

УДК 612.616:616-092.4

Б.В. Грицуляк, В.Б. Грицуляк, Т.А. Лісова, Н.П. Долинко

Кафедра анатомії і фізіології людини та тварин ДВНЗ “Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника”, м. Ів.-Франківськ

ЦИТОГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ЯЄЧКУ І ЕЯКУЛЯТІ В УМОВАХ ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СІМ'ЯВИНОСНОЇ ПРОТОКИ ТА ЇЇ РЕКАНАЛІЗАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Проведений цитогістологічний аналіз клітин у звивистих сім'яних трубочках та лабораторне дослідження еякуляту після реканалізації сім'явиносної протоки показали збільшення концентрації сперматозоїдів, зниження кількості патологічних форм та зростання кількості сперматозоїдів з прогресивним рухом.

Ключові слова: блокада сім'явиносної протоки, реканалізація, сперматогенез.

Одним із багатьох способів контрацепції є блокада сім'яносних проток [1-3], але за умов повторного шлюбу нерідко виникає необхідність відновлення їх прохідності у зв'язку з бажанням новоствореної сім'ї мати потомство [4-6]. Разом з тим, цитогістологічні зміни в яєчках та їх вплив на показники еякуляту в умовах блокади сім'яносних проток та їх реканалізації залишаються малодослідженими.

Мета дослідження: з'ясувати вплив блокади сім'яносних проток та їх реканалізації на цитогістологічні зміни в яєчках і еякуляті в експерименті.

Матеріал і методи. Експеримент проведено на 70 статевозрілих щурах-самцях, масою 180-200 г, розділених на три групи. Яєчка щурів першої групи (10 тварин) служили контролем. Тваринам другої групи (30 щурів) під загальним знеболенням на сім'яносну протоку на 30 діб накладали лігатуру, у тварин третьої групи (30 щурів) після зняття лігатури проводили бужування проток (Лісова Т.А., 2015). Через 30 діб після бужування гістологічним і електронномікроскопічним методами (Меркулов Г.А., 1969; Садиков Д.С., 1996) досліджували паренхіму яєчка та еякулят. У гістологічних мікропрепаратах яєчок, забарвлених гематоксиліном і еозином, визначали діаметр звивистих сім'яних трубочок, кількість клітин сперматогенного епітелію на VII стадії циклу, об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів. За загальноприйнятими методами в камері Горяєва визначали концентрацію сперматозоїдів, їх морфологічну характеристику, враховували форму головки, зв'язуючої, проміжної та основної частини джгутика. Підраховували кількість сперматозоїдів з прогресивним рухом, непрогресивним рухом та нерухомі форми (Луцик Б.Д., 2011). Ультратонкі зрізи вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125 К з наступним фотографуванням із збільшенням від 6000 до 16000 разів. Фотографування гістологічних мікропрепаратів проводили за допомогою мікроскопа Люмам Р-8 і мікрофотонасадки МФ-106, перехідного оптичного пристрою Opten 257000 (Qioptic-США) і цифрової камери Nikon Coolpix 5400 ("Nikon Corporation"-Японія). Статистичний аналіз показників проводили за допомогою комп'ютерної програми STATISTICA for Windows®, порівняння даних здійснювали методами непараметричного аналізу з використанням критерію Манна-Уїтні. Різницю між показниками вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Утримування і маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до положення "Загальні етичні принципи експериментів над

тваринами", затвердженого I Національним конгресом з біоетики. Комісією з біоетики ДВНЗ "Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника" порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 3 від 15.05.2015 р.).

Результати дослідження та їх обговорення.

Блокада сім'яносної протоки на 30 добу експерименту виявляється значними атрофічними змінами у третині звивистих сім'яних трубочок, діаметр яких зменшується до $140,30 \pm 2,70$ мкм. Власна оболонка трубочок потовщена. Збільшується кількість міжканальцевої сполучної тканини. Об'єм ядер інтерстиційних ендокриноцитів зменшується до $74,15 \pm 2,30$ мкм³, їх цитоплазма неоднорідна. В цих умовах звичайну будову зберігають 40,8% звивистих сім'яних трубочок, у 27,5% трубочок виявляються незначні розлади сперматогенезу, у 18,4% – тяжкі, а 13,3% сім'яних трубочок є спустошеними. У звивистих сім'яних трубочках кількість вторинних сперматоцитів зменшується до $122,34 \pm 3,20$ і сперматид 7 етапу розвитку – до $308,80 \pm 8,90$.

Через 30 діб після блокади сім'яносної протоки в частині молодих клітин власної оболонки звивистих сім'яних трубочок матрикс цитоплазми вакуолізований, мітохондрії з деформованими гребенями. Наявна вакуолізація цитоплазми підтримувальних епітеліоцитів, у ній збільшується кількість жирових включень і лізосом. Матрикс мітохондрій вакуолізований, а гребені редуковані. Ультраструктура апарату з'єднань між клітинами збережена. Хроматин в ядрі розміщений нерівномірно, перинуклеарний простір розширений.

На 30 добу після блокади сім'яносної протоки та її реканалізації діаметр звивистих сім'яних трубочок становить у середньому $150,56 \pm 4,30$ мкм. За цих умов 45% звивистих сім'яних трубочок зберігають звичайну будову, легкий ступінь порушення сперматогенезу виявляється у 33% сім'яних трубочок, тяжкі розлади сперматогенезу наявні у 12% трубочок, а у 10% сім'яних трубочок клітини сперматогенного епітелію відсутні.

Підрахунок клітин сперматогенного епітелію свідчить, що у звивистих сім'яних трубочках, які перебувають на VII стадії циклу, кількість первинних сперматоцитів становить $180,15 \pm 3,20$, вторинних сперматоцитів – $145,80 \pm 6,30$ та сперматид 7 етапу розвитку – $374,9 \pm 5,60$. Отримані дані свідчать про певне збільшення кількості статевих клітин, що розвивається, але ці показники є значно нижчими, ніж у контрольній групі тварин. Об'єм ядер інтерстиційних

ендокриноцитів становить $74,20 \pm 3,50$ мкм³, цитоплазма клітин неоднорідна.

За даними електронної мікроскопії базальна мембрана гемокапілярів розширена, місцями фрагментована. Цитоплазма ендотеліоцитів вакуолізована, в мітохондріях – часткова редукація гребенів, каналці ендоплазматичної сітки та елементи комплексу Гольджі нерівномірно розширені. У власній оболонці звивистих сім'яних трубочок ядра частини міоїдних клітин деформовані з периферійною конденсацією хроматину. Контури цитолемі клітин нерівні і формують інвагінації, цитоплазматичні органели (мітохондрії, гранулярна ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі) залишаються деформованими. Міофіламенти в цитоплазмі міоїдних клітин редуковані. Базальна мембрана сперматогенного епітелію власної оболонки звивистих сім'яних трубочок, є нерівномірно розширеною.

У підтримувальних епітеліоцитах контури ядра не чіткі, хроматин розташований перинуклеарно. Матрикс цитоплазми цих клітин просвітлений за рахунок вакуолізації, зростає кількість жирових включень. Частина мітохондрій неправильної форми, їх матрикс вакуолізований, гребені редуковані. У з'єднувальному апараті підтримувальних епітеліоцитів цистерни ендоплазматичної сітки

розширені, мікрофіламенти частково редуковані, контури цитолем не чіткі.

Ядра інтерстиційних ендокриноцитів неправильної форми, хроматин конденсований біля внутрішньої поверхні ядерної оболонки, цитоплазма клітин вакуолізована, гребені мітохондрій частково редуковані, зростає кількість жирових включень.

Дослідження сперматозоїдів, отриманих із хвостової частини над'яєчка на 30 добу реканалізації сім'яиносної протоки, показали (таблиця), що кількість їх патологічних форм становить $31,70 \pm 3,45\%$ проти $35,50 \pm 2,58\%$ у тварин з блокадою протоки.

За цих умов $29,60 \pm 1,78\%$ проти $30,32 \pm 2,45\%$ становить кількість мертвих сперматозоїдів, не змінюється ($15,28 \pm 1,82\%$ проти $15,53 \pm 2,14\%$) кількість сперматозоїдів з патологією головки. На 30 добу реканалізації сім'яиносної протоки дещо збільшується ($70,50 \pm 3,50\%$ проти $69,72 \pm 3,90\%$) кількість живих сперматозоїдів та кількість сперматозоїдів з прогресивним рухом ($48,20 \pm 3,40\%$ проти $46,18 \pm 2,70\%$ і до $22,68 \pm 2,31\%$ проти $21,43 \pm 1,90\%$ – сперматозоїдів з непрогресивним рухом. За цих умов до $29,40 \pm 3,50\%$ проти $31,79 \pm 2,13\%$, зменшується кількість нерухомих форм сперматозоїдів. Отримані нами результати свідчать про позитив-

Таблиця

Основні показники спермограми тварин на 30 добу блокади сім'яиносної протоки та її реканалізації (M±t)

Параметри спермограми	Контрольна група	Блокада протоки	Реканалізація протоки
Концентрація сперматозоїдів (млн/мл)	$67,50 \pm 3,60$	$58,73 \pm 2,31^*$	$60,28 \pm 2,93^*$
Кількість патологічних форм (%)	$24,10 \pm 1,15$	$35,50 \pm 2,58^*$	$31,70 \pm 3,49^*$
Морфологічно нормальні сперматозоїди, (%)	$76,10 \pm 4,52$	$64,50 \pm 4,72^*$	$68,30 \pm 3,90^*$
Кількість живих сперматозоїдів, (%)	$79,50 \pm 4,30$	$69,68 \pm 3,90^*$	$70,50 \pm 3,56^*$
Сперматозоїди з прогресивним рухом (%)	$55,62 \pm 3,42$	$46,78 \pm 2,80^*$	$48,25 \pm 3,40^*$

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

ний вплив на сперматогенез реканалізації сім'явиносної протоки шляхом її бужування.

Отримані нами в процесі експерименту результати свідчать про те, що блокада сім'явиносної протоки [1] з виключенням кровотоку по її артерії [7] призводить до значних структурних змін в яєчку і еякуляті, але отримані дані є обнадійливими щодо можливості проведення реканалізації сім'явиносних проток за необхідності відновлення фертильності [8, 9]. У серії експериментів з реканалізацією сім'явиносної протоки шляхом її бужування нами одержані дані, що свідчать про наявність у звивистих сім'яних трубочках зростаючої кількості сперматоцитів та сперматид 7-го етапу розвитку, а в еякуляті – зниження кількості патологічних форм сперматозоїдів ($p < 0,05$) та збільшення кількості сперматозоїдів з прогресивним і непрогресивним рухом [1].

Висновки. 1. Блокада сім'явиносної протоки на 30 добу досліду призводить до вогнищевих гістологічних і електронномікроскопічних змін в яєчку та значного збільшення кількості патологічних форм сперматозоїдів і зниження їх прогресивної рухливості. 2. Реканалізація сім'явиносної протоки на 30 добу досліду сприяє розвитку відновлювальних процесів у звивистих сім'яних трубочках та еякуляті, але задля досягнення вірогідних результатів усіх показників необхідне застосування корекційної терапії.

Перспективи подальших досліджень. Отримані нами показники у звивистих сім'яних трубочках і еякуляті за умов блокади сім'явиносної протоки та її реканалізації свідчать про можливість подальшої корекції сперматогенезу застосуванням фітотерапії.

Список використаної літератури

1. Лісова Т.А. Морфо-функціональний стан сперматозоїдів після блокади та реканалізації сім'явиносної протоки в експерименті / Т.А. Лісова // Природничі читання: II наук.-практ. конф. з міжнародною участю. – Чернівці, 2015. – С. 118.
2. Aradhya K.W. Recent developments in vasectomy / K.W. Aradhya, K. Best, D.C. Sokal // *Br. Med. J.* – 2005. – Vol. 330. – P. 296-299.
3. Barone M.A. A prospective study of time and number of ejaculations to azospemia after vasectomy by ligation an excision / M.A. Barone, H. Naczerali, M. Cortes // *J. Urology.* – 2003. – Vol. 170. – P. 376-379.
4. Kim E.D. Pathological epididymal obstruction unrelated to vasectomy: results with microsurgical reconstruction / E.D. Kim, E. Winkel, F. Orejuela // *J. Urology.* – 1998. – Vol. 100. – P. 2078-2080.
5. Sokal D.C. Vasectomy by ligation and excision, with or without, fascial interposition: a randomized controlled trial / D.C. Sokal, B. Irsula, M. Hays // *BMC Med.* – 2004. – Vol. 2. – 6 p.
6. Weiske W.H. Vasectomy / W.H. Weiske // *Andrologia.* – 2002. – Vol. 33. – P. 125-134.
7. Лісова Т.А. Особливості цитологічних змін в яєчку в умовах блокади кровотоку артерією сім'явиносної протоки / Т.А. Лісова // *Світ мед. та біолог.* – 2015. – № 2(50). – С. 149-151.
8. Zabrecque M. Vasectomy surgical techniques: a systematic revien / M. Zabrecque, C. Dufresne, M.A. Barone // *BMC Med.* – 2004. – Vol. 2. – 21 p.
9. Nangia A.K. Vasectomy reversal for the post-vasectomy pain syndrome: a clinical and histological evolution / A.K. Nangia, J.I. Myles, A.J. Thomas // *J. Urology.* – 2000. – Vol. 164. – P. 1939-1942.

**ЦИТОГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ
В ЯИЧКЕ И ЭЯКУЛЯТЕ В УСЛОВИЯХ
ДЛИТЕЛЬНОЙ БЛОКАДЫ
СЕМЯВЫНОСЯЩИХ ПРОТОКОВ И ИХ
РЕКАНАЛИЗАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Резюме. Полученные нами данные свидетельствуют об увеличении в канальцах количества сперматоцитов и сперматид 7-го этапа развития, а в эякуляте – о снижении количества патологических форм сперматозоидов и увеличении их количества с прогрессивным и непрогрессивным движением ($p < 0,05$) после реканализации семявыносящего протока, по сравнению с такими же показателями в условиях его блокады.

Ключевые слова: блокада семявыносящего протока, реканализация, сперматогенез.

**CYTOLOGICAL CHANGES IN THE TESTIS
AND EJACULATE IN CONDITIONS OF
PROLONGED BLOCKADE OF THE SPERM
DUCT AND ITS RECANALIZATION IN
EXPERIMENT**

Abstract. Our data indicate an increase in the number of spermatocytes and spermatids in 7-th stage of development in the convoluted seminiferous tubules, as well as reduction in the number of abnormal forms of sperm cells and increase in the number of sperm cells with progressive and non-progressive movement ($p < 0,05$) in ejaculate after recanalization of the sperm duct.

Key words: blockade of the sperm duct, recanalization, spermatogenesis.

Carpathian National University named after V. Stefanik (Iv.-Frankivsk)

Надійшла 17.06.2016 р.
Рецензент – проф. Хмара Т.В. (Чернівці)