Богдан Грицуляк, Володимир Грицуляк

ЧУТЛИВІСТЬ КЛІТИН СПЕРМАТОГЕННОГО ЕПІТЕЛІЮ, ЩО РОЗВИВАЮТЬСЯ, ДО ДІЇ ТИМЧАСОВОЇ ГІПОКСІЇ НА СІМ'ЯНИКИ

За даними літератури чоловічі статеві клітини різних стадій розвитку по-різному реагують на дію фізичних, хімічних та інфекційних агентів [1, с.220; 2, с.94; 3, с.37; 4, 52]. Особливо вони чутливі до циркуляторної гіпоксії [4, с.63; 5, с.45; 6, с.72]. Разом з тим, вплив на сперматогенез дії тимчасової гіпоксії вивчено недостатньо. Так, за даними [7, с.87] тимчасова ішемія сім'яників тривалістю 90 хв не впливає суттєво на клітини сперматогенного епітелію, тоді як інші автори [6, с.99; 8, с.112] показують, що вже 10-хвилинне припинення кровотоку до статевої залози призводить до розладів сперматогенезу. Не вияснено остаточно допустимі терміни забору статевої залози з метою її трансплантації для збереження генеративної та ендокринної функцій.

Більшість експериментальних робіт, присвячених впливу ішемії на сім'яники, носять описовий характер і не мають підтвердження методами кількісного аналізу сперматогенезу [9, с.45; 10, с.57; 11, с.111; 12, с.126].

Тому метою нашого дослідження було вивчити динаміку цитологічних змін в сім'яних канальцях в умовах тимчасової гіпоксії різної тривалості.

Матеріал та методи дослідження

Досліди проведено на 30 статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г, яким на сім'яникову артерію накладали затискач на 3, 5, 10, 15, і 30 хвилин. Після названих термінів затискач знімали, порушений кровотік відновлювався, а сім'яники вивчали через 1, 7, 30 та 90 діб від початку досліду.

На гістологічних препаратах підраховували число клітин сперматогенного епітелію, що зустрічались на VII стадії циклу сперматогенного епітелію (ЦСЕ): сперматогоній типу А, сперматоцитів на стадії пахінеми та сперматид 7 етапу розвитку. Цифровий матеріал обробляли статистично.

Результати дослідження та їх обговорення

Сперматогонії типу А – кількість цих клітин незначна, вони розміщуються на власній оболонці сім'яних канальців контрольних щурів. У перерахунку на 100 підтримуючих епітеліоцитів виявлено від 9,02 ± 0,66 до 10,40 ± 0,49 сперматогоній типу А.

Через 24 години після дії 3, 5, 10, 15-хвилинної і максимальної дози (30 хвилин) тимчасової гіпоксії число цих клітин, порівнюючи з нормою, залишається без змін і коливається від 8,97 ± 1,03 до 10,07 ± 0,50.

© Б.Грицуляк, В.Грицуляк

Через 7 діб від початку досліду після 30-хвилинної тимчасової гіпоксії кількість сперматогоній типу А дорівнювала 8,44 ± 0,49, а через 30 діб їх число достовірно знизилось до 6,04 ± 0,53 і до кінця досліду (90 діб) не відновлювалось (4,84 ± 0,49).

Сперматоцити на стадії прелептонеми розміщуються на власній оболонці сім'яних канальців поміж сперматогоніями типу А в значній кількості, оскільки вони утворюються в результаті шостого сперматогоніального поділу.

Характеризуються ці клітини наявністю невеликого круглого ядра з численними в ньому гранулами хроматину біля нуклеолеми. В сім'яних канальцях контрольних тварин на 100 підтримуючих епітеліоцитів виявлено 230,58 ± 2,52 сперматоцити на стадії прелептонеми. Через 24 години, 7, 30, 90 діб після 3-хвилинної тимчасової гіпоксії кількість цих клітин не знизилась.

Тимчасова гіпоксія тривалістю 5 хвилин на протязі першої доби досліду супроводжується незначним зниженням кількості сперматоцитів на стадії прелептонеми, але вже через тиждень від початку досліду їх число поступово вирівнюється, досягаючи до 30 і 90 доби висхідного рівня.

В умовах тимчасової гіпоксії тривалістю 10 хвилин кількість названих клітин протягом першого тижня зменшується на 6%, а до 30 дня досліду цей показник не відрізняється від контролю.

За нашими даними 5-хвилинна гіпоксія супроводжується прогресуючим зниженням числа сперматоцитів на стадії прелептонеми, кількість їх через 30 днів складає 202,62 ± 4,14 і навіть під кінець досліду (90 днів) не відновлюється (205,80 ± 3,29).

30-хвилинна тимчасова гіпоксія на протязі перших 7 днів і особливо через 30 днів викликала, порівнюючи з 15-хвилинним терміном досліду більш виражене (33,4%) зменшення кількості даних клітин, а до 90 дня число їх знизилось в сім'яних канальцях на 38,9% (табл. 1).

Таблиця 1. Число клітин сперматогенного епітелію на VII стадії ЦСЕ в сім'яниках щурів через різний час після 10-хвилинної іпоксії

$(M \pm m;\ n = 5)$

Тривалість досліду	Вид клітин			
	сперматогонії типу А	Сперматоцити на стадії прелептонеми	сперматоцити на стадії пахінеми	сперматиди VII етапу розвитку
24 год	9,67±1,26	216,60±5,09	259,55±13,34	836,32±34,99
7 діб	10,35±0,36	216,96±4,31	265,15±3,45	820,28±10,77
30 діб	9,13±0,99	227,48±2,32	266,20±3,83	876,40±9,80
90 діб	9,69±0,47	230,65±3,18	279,85±3,42	865,49±11,89

Сперматоцити на стадії пахінеми являють собою великі, круглі клітини, в ядрах котрих досить добре видно товсті нитки хромосом. В сі-

м'яних канальцях контрольних тварин на VII стадії ЦСЕ виявлено від 279,71 ± 3,98 до 299,82 ± 4,43 сперматоцитів на стадії пахінеми на 100 підтримуючих епітеліоцитів.

Практично 3-хвилинна гіпоксія в усі терміни досліду не виявила значного впливу на кількісні показники цієї генерації клітин. Але вже через добу після 5-хвилинної гіпоксії їх число зменшилось до 275,55 ± 11,58. Дальше воно поступово досягає висхідного рівня.

Тимчасово розлади васкуляризації сім'яників тривалістю 10 хвилин діють на сперматоцити на стадії пахінеми більш суттєво. Число цих клітин не нормалізується протягом всього досліду (1, 7, 30, 90 днів). Так через 24 години число їх склало 259,55 ± 13,34, а через 30 днів – 266,20 ± 3,83 (табл. 2).

Таблиця 2. Число клітин сперматогенного епітелію на VII стадії ЦСЕ в сім'яниках щурів в різний час після 15-хвилинної тимчасової гіпоксії

$(M \pm m;\ n = 5)$

Тривалість досліду	Вид клітин			
	сперматогонії типу А	Сперматоцити на стадії прелептонеми	сперматоцити на стадії пахінеми	сперматиди VII етапу розвитку
24 год	9,51±1,35	221,38±4,35	269,42±5,16	853,39±14,73
7 діб	9,44±0,61	227,29±2,87	253,61±4,17	816,26±11,05
30 діб	8,76±0,73	202,62±4,14	240,35±2,81	736,51±7,89
90 діб	9,94±0,53	205,80±3,29	246,85±2,61	899,98±6,70

Достовірно зменшується кількість цих клітин в умовах 15-хвилинної гіпоксії, складаючи на 90 день експерименту 246,85 ± 2,61.

Максимальна 30-хвилинна гіпоксія, порівнюючи з іншими термінами досліду, показала сильний вплив на тип цих клітин, кількість яких до 30 дня знизилась до 122,34 ± 18,30 і не відновилась (табл. 3).

Таблиця 3. Число клітин сперматогенного епітелію на VII стадії ЦСЕ в сім'яниках щурів в різні терміни після 30-хвилинної гіпоксії

$(M \pm m;\ n = 5)$

Тривалість досліду	Вид клітин			
	сперматогонії типу А	Сперматоцити на стадії прелептонеми	сперматоцити на стадії пахінеми	сперматиди VII етапу розвитку
24 год	8,97±1,03	215,37±3,98	249,27±3,51	766,49±11,83
7 діб	8,44±0,49	205,96±2,47	252,21±4,27	805,10±8,67
30 діб	6,04±0,53	150,57±8,58	122,34±18,30	308,81±71,11
90 діб	4,84±0,49	142,50±8,80	119,70±10,83	343,50±35,33

Сперматиди VII етапу розвитку розміщуються ще ближче до просвіту канальця. Вони відрізняються від інших клітин невеликим круглим ядром, бідним на хроматин. Їх акросома має форму ковпачка або

парасольки, яка покриває 1/3 – 1/2 ядра. Порівнюючи з іншими клітинними елементами, вони є найбільш численними. Їх кількість в сім'яниках контрольних тварин складає від 891,15 ± 8,10 до 916,76 ± 22,66 на 100 підтримуючих епітеліоцитів.

3-хвилинна гіпоксія протягом всього досліду (1, 7, 30, 90 днів) не викликає статистично достовірного зменшення числа сперматид. 5-хвилинний дослід на 7 день призводить до зменшення числа сперматид до 838,61 ± 11,91. На 30 і 90 день експерименту кількість сперматид дещо збільшується і складає, порівнюючи з контролем 894,18 ± 11,23 і 897,26 ± 12,13. Різниця між проведеними показниками є статистично достовірною.

Тимчасова гіпоксія тривалістю 10 хвилин супроводжується помітним зменшенням кількості сперматид на протязі перших 7 днів (820,28 ± 10,77). Потім кількість їх збільшується, але висхідного рівня не досягає.

На 15-хвилинну гіпоксію сперматиди VII етапу розвитку реагують більш різко, зменшуючись в кількості на 7 добу до 816,26 ± 11,05, а на 30 добу уже до 736,51 ± 7,89.

30-хвилинна гіпоксія на 30 і 90 добу досліду викликає різке їх зниження відповідно на 65,9 і 62,2 %.

Таким чином, через 24 години після 5, 10, 15, 30-хвилинної гіпоксії сім'яників в сім'яних канальцях, відповідаючих VII стадії ЦСЕ, спостерігається зменшення числа клітин сперматогенного епітелію: сперматоцитів на стадії пахінеми, сперматид VII етапу розвитку. Сперматогонії типу А є стійкими до прямої пошкоджуючої дії гіпоксії [13, с.144].

При аналізі отриманих даних треба мати на увазі, що тривалість VII стадії ЦСЕ у щурів складає 62,8 години, тому зменшення числа вище перерахованих клітин на протязі першої доби після тимчасової гіпоксії можна розцінювати як наслідок прямої дії гіпоксії на клітини сперматогенного епітелію. Зменшення числа цих клітин через 7 діб залежало від пошкодження в момент дії гіпоксії на клітини-попередники.

В момент ішемічної дії ділянки сім'яних канальців знаходились на I стадії ЦСЕ, а клітини, з котрих повинні були розвинутись прелептонемні сперматоцити, були сперматогоніями проміжного типу. Зменшення числа сперматоцитів на стадії пахінеми на даний термін досліду, явилось результатом пошкодження сперматоцитів на стадії ранньої пахінеми [1, с.77; 14, с.48].

Різке зменшення числа сперматид VII етапу розвитку на 7 добу свідчить про пошкодження в момент виникнення гіпоксії сперматид I етапу розвитку [3, с.196; 10, с.202].

Вивчення впливу гіпоксії на інтерстиційні ендокриноцити показало, що 3-хвилинна дія не впливає на структуру цих клітин на протязі всього досліду.

Через 7 днів після дії на сім'яники гіпоксії тривалістю 10, 15, 30 хвилин зменшення об'єму ядер інтерстиційних ендокриноцитів недостовірне.

При цьому найбільш низький показник має місце при 30-хвилинній дії гіпоксії на статеву залозу (табл. 4).

Таблиця 4. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів через 1, 7, 30, 90 днів після дії гіпоксії на сім'яники

$(x \pm S_x; n = 5)$

Тривалість гіпоксії (хв)	Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів			
	1 день	7 днів	30 днів	90 днів
Контроль	84,08±2,52	84,66±2,36	86,98±2,35	86,17±2,09
3	85,98±1,90	83,85±2,64	85,95±3,30	82,53±4,20
5	84,36±1,41	79,60±3,12	83,88±3.85	81,97±2,41
10	88,46±3,15	80,55±2,34	89,32±2,84	81,93±1,63
15	84,76±2,21	82,07±2,94	92,58±1,70	82,89±2,45
30	86,89±1,76	79,00±1,58	76,34±2,41	77,13±2,98

Через 30 днів від початку досліду на відміну від попереднього терміну виявлено збільшення об'єму ядер інтерстиційних ендокриноцитів. Особливо це помітно після 10 і 15 хвилинної тимчасової гіпоксії 89,32 ± 2,84 мкм^3 та 92,58 ± 1,70 мкм^3 проти 86,98 ± 2,35 мкм^3 в контролі. Але 30-хвилинна тимчасова гіпоксія приводить до зниження об'єму ядер інтерстиційних ендокриноцитів до 76,34 ± 2,41 мкм^3 [2, с.97].

На кінець експерименту (90 днів) після 3, 5, 10, 15-хвилинної гіпоксії відновлюється і наближується до норми. При 30-хвилинній гіпоксії частина цих клітин атрофується в зв'язку з чим об'єм їх ядер в середньому зменшується на 10,5 % (77,13 ± 2,98 мкм^3).

Співставляючи результати цієї частини роботи з отриманими даними впливу гіпоксії на статеві клітини, можна зробити висновок, що збільшення об'єму ядер інтерстиційних ендокриноцитів співпадає з початком відновних процесів в сім'яних канальцях.

Висновки

1. Нетривала 3-5 хвилинна тимчасова гіпоксія сім'яників викликає вогнищеві розлади сперматогенезу. Має місце відшарування незначної кількості статевих клітин та їх дистрофія. Важкий ступінь пошкодження сперматогенного епітелію спостерігається в 8 % сім'яних канальців через 24 години після 5-хвилинної ішемії і зберігається протягом всіх термінів спостереження (90 діб).
2. В умовах 10, 15, 30-хвилинної тимчасової ішемії виявлено деструктивні зміни в 47-100 % сім'яних канальців аж до важкого ступеня їх пошкодження. Відбувається прогресуюче зменшення діаметрів сім'яних канальців та кількості клітин сперматогенного епітелію.
3. Підрахунок кількості статевих клітин, що входять в склад VII стадії циклу сперматогенного епітелію показав, що вони проявляють тим

більшу чутливість до прямої пошкоджуючої дії ішемії, чим довший шлях пройшли в своєму розвитку.

4. Кількість сперматид і сперматоцитів на стадії пахінеми зменшується після 10, 15 і 30-хвилинної ішемії і не відновлюється до кінця досліду. Ішемія в 15 і 30 хв незворотньо знижує кількість сперматоцитів на стадії прелептонеми. Сперматогонії типу А стійкі до ішемії.

1. Шилкина Л.А. Количественный анализ морфологических изменений, развивающихся в семенниках млекопитающих при остром перегревании организма / Автореф. дис...канд. мед. наук. – Смоленск, 1978. – 14 с.
2. Дедов В.И. Ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига у крыс в норме и в условиях их ретельного внутреннего облучения // Цитология. – 1980. – Т. 22. – №10. – С.1153-1156.
3. Райцина С.С. Аутоаллергенные клетки сперматогенного эпителия и аутоиммунный орхит // Сперматогенез и его регуляция. – М : Наука, 1985. – 205 с.
4. Пастух М.Б. Ультраструктурні зміни мікроциркуляційного русла в сім'яниках пацюків при хронічній алкогольній інтоксикації та після коригуючої кровотік операції // Актуальні питання морфогенезу. – Чернівці, 1996. – С. 236-237.
5. Паращин В.М. Состояние гематотестикулярного барьера и развивающихся половых клеток в условиях кратковременной ишемии семенников // Архив анат., гистол., эмбриол. – 1984. – Т.86 – Вып. 1. – С.100-105.
6. Грицуляк В.Б., Грицуляк Б.В. Структурні зміни сім'яників в ранні терміни після їх травмування // Буковинський медичний вісник. – 2001. – Т.5. – №3. – С.145-146.
7. Tjoe D.V., Steinberger E. Aquantitative study of the effect of ischemia on the germinal epithelium of the rat testis // J. Reprod. Fertil. – 1970. – V.21. – P.489-494.
8. Паращин В.М., Грицуляк Б.В. О чувствительности клеток сперматогенного эпителия к действию временной ишемии // Актуальные проблемы морфогенеза и регенерации. – Симферополь, 1983. – С. 46-49.
9. Астраханцев А.Ф., Крупнов П.М. Морфо-функциональные изменения тестикул при гомодинамических нарушениях // Урология и нефрология. – 1996. – №5. – С.50-51.
10. Гладкова А.И. Гормональная регуляция плодовитости мужчин. – К., 1998. – С.28-32.
11. Мегрешвили Т.Л. Реакция сперматогенного эпителия на воздействие гипобарической гипоксии в эксперименте // Актуальные вопросы планирования семьи, сексологии и репродукции. – К., 1998. – С.116-118.
12. Лесовой В.П. Некоторые особенности состояния сперматогенеза при варикоцеле // Сексология и андрология. – К., 1998. – С.58-59.
13. Шутка Б.В., Грицуляк Б.В., Грицуляк В.Б. Морфология яичка в условиях паховой грыжи и после пластики пахового канала // Вестн. пробл. биологии и медицины. – Харьков, 1996. – №5. – С.140-142.
14. Грицуляк В.Б., Грицуляк Б.В. Вплив механічної травми сім'яників на сперматогенез // Буковинський медичний вісник. – 2001. – №1-2. – С.43-45.

Bogdan Gritsuljak, Volodymyr Gritsuljak

SENSITIVITY OF CRATES SPERMATOGENIC EPITHELIUM THAT DEVELOP TO ACTION TEMPORARY HYPOXIA ON SPERMARIES

In experiences on rates with to compresses spermaries arteries on 3, 5, 10, 15 and 30 minutes with the following restoration bleeding studied a condition a spermatogenesis through 1, 7, 30 and 90 days. Have established, that already ishemia 10 minutes in different terms result in dissonances spermatogenesis. By most sensitive to hypoxia is spermatids and spermatocytes at a stage pachynema.