клітинах, підтримувальних епітеліоцитах та інтерстиційних ендокриноцитах. Діаметр звивистих сім'яних трубочок зменшується до $(128,30 \pm 2,00)$ мкм, кількість спустошених трубочок становить 40%, кількість трубочок з тяжким ступенем пошкодження – 37%; звичайну будову зберігають 8% звивистих сім'яних трубочок. В цих умовах до $125,70 \pm 5,30$ зменшується загальна кількість первинних сперматоцитів, до $130,70 \pm 4,80$ – вторинних сперматоцитів і до $408,20 \pm 6,30$ сперматид 7-го етапу розвитку.

Ключові слова: яєчко, блокада кровотоку, сперматогенез.

УДК 612.616 : 092.4

ВЛИЯНИЕ ПОСТОЯННОЙ БЛОКАДЫ КРОВотоКА ЯИЧКОВОЙ АРТЕРИЕЙ НА СПЕРМАТОГЕНЕЗ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Лісова Т. А.

Резюме. В експериментах на крысах с применением гистологического и электронно-микроскопического методов исследовано характер количественных и качественных изменений в извилистых семенных канальцах в условиях хронической блокады кровотока яичковой артерией. Установлено, что на 30 суток блокада кровотока приводит к деформации капилляров, цитоплазматических органелл в эндотелиоцитах, миоидных клетках, поддерживающих эпителиоцитах и интерстициональных эндокриноцитах. Диаметр извитых семенных канальцев уменьшается до $(128,30 \pm 2,00)$ мкм, количество опустошенных канальцев составляет 40%, с тяжелым повреждением клеток – 37%, обычное строение сохраняют 8% канальцев. В этих условиях до $125,70 \pm 5,30$ уменьшается количество первичных сперматоцитов, до $139,70 \pm 4,80$ – вторичных сперматоцитов и до $408,20 \pm 6,30$ сперматид 7-го этапа развития.

Ключевые слова: яичко, блокада кровотока, сперматогенез.

UDC 612.616 : 092.4

THE EFFECT OF CONTINUOUS BLOCKADE OF BLOOD FLOW BY THE TESTICULAR ARTERY ON SPERMATOGENESIS IN EXPERIMENT

Lisova T. A.

Abstract. It is known that the reason for decline of spermatogenic and endocrine functions is acute and chronic disorders of the blood flow in it, which can occur during surgeries due to the plasticity of the walls of the inguinal canal and possible damage to the blood vessels of the spermatic cord. However, the impact of the blockade of blood flow by the testicular artery on spermatogenesis received little attention.

Object and methods of the research. Experiments were carried out on 20 mature male rats divided into 4 groups, which, under general anesthesia, have undergone the blockade of blood flow by the testicular artery for 1, 7, 15, and 30 days. Diameter of the convoluted seminiferous tubes, the degree of cell damage of spermatogenic epithelium,

their number on the VII stage of development and volume of nuclei of interstitial endocrinocytes were determined in histological preparations of a testis. Ultrastructural changes in the testis under these conditions were studied using the electron microscope ПЕМ-125 K under magnification of 4,000-16,000 times.

Statistical analysis of results was performed using computer system STATISTICA for Windows®. The difference between numbers was considered significant if $p < 0.05$.

Results of the research and their discussion. It was determined that the degree of structural and functional changes in the testis depended on term of blockade of blood flow by the testicular artery. In particular, in the 30th day of the experiment, atrophic changes in the organ progressed with a significant decrease (128.3 ± 2.00) of a diameter of the convoluted seminiferous tubes. The number of depleted tubes is 40%, the number of tubes with severe damage is 37%, while 8% of tubes maintain normal structure. There were significant decreases in the numbers of primary spermatocytes (125.70 ± 5.30), secondary spermatocytes (130.70 ± 4.80), spermatids of the 7th stage of development (408.20 ± 6.30) and the volume of nuclei of interstitial endocrinocytes (75.30 ± 1.60) μm^3 .

According to electron microscopy, in the 30th day of blockade of blood flow by the testicular artery, capillaries of testis were deformed, their lumen was narrowed, nuclei of the endothelial cells had irregular shape and peripheral condensation of chromatin. Inner cell membrane of endothelial cells had deep invaginations, and the cytoplasm was vacuolated. Elements of Golgi apparatus and endoplasmic reticulum were dilated, and mitochondria were deformed. Basal membrane of capillaries is fragmented, and basal membrane of spermatogenic epithelium is convoluted. Nuclei of myoid cells and cytoplasmic organelles are deformed. There is a divergence of cell membranes in the connecting apparatus of supporting epithelial cells with extension of lumen of tubules of endoplasmic reticulum; myofilaments are not defined. In these conditions, nucleus of interstitial endocrine cells is of small size, deformed, cytoplasm is reduced, mitochondria matrix is thick, cristae are deformed, and the number of fat droplets is small.

Conclusions. The blockade of blood flow to testis by the testicular artery disturbs the ultrastructure of haemocapillaries, myoid cells of membrane of the convoluted seminiferous tubes and supporting epithelial cells – components of the blood-testis barrier.

Secondary spermatocytes and spermatids are the most sensitive to the blockade of blood flow in the convoluted seminiferous tubes.

Keywords: testis, blockade of blood flow, spermatogenesis.

Рецензент – проф. Попович Ю. І.
Стаття надійшла 15.03.2016 року