

фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; +38 044 256-20-74

Чашин Микола Олексійович - ст.н.с., к.б.н., старший науковий співробітник відділу молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України; +38 044 526-54-05; prima@imbg.org.ua

Мойбенко Олексій Олексійович - акад. НАНУ, проф., д.м.н., провідний науковий співробітник відділу загальної та молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України; +38 044 253-61-51; moibenko@biph.kiev.ua

© Глодан О.Я.

УДК: 616.681-612.279.2:612.135

Глодан О.Я.

ДВНЗ "Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника", кафедра анатомії і фізіології людини та тварин (вул. Шевченка, 57, м.Івано-Франківськ, 76018, Україна)

## ГІСТОСТРУКТУРНІ ЗМІНИ У ЯЄЧКУ В УМОВАХ ВЕНОЗНОЇ ГІПОКСІЇ ТА КОРЕКЦІЇ КРОВОВІДТОКУ

**Резюме.** Гістологічними і морфометричними методами показано, що модельована венозна гіпоксія в яєчку призводить до структурних змін в органі, які близькі до таких, що мають місце у чоловіків при варикозному розширенні вен сім'яного канатика. Результати дослідження показали, що запропонований спосіб корекції крововідтоку від яєчка позитивно впливає на сперматогенез.

**Ключові слова:** венозна гіпоксія, сперматогенез, корекція крововідтоку.

### Вступ

Проблема варикозного розширення вен сім'яного канатика є однією з актуальних у практичній андрології, яка зумовлена, в першу чергу, його поширенням та негативним впливом на сперматогенез [Andrade-Rocha, 2007; Артюхин, 2008; Ахунзянов, Нурмеев, 2010]. Утруднення відтоку крові по яєчкової вені може призводити до венозної гіпоксії і розладів сперматогенезу незалежно від тривалості захворювання [Gat et al., 2006]. При варикоцеле порушення фертильності діагностуються у 80% випадків, а безплідність - від 35 до 45% [Коган и др., 2009; Will et al., 2011; Ficarra et al., 2012]. Венозний застій супроводжується ураженням яєчкової тканини, тому йому належить провідне місце серед причинних факторів чоловічої безплідності.

Метою даної роботи було створити експериментальну модель венозної гіпоксії, яка послужила основою для розробки нового способу корекції крововідтоку від яєчка.

### Матеріали та методи

Дослідження провели на 40 статевозрілих білих лабораторних щурах-самцях лінії Вістар масою 150-180 г. Експериментальні тварини були розділені на 3 групи: 1 група - інтактні тварини (10 щурів); 2 група - тварини, яким моделювали венозну гіпоксію (15 щурів); 3 група - тварини, яким моделювали венозну гіпоксію з корекцією крововідтоку (15 щурів).

Для моделювання венозної гіпоксії тваринам на ліву яєчкову вену перед її впаданням у ліву ниркову вену накладали лігатуру.

З метою моделювання крововідтоку від яєчка було виконане оперативне втручання, яке розроблено і запатентовано [Грицуляк та ін., 2009]. Моделювання крововідтоку від яєчка проводили шляхом розтину тканини вентральної стінки живота, на внутрішній поверхні якої оголювали ліву каудальну надчеревну вену, пере-

в'язували її та пересікали до місця впадання у неї вени м'яза-підіймача яєчка. Рану зашивали пошарово. Операцію проводили в асептичних умовах під загальною анестезією та за всіма правилами етики поводження з тваринами.

Через 7, 30 і 90 днів тканини яєчка фіксували в розчині Буена і обробляли за загальною гістологічною методикою. Зрізи з парафінових блоків забарвлювали гематоксиліном і еозином. Мікропрепарати піддавали гістологічному і морфометричному аналізу.

Морфометричне дослідження проводили на мікропрепаратах яєчка з використанням окуляр-мікрометра МОВ-1-15х. Визначали: діаметр звивистих сім'яних трубочок, ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію в них, кількість клітин сперматогенного епітелію на VII стадії циклу, об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів. Обробку одержаних даних проводили статистичними методами з використанням персонального комп'ютера і програмного забезпечення Excel.

### Результати. Обговорення

У результаті дослідження встановлено, що на 7 добу моделювання венозної гіпоксії маса яєчка знизилась до  $0,910 \pm 0,035$  г (проти  $1,406 \pm 0,084$  г у контролі), зменшився діаметр звивистих сім'яних трубочок до  $137,33 \pm 3,27$  мкм (проти  $197,24 \pm 5,25$  у контролі). Має місце виражений набряк міжканальцевої сполучної тканини, накопичення в ній клітин лімфоцитарного ряду. Просвіт всіх ланок мікроциркуляторного русла розширений. Звичайну будову зберігають 39% звивистих сім'яних трубочок, у 36% виявлено легкий ступінь розладів сперматогенезу, а в 20% - більшість клітин сперматогенного епітелію зміщена в просвіт і некротизована. До власної оболонки цих звивистих трубочок прилягають поодинокі підтримувальні епітеліоцити та сперматогонії. На даний термін досліду повністю спус-

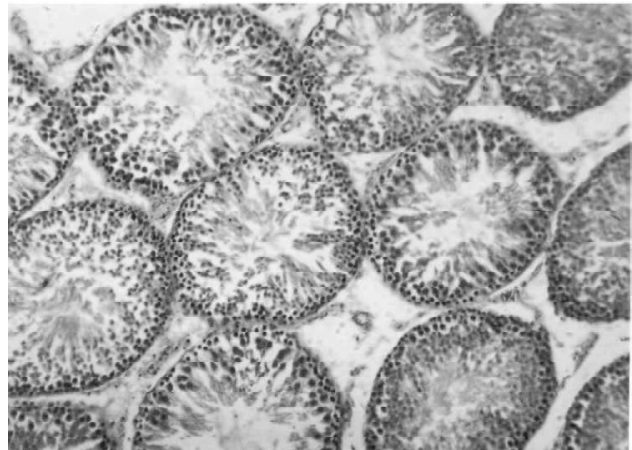
тошені 5% звивистих сім'яних трубочок. У цілому на 7 добу досліду кількість клітин на різних стадіях циклу сперматогенного епітелію помітно зменшилась. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів у цих умовах становить  $79,61 \pm 1,82$  мкм<sup>3</sup> (проти  $85,08 \pm 2,52$  мкм<sup>3</sup>).

На 30 добу експерименту маса яєчка знизилася до  $0,838 \pm 0,051$  г (проти  $1,406 \pm 0,084$  г у контролі), що свідчить про його часткову атрофію. До  $115,10 \pm 5,42$  мкм зменшений в цих умовах діаметр звивистих сім'яних трубочок. В інтерстиції збільшена кількість сполучнотканинних елементів, розростання яких призвело до деформації звивистих сім'яних трубочок. Тільки 35% останніх зберігають звичайну будову. Власна оболонка інших звивистих сім'яних трубочок потовщена за рахунок сполучнотканинних елементів. У 34% з них мають місце тяжкі розлади сперматогенезу (рис. 1). Кількість клітин сперматогенного епітелію значно зменшена: сперматоцитів на стадії прелептотени до  $174,97 \pm 7,43$  (проти  $230,58 \pm 2,52$  у контролі), сперматоцитів на стадії пахітени -  $201,65 \pm 8,20$  (проти  $299,82 \pm 4,43$  у контролі) та сперматид 7 етапу розвитку -  $466,59 \pm 4,35$  (проти  $916,76 \pm 22,66$  у контролі). Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів становить  $77,24 \pm 1,95$  мкм<sup>3</sup>.

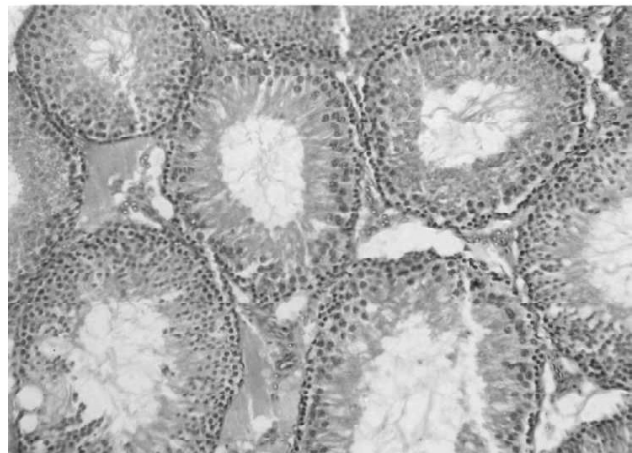
Дослідження показали, що на 90 добу після виключення з кровообігу яєчкової вени маса яєчка зменшена до  $0,864 \pm 0,053$  г. У гістопрепаратах яєчка спостерігається значна кількість звивистих сім'яних трубочок неправильної форми, їх власна оболонка деформована, потовщена за рахунок розростання сполучнотканинних елементів. Діаметр сім'яних трубочок становить у середньому  $131,58 \pm 1,37$  мкм. Звичайну будову зберігають 33% звивистих сім'яних трубочок, у 25% має місце легкий ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію, зерниста дистрофія, пікноз ядер сперматоцитів і сперматид. У 30% звивистих сім'яних трубочок наявні більш виражені деструктивні зміни з редукцією шарів клітин, їх деформацією, зміщенням у просвіт і перетворенням у клітинний детрит. Кількість сперматоцитів і сперматид значно зменшена. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів становить  $79,60 \pm 2,57$  мкм<sup>3</sup>.

За нашими спостереженнями на 7 добу венозної гіпоксії і корекції крововідтоку шляхом відключення каудальної надчеревної вени мікроциркуляторне русло яєчка в основному зберігає характерний для нього рисунок. Маса яєчка на боці корекції крововідтоку становить  $1,093 \pm 0,040$  г (проти  $0,910 \pm 0,035$  г при венозній гіпоксії), діаметр звивистих сім'яних трубочок -  $184,91 \pm 3,57$  мкм (проти  $137,33 \pm 3,27$  мкм при венозній гіпоксії), у 43% з них має місце активний сперматогенез, у 32% - легкий ступінь пошкодження клітин, у 17% - тяжкий, а 8% трубочок спустошені. Кількість клітин сперматогенного епітелію є більшою, ніж в умовах венозної гіпоксії. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів становить  $83,73 \pm 1,87$  мкм<sup>3</sup>.

На 30 добу венозного дренажу маса яєчка на боці експерименту становить  $0,966 \pm 0,016$  г (проти



**Рис. 1.** Звивисті сім'яні трубочки яєчка щура на 30 добу моделювання венозної гіпоксії. Виражена редукція клітин сперматогенного епітелію. Гематоксилін-еозин. Мікрофотографія. об.10, ок. гомаль 1,7.



**Рис. 2.** Звивисті сім'яні трубочки яєчка щура на 30 добу моделювання венозної гіпоксії та корекції крововідтоку. До власної оболонки сім'яних трубочок кількома шарами прилягають клітини сперматогенного епітелію. Гематоксилін-еозин. Мікрофотографія. об.10, ок. гомаль 1,7.

$0,838 \pm 0,051$  г при венозній гіпоксії). Діаметр звивистих сім'яних трубочок дорівнює  $171,12 \pm 3,04$  мкм (проти  $115,10 \pm 5,42$  мкм), а їх кількість із звичайною будовою становить 39,3%, з легким ступенем пошкодження сперматогенного епітелію - 26,7%. У 24,6% звивистих сім'яних трубочок сперматогонії, сперматоцити і сперматиди знаходяться на різних стадіях деструкції. До власної оболонки трубочок прилягають тільки підтримувальні епітеліоцити, сперматогонії та поодинокі сперматоцити (рис. 2).

Разом із тим, не дивлячись на покращені умови крововідтоку від яєчка, в 9,4% сім'яні трубочки повністю спустошені, власна оболонка їх потовщена і складчаста. В інтерстиції - виражений набряк і лімфоцитарна інфільтрація. Просвіт частини кровоносних судин розширений, їх стінка потовщена. Кількість клітин сперматогенного епітелію є більшою порівняно з венозною

гіпоксією: сперматоцитів на стадії прелептотени до  $206,90 \pm 6,08$  проти  $174,97 \pm 7,43$ , сперматоцитів на стадії пахітени -  $238,97 \pm 5,16$  проти  $201,65 \pm 8,20$ , сперматид 7 етапу розвитку -  $736,35 \pm 8,92$  проти  $466,59 \pm 4,35$ . Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів близький до норми.

На 90 добу експерименту маса органа становить  $0,972 \pm 0,018$  г, а діаметр звивистих сім'яних трубочок -  $193,63 \pm 1,84$  мкм. Майже половина з них (45%) зберігають звичайну будову, хоча в 24% трубочок спостерігається легкий ступінь, у 24% - тяжкий ступінь пошкодження клітин, 7% сім'яних трубочок спустошені. Кількість сперматоцитів та сперматид, порівнюючи з попереднім терміном, є достовірною ( $p < 0,05$ ). Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів становить  $84,60 \pm 2,68$  мкм<sup>3</sup>.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Моделювання в яечку венозної гіпоксії на 30 добу супроводжується зменшенням його маси в середньо-

му на 40,4%, діаметрів звивистих сім'яних трубочок на 42,0%, у 34,0% з них має місце тяжкий ступінь пошкодження клітин сперматогенного епітелію, 8,0% - спустошені. Кількість клітин сперматогенного епітелію знижується. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів зменшується на 9,3%.

2. Експериментально розроблений нами спосіб регуляції відтоку венозної крові від яечка на тлі гіпоксії шляхом виключення з кровообігу каудальної надчревної вени на 30 добу сприяє зменшенню венозної гіпоксії в органі та збільшенню на 13,3% його маси, діаметрів звивистих сім'яних трубочок - на 32,8%, кількості сперматоцитів на стадії пахітени - на 15,7%, сперматид 7-го етапу розвитку - на 36,6% та об'єму ядер інтерстиційних ендокриноцитів - на 9,4% порівняно з венозною гіпоксією.

У перспективі подальших досліджень плануємо вивчити ультраструктурні зміни в яечку в умовах венозної гіпоксії та корекції крововідтоку від нього запропонованим способом.

### Список літератури

- Артюхин А.А. Фундаментальные основы сосудистой андрологии: учебное пособие /Александр Александрович Артюхин.- М.: Академия, 2008.- С.232.
- Ахунзянов А.А. Варикоцеле и хроническая венозная недостаточность: взгляд глазами уролога и ангиохирурга /А.А.Ахунзянов, И.Н.Нурмеев //Репродуктивное здоровье детей и подростков.- 2010.- №1.- С.57-64.
- Варикоцеле: противоречия проблемы /И.И.Коган, Алвин Асаанти-Асамани, А.Афоко [и др.] //Урология.- 2009.- №6.- С.67-72.
- Патент на корисну модель № 40442 UA. Спосіб корекції крововідтоку від яечка при варикоцеле /Грицуляк Б.В., Грицуляк В.Б., Пташник Г.І. (UA); Прикарпатський нац. унів. імені Василя Стефаника.- №u200812776; дата подання 31.10.2008; Опубл. 10.04.2009; Бюл. №7.- 2с.
- Andrade-Rocha F.T. Significance of sperm characteristics in the evaluation of adolescents, adults and older men with varicocele //F.T.Andrade-Rocha // Postgrad. Med.- 2007.- №53 (I).- P.8-13.
- Right varicocele and hypoxia, crucial factors in male infertility : fluid mechanics analysis of the impaired testicular drainage system /Y.Gat, M.Gornish, U.Navon [et al.] //Reprod.Biomed. Online.- 2006.- №13 (4).- P.510-515.
- The great debate: varicocele treatment and impact on fertility /M.A.Will, J.Swain, M.Fode [et al.] //Fertil. Steril.- 2011.- №95 (3).- P.841-852.
- Varicocele repair for infertility: what is the evidence? /V.Ficarra, A.Crestani, G.Novara [et al.] //Curr. Opin. Urol.- 2012.- №22 (6).- P.489-494.

*Глодан О.Я.*

### ГИСТОСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЯИЧКЕ В УСЛОВИЯХ ВЕНОЗНОЙ ГИПОКСИИ И КОРРЕКЦИИ ОТТОКА

**Резюме.** Гистологическими и морфометрическими методами показано, что моделируемая венозная гипоксия в яичке приводит к структурным изменениям в органе, имеющих место у мужчин при варикоцеле. Результаты исследования показали, что предложенный способ коррекции кровотока от яичка способствует оттоку венозной крови и положительно влияет на сперматогенез.

**Ключевые слова:** венозная гипоксия, сперматогенез, коррекция кровотока.

*Glodan O.Y.*

### HISTOSTRUCTURAL CHANGES IN THE TESTIS IN CONDITIONS OF VENOUS HYPOXIA AND CORRECTION OF BLOOD FLOW

**Summary.** By histological and morphometrical methods it was shown, that experimental venous stasis in the testis leads to structural changes in it, which resemble ones appearing in men suffering varicocele testis. The results of study demonstrated that offered way of testicular blood flow correction helps venous blood outflow and has positive influence on spermatogenesis.

**Key words:** venous hypoxia, spermatogenesis, blood outflow correction.

Стаття надійшла до редакції 07.05.2014 р.

*Глодан Оксана Ярославівна* - к. біол. н., доцент кафедри анатомії і фізіології людини та тварин ДВНЗ "Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника"; oksana.glodan@mail.ru