

УДК 636.028:612.616:576.31

## **ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОЛОГІЧНОГО СТАНУ ЯЄЧОК САМЦІВ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ КАТЕГОРІЙ**

**Щербак О.В., к. с.-г. н., доцент, ст. наук. співробітник,**

*Харківська державна зооветеринарна академія*

**Лар'яновська Ю.Б., к. б. н., ст. наук. співробітник**

*Національний фармацевтичний університет, м.Харків*

***Анотація.** В статті наведено результати досліджень морфологічного стану яєчок щурів різного віку. Встановлено, що починаючи з пізнього зрілого періоду життя у самців щурів починають відбуватися суттєві якісні зміни у стані гонад, які супроводжуються кількісними змінами показників процесу сперматогенезу: зменшенням резерву статевих клітин та затримкою диференціювання статевих клітин.*

***Ключові слова:** самці щурів різного віку, яєчко щура, сім'яні каналі, сперматогенні клітини, сперматогонії, клітини Сертолі.*

**Актуальність проблеми.** На частоту виникнення вагітності у програмах екстракорпорального запліднення у значній мірі впливає якість перенесених ембріонів. Успішна робота ембріологічної лабораторії залежить від деяких факторів, таких як рівень кваліфікації персоналу, умови культивування, обладнання та найголовніше – якість отриманих гамет. Одним із факторів, який впливає на якість чоловічих гамет є вік самців. У літературі міститься достатньо суперечлива інформація про вплив цього чинника [1,2,3]. За одними даними вік впливає на об'єм еякулята, рухливість та морфологію сперматозоїдів, а не впливає на їх концентрацію [4]. За іншими даними об'єм еякулята не зменшується, але якість її значно зменшується.

**Метою** нашого дослідження було дослідити морфологічний стан яєчок нормальних щурів різного віку.

**Матеріали та методи досліджень.** Досліджена структурна організація яєчок самців нормальних щурів різного віку: 2,5 місячних та 3,5 місячних (пубертатний період життя), 6 місячних (репродуктивний період життя), 12 місячних (молодий зрілий період життя), 18 місячних (пізній зрілий період життя), 24 місячних та 30 місячних (старечий період життя) та 36 місячних (межовий старечий період життя). Тварин знеживлювали, зразки яєчок для морфологічного дослідження фіксували у 10% розчині формалі-

ну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, занурювали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксилином та еозином [5]. Проводили морфометричну оцінку стану сперматогенного епітелію за такими кількісними показниками:

а/ індекс сперматогенезу. Його рахували за 4-х бальною системою – фіксували в звивистих сім'яних каналцях наявність сперматогоній, сперматоцитів 1-го и 2-го порядку, сперматид и сперматозоонів (кожний шар – один бал). Потім за формулою  $\Sigma A/100$ , де А – кількість шарів у каналці, 100 – кількість підрахованих каналців, визначали індекс сперматогенезу (J).

б/ – відносна кількість звивистих сім'яних каналців з 12-ю стадією мейозу (метафазою 2-го поділу дозрівання) – підраховували при перегляді 100 каналців.

в/ – відносна кількість звивистих сім'яних каналців з злущеним сім'яродним епітелієм – підраховували при перегляді 100 каналців.

г/ - середня кількість нормальних сперматогоній в звивистих сім'яних каналцях – підраховували при перегляді 20 каналців (поєднання типів клітин у каналцях відповідало 7-й стадії циклу. Маркером слугували сперматиди з акросомною системою, що вкривала  $\frac{1}{3}$  ядра) [6,7].

Для аналізу кількісних ознак використовувалися методи описової та порівняльної статистики. Були обчислені значення середнього арифметичного, стандартного відхилення, стандартної похибки середнього, медіани та коефіцієнту варіації. Тест на відповідність нормальному розподілу здійснювали за допомогою критеріїв Лілліфорса та Шапіро-Уїлка. Попарні порівняння статистичної значущості наявних відмінностей між медіанами рядів на рівні імовірності  $p < 0,05$  здійснювали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні, а множинні порівняння – за H-критерієм Краскела-Уоліса. Обчислення проводили з використанням пакету статистичних програм Statistica 8.0.

Перегляд мікропрепаратів та відбитків секрету передміхурової залози проведено під мікроскопом Mikros 400 (Австрія), мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснено цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки оброблено за допомогою програми Nikon Viv 5.

**Результати досліджень.** Як показала оглядова мікроскопія, у самців щурів пубертатного, репродуктивного та молодого зрілого періоду життя (відповідно 2,5, 3,5, 6 та 12-ти місячного віку) часточки яєчка заповнені концентричними або сплющеними профілями зрізів сім'яних каналців, які достатньо щільно розташовані. Діаметр каналців звичайний, власна оболонка, білкова та судинна оболонки відповідали нормі. У сім'яних каналцях видно 3-4 генерації сперматогенних клітин, що знаходилися на різному ступені розвитку. Клітини розташовані концентричними шарами, упоряд-

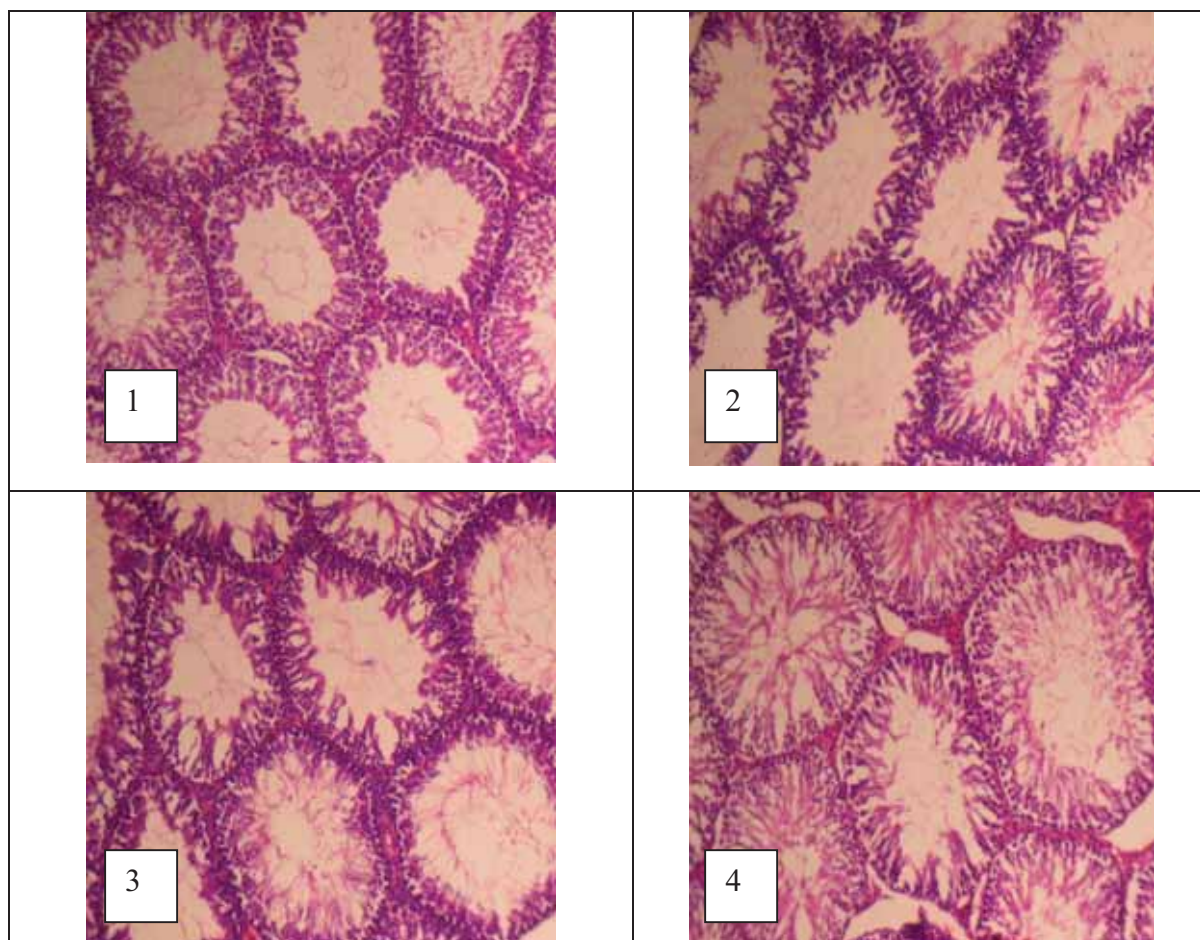
ковано, згідно з стадіями сперматогенного циклу. Клітинна популяція присутня у повному обсязі. Стрічка сперматогенного епітелію налічувала до 6-8 рядів статевих клітин. Сполучення клітин сперматогенного епітелію, що відповідало певним стадіям циклу, типове. У базальному відділі каналців розташовані ствольні клітини – сперматогонії, у проміжному – сперматоцити I-го та II-го порядку. У адлюмінальному відділі каналців добре визначалися сперматиди. У просвіті частини каналців видні сформовані сперматозоони, іноді – залишкові тільця (залишки цитоплазми, що скидали сперматиди по мірі дозрівання). Навколо власної оболонки каналців лежали достатньо чисельні суспенцити (підтримуючи клітини, клітини Сертолі). Вони мали широку основу та вузьку верхівку, крупне біле ядро. Цитоплазма клітин розповсюджувалася від периферії каналця крізь чисельні шари клітин, що приймають участь в утворенні сперматозоонів, до просвіту каналця. В ній часто помітні різні за розміром пустоти – жирові включення. Між сім'яними каналцями у сполучній тканині, навколо кровоносних судин, видно скупчення нечисленних клітин з помірно варіюючими за розміром ядрами – гландулоцитами (клітини Лейдіга). В різних каналцях чітко простежено не тільки сперматогенез (процес послідовних перетворень зародкових клітин: сперматогонія – сперматозоон), але і сперміогенез – етапи клітинних перетворень від сперматиди до сперматозоона (рис. 1).

Кількісні показники процесу сперматогенезу щурів цих вікових категорій відповідали фізіологічній нормі і подані у таблиці 1.

У більшості щурів пізнього зрілого періоду життя стан тестикулярної тканини, кількісні показники процесу сперматогенезу практично не відрізнялися від аналогічних показників у щурів 2,5 – 12 місячного віку (рис. 2).

Проте, у 2-х з 6-ти досліджених тварин при оглядовій мікроскопії спостерігали деструкцію тестикул. Цілий ряд сім'яних каналців був спустошений. Статеві клітини у таких каналцях або були повністю відсутні (в наявності тільки клітини Сертолі без помітних змін), або було виразно розріджено їх розташування, проглядалися різного розміру прогалини у стрічці епітелію. Самі каналці значно зменшилися у розмірі. Видні були поодинокі клітини-кулі, які утворилися внаслідок порушення поділу сперматоцитів та формуванню багатоядерних структур, виштовхуванню їх у просвіт каналця. Спостерігали появу каналців з злущеним епітелієм (безладним переміщенням структурних елементів у просвіт каналця), що свідчило про послаблення зв'язку цитоплазматичних оболонок сперматоцитів та сперматид з суспенцитами. Помітних змін клітин Лейдіга не помічено (рис. 3,4,5).

В цілому ж по групі середні параметри сперматогенезу у щурів пізнього зрілого періоду життя не змінилися, відмічена лише тенденція до зниження індексу сперматогенезу відносно щурів пубертатного періоду



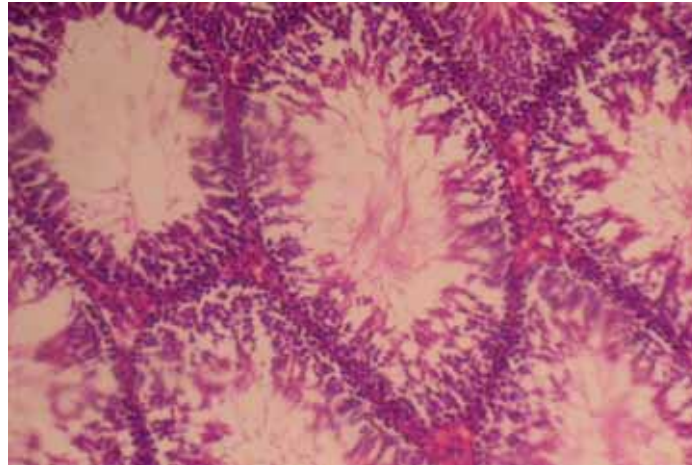
**Рис. 1. Яєчко щура: 1 – 2,5 місяця, 2 – 3,5 місяця, 3 – 6 місяців, 4 – 12 місяців. Нормальна морфологічна будова тестикулярної тканини. Стрічка сперматогенного епітелію містить багато шарів статевих клітин різного етапу розвитку. Гематоксилін-еозин. x100**

Таблиця 1

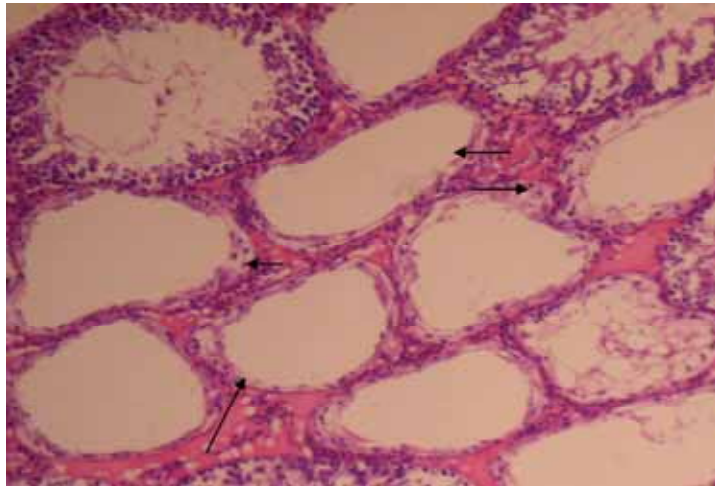
**Кількісні показники процесу сперматогенезу у щурів різних вікових груп**

Вік щурів, місяці	Показники			
	Кількість нормальних сперматогоній у канальці	Індекс сперматогенезу, бали (J)	Кількість канальців з 12-ю стадією мейозу, %	Кількість канальців з злущеним епітелієм, %
2,5	58,64±0,78	3,38	5,20	0
3,5	60,54±0,30	3,35	4,80	0,20
6	60,31±0,71	3,36	4,60	0,10
12	62,03±1,20	3,35	5,00	0,33
18	54,82±3,91	3,14	4,83	0,66
24	60,40±1,09	3,29	5,00	0,33
30	61,55±0,77	3,31	5,28	4,00
36	54,21±4,37	3,06	4,28	3,28

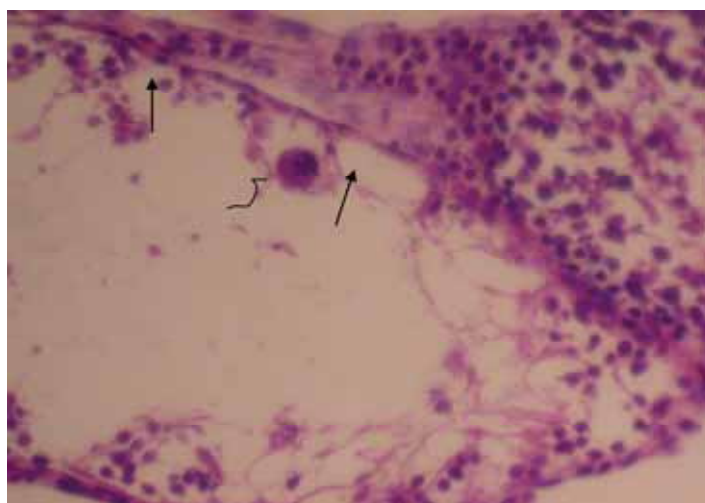




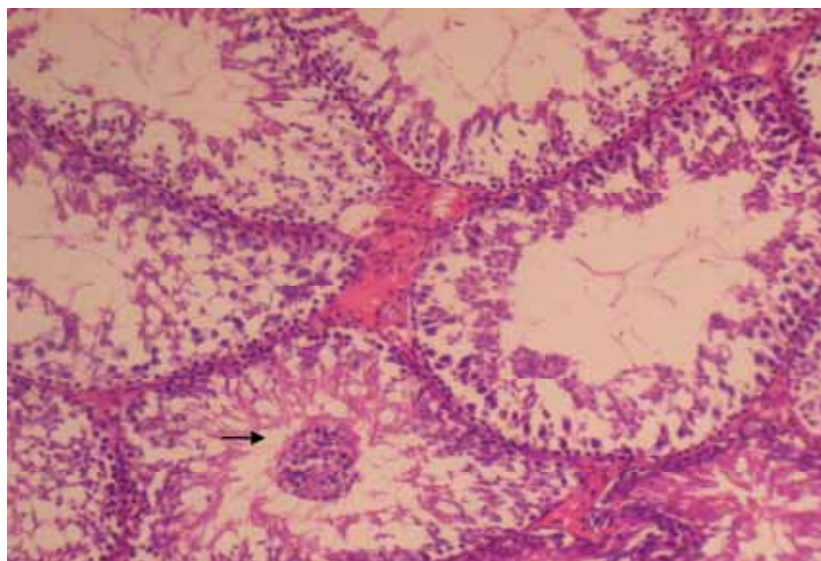
**Рис. 2.** Яєчко щура пізнього зрілого періоду життя (18 місяців). Нормальний стан сім'яних канальців. Гематоксилін-еозин. x200



**Рис. 3.** Яєчко щура пізнього зрілого періоду життя (18 місяців). Осередковане спустошення сім'яних канальців. Гематоксилін-еозин. x100



**Рис. 4.** Яєчко щура пізнього зрілого періоду життя (18 місяців). Прогадини (стрілки) у стрічці сперматогенного епітелію, клітина – куля (фігурна лінія) у просвіті канальця. Гематоксилін-еозин. x250

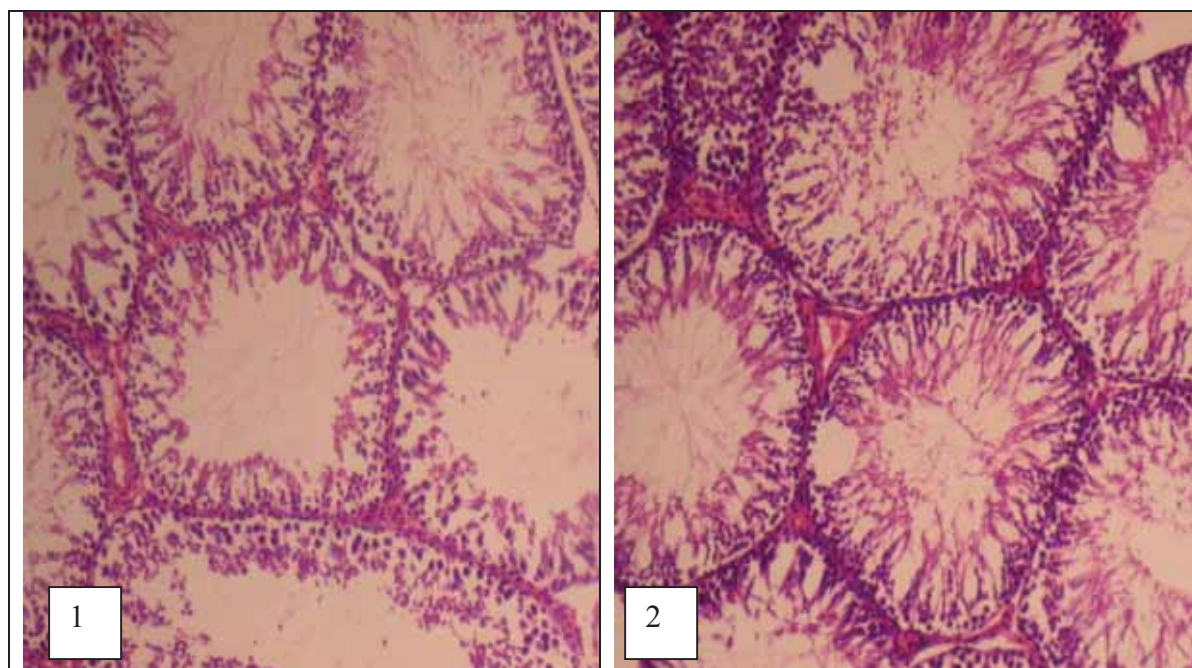


**Рис. 5. Яєчко щура пізнього зрілого періоду життя (18 місяців). Злушення сперматогенного епітелію у каналці (стрілка).**

**Гематоксилін-еозин. x200**

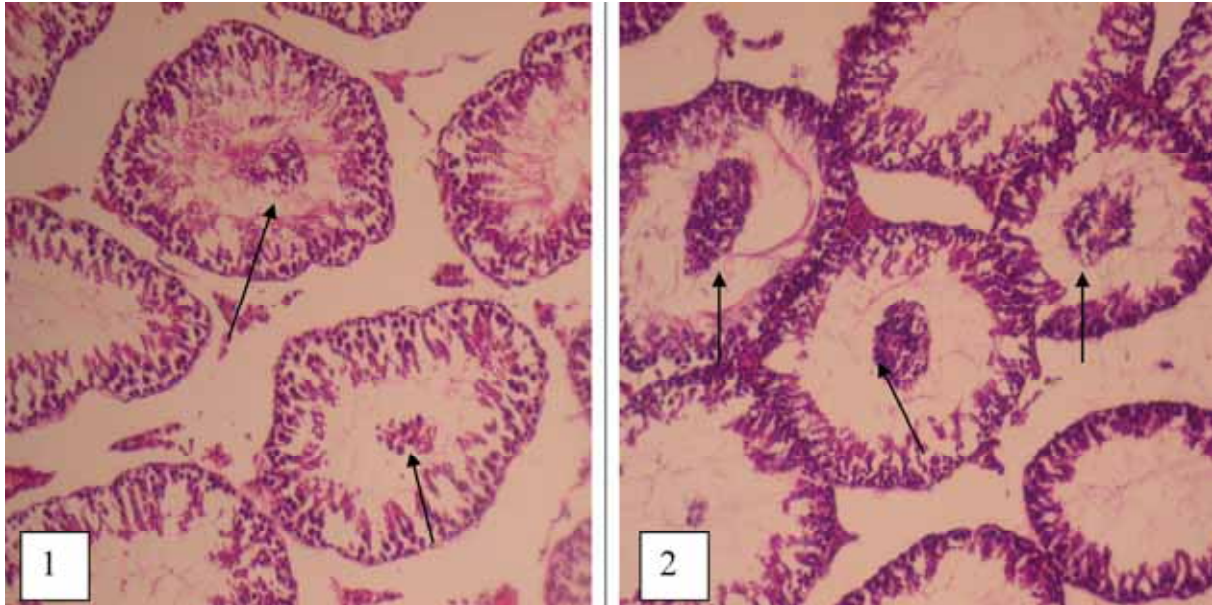
життя (таблиця 1).

У значній кількості щурів старечого періоду життя (24 та 30 місяців) у більшості сім'яних каналців зорво не спостерігали помітних змін у стані сперматогенного епітелію (рис. 6). Однак, відмічено збільшення випадків злушення епітелію (рис. 7), наявності прогалин та зменшення рядів клітин у стрічці епітелію (рис. 8)

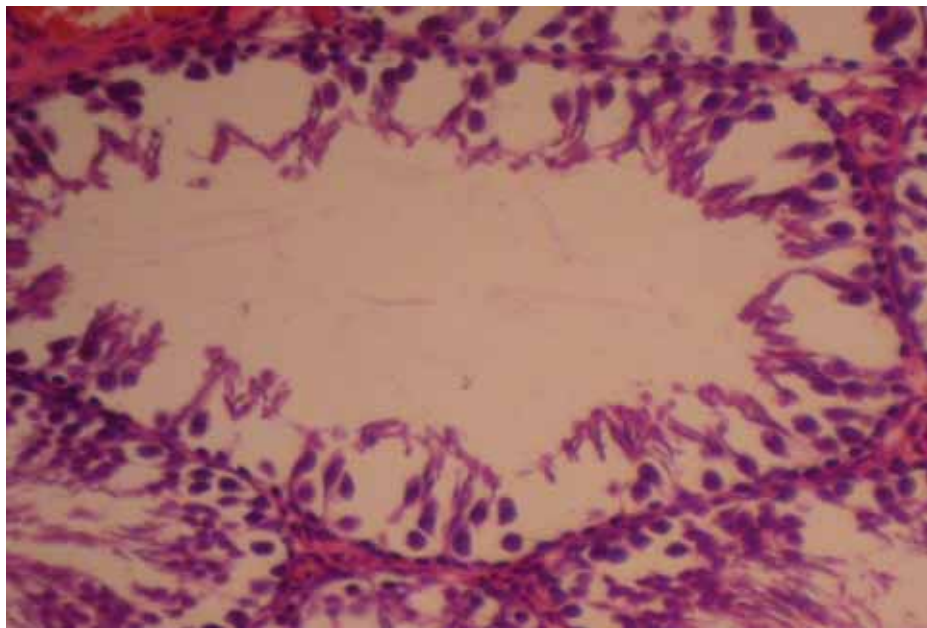


**Рис. 6. Яєчко щура старечого періоду життя: 1 – 24 місяця, 2 – 30 місяців. Сім'яні каналці нормального розміру, пул статевих клітин подано у повному обсязі. Гематоксилін-еозин. x100**





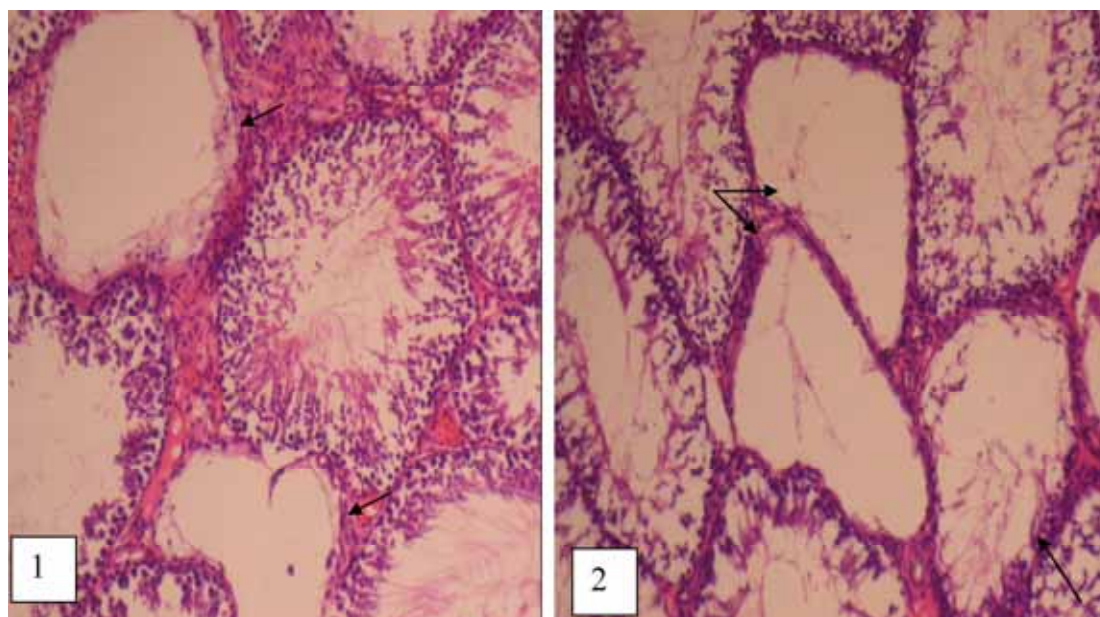
**Рис. 7. Яєчко щура старечого періоду життя: 1 – 24 місяця, 2 – 30 місяців. Злушення сім'яродного епітелію у просвіт каналців (стрілки). Гематоксилін-еозин. x100**



**Рис. 8. Яєчко щура старечого періоду життя (30 місяців). Прогалини та зменшення рядів статевих клітин у стрічці епітелію у каналці. Гематоксилін-еозин. x250**

Крім того, у 2 з 6 та у 2 з 7 тварин відповідних груп виявлені поодинокі спустошені каналці (рис. 9).

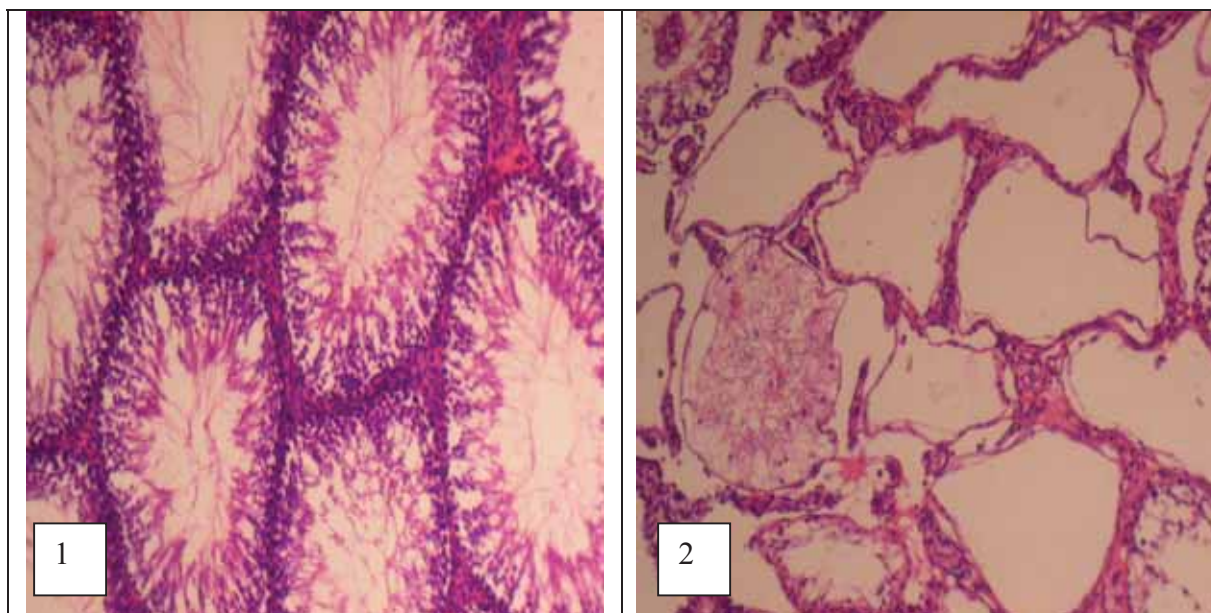
Кількісна оцінка сперматогенезу щурів старечого періоду життя показала, що у них зменшився індекс сперматогенезу (вірогідно у 24 місячних та тенденція – у 30 місячних)) та збільшилась відносна кількість каналців з злущеним епітелієм (30 місяців) відносно щурів пубертатного пері-



**Рис. 9. Яєчко щура старечого періоду життя: 1 – 24 місяця, 2 – 30 місяців. Поодинокі спустошені каналці (стрілки). Гематоксилін-еозин. x200**

оду життя (таблиця 1).

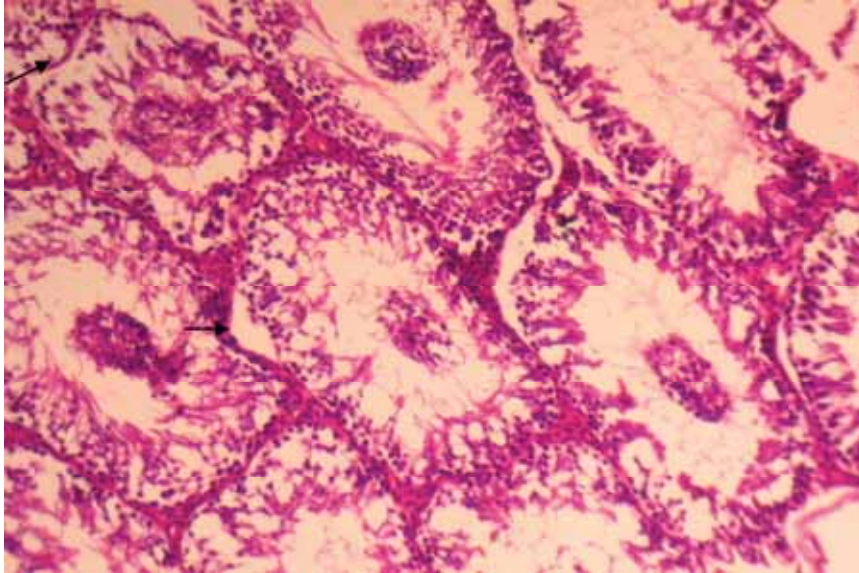
Мікроскопічне дослідження стану яєчок щурів межового старечого періоду життя не виявило збільшення випадків порушення морфологічної будови органу у тварин цієї групи порівняно з попереднім старечим періодом життя тварин. В той же час, потужність деструктивних змін у стані тестикулярної тканини у деяких щурів (2 з 7) зростала (рис. 10).



**Рис. 10. Яєчко щура межового старечого періоду життя (36 місяців): 1 – нормальний стан сім'яних каналців, сперматогенного епітелію; 2 – вогнищевий асперматогенез. Гематоксилін-еозин. x200, 100**



Крім того, помічено розширення міжканальцевих просторів, особливо у внутрішніх областях яєчка. В частині каналців звертало на себе увагу осередковане відшарування статевих клітин від базальної мембрани каналців, дезорганізація клітин, збільшувалася чисельність каналців з злуцненням статевих клітин у просвіт каналців. Гландулоцити зорозво не мінялися (рис. 11).



**Рис. 11. Яєчко щура межового старечого періоду життя (36 місяців). Виразне злуцнення епітелію у просвіт каналців, вогнищеве відшарування статевих клітин від базальної мембрани деяких каналців (стрілки). Гематоксилін-еозин. x200**

У цих тварин, вірогідно, зменшився індекс сперматогенезу, збільшилась відносна кількість каналців з злуцненим епітелієм відносно щурів пубертатного періоду життя (таблиця 1).

#### **Висновки**

Виходячи з отриманих даних у рамках даного експерименту, можемо констатувати, що у нормальних самців щурів пубертатного, репродуктивного та молодого зрілого віку морфологічний стан тестикулярної тканини, параметри сперматогенезу, рівень андрогенної насиченості організму повністю відповідали нормі і не відрізнялися між собою у межах цих груп. Починаючи з пізнього зрілого періоду життя (18 місяців) у деяких самців щурів виникали як морфологічні ознаки деструкції яєчок, так і деякі зміни у кількісних параметрах сперматогенезу. Для виявлення більш чітких закономірностей, нами об'єднані кількісні показники, що характеризують процес сперматогенезу та андрогенної насиченості у нормальних самців щурів пубертатного, репродуктивного та молодого зрілого періоду життя в єдину групу і проведено порівняння з такими ж кількісними ознаками у нормальних самців щурів більш старших вікових груп. Як показав статис-

тичний аналіз, у тварин майже всіх старших вікових груп (18, 30,36 місяців) вірогідно зменшилася кількість нормальних сперматогоній у сім'яних каналцях, підтвердилася або тенденція до зниження (18, 30 місяців), або вірогідне зниження (24, 36 місяців) індексу сперматогенезу, вірогідно зростала кількість каналців з злущеним епітелієм (18,30 та 36 місяців). У самців всіх цих вікових груп вірогідно знижена була андрогенна насиченість організму (18,24,30,36 місяців).

Отже, починаючи з періоду пізнього зрілого періоду життя, у нормальних безпородних самців щурів починають відбуватися суттєві якісні зміни у стані гонад, які супроводжуються кількісними змінами показників процесу сперматогенезу (зменшенням резерву статевих клітин та затримкою диференціювання статевих клітин у напрямку сперматиди – сперматозоони), поступовим згасанням рівня андрогенізації організму.

#### Література

1. Топка Э.Г. , Горпиченко И.И., Малышкин И.Н. Этиология, патогенез, клиническая картина и лечение вторичного мужского бесплодия // Урология и нефрология. - 1993. - № 5.- С. 43-48
2. Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. Андрология. - СПб.: Медиа-пресс, 1999. 431 с.
3. Курило Л.Ф., Гришина Е.М., Роль структурных хромосомных аномалий в развитии патозооспермии у мужчин с бесплодием // Андрология и генитальная хирургия. 2006. № 4. С. 36-40.
4. Kidd Sh.A., Eskenazi B., Wrobel J. Effects of male age on semen quality and fertility, a review of the literature // fertility and sterility. – 2001. - V.75. - №2. – P.237-248.
5. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. - М.: Медицина, 1969. 424с.
6. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин (методичні рекомендації). – Київ. – 2000. – 24с.
7. Райцина С.С. Современные проблемы сперматогенеза. - М.: Медицина, 1982.- С.73-107.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ЯИЧЕК САМЦОВ КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ КАТЕГОРИЙ

Щербак Е.В., к. с-х. н., доцент, ст. науч. сотрудник,

Харьковская государственная зооветеринарная академия

Ларьяновская Ю.Б., к. б. н., доцент

Национальный фармацевтический университет, г.Харьков

Аннотация. В статье приведены результаты исследования морфологического состояния яичек самцов крыс разного возраста. Для этого жи-

вотные были разбиты на 8 возрастных групп: 2,5 месяца, 3 месяца (пубертатный период), 6 месяцев (репродуктивный период), 12 месяцев (молодой зрелый период жизни), 18 месяцев (поздний зрелый), 24 месяца и 30 месяцев (старческий период) и 36 месяцев (пограничный старческий период жизни).

У самцов отбирали яички и проводили морфометрическую оценку состояния сперматогенного эпителия по таким показателям: индекс сперматогенеза, относительное количество извитых семенных канальцев с 12-ой стадией мейоза, относительное количество извитых семенных канальцев со слущенным семяобразующим эпителием и среднее количество нормальных сперматогоний в извитых семенных канальцах.

В результате полученных данных было установлено, что начиная с 18 месяцев у некоторых самцов крыс возникали как морфологические признаки деструкции яичек, так и определенные изменения в количественных показателях сперматогенеза. У животных почти всех старших возрастных групп (18, 30, 36 месяцев) достоверно уменьшилось количество нормальных сперматогоний в семенных канальцах. Подтвердилась тенденция к снижению (18, 30 месяцев) или достоверное снижение (24,36 месяцев) индекса сперматогенеза, а также увеличение количества канальцев со слущенным эпителием.

Ключевые слова: самцы крыс разного возраста, яички крыс, семянные канальцы, сперматогенные клетки, сперматогонии, клетки Сертоли.

#### INVESTIGATION OF MORPHOLOGICAL CONDITION OF TESTICLES IN RATS OF DIFFERENT AGE CATEGORIES

Shcherbak E.V., candidate of agricultural science, senior researcher,  
Kharkiv state zooveterinary academy, Kharkiv

Laryanovskaya Yu.B., candidate of biological science, associate professor  
National pharmaceutical university, Kharkiv

Summary. The results of the study of the morphological condition of the testicles in the rats of different ages have been presented in the article. The animals were divided into 8 age groups: 2, 5 months, 3 months (pubertant period), 6 months (reproductive period), 12 months ( young mature period of life), 18 months ( late mature period), 24 months and 30 months ( senile period) and 36 months (final senile period of life).

The testicles of the males were taken away and the morphometric evaluation of the condition of the spermatogenic epithelium was carried out by the following parameters: spermatogenesis index, relative amount of convoluted seminiferous tubules with the 12th stage of meiosis, relative amount of convoluted seminiferous tubules with the removed semen-forming epithelium and the average amount of normal spermatogonia in the convoluted seminiferous tu-



bules.

On the basis of the data received it was found out that both the morphological signs of the destruction of the testicles and some alterations in the quantitative parameters of spermatogenesis had occurred in some males beginning from the age of 18 months. In the animals of nearly all adult age groups (18, 30, 36 months) the quantity of the normal spermatogonia in the seminiferous tubules trustworthily decreased. The tendency to the decrease (18, 30 months) or trustworthily decrease (24, 36 months) in the index of spermatogenesis as well as the increase in the quantity of the tubules with the removed epithelium was proved.

Key words: rat males of different age, testicles of rats, seminiferous tubules, spermatogenic cells, spermatogonia, Sertoli cells

---