

Коцюмбас Г.І., доктор ветеринарних наук

Прицак В.В., аспірантка

Львівський національний університет ветеринарної медицини

та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Щебентовська О.М., кандидат ветеринарних наук

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних

препаратів та кормових добавок

ГІСТОЛОГІЧНА ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА

ТЕСТИКУЛІВ ПІВНІВ ПРИ ВИПОЮВАННІ РІЗНИХ

КОНЦЕНТРАЦІЙ ВИСОКОЧИСТОГО РОЗЧИНУ НАТРІЮ

ГІПОХЛОРИТУ

Рецензент – доктор ветеринарних наук М.В. Скрипка

У статті представлено результати гістологічних та ультраструктурних досліджень сім'яників півні, яким випоювали з водою розчин «ВетОкс-1000» у концентрації 5, 10 і 20 мг/л, 14 днів поспіль. Встановлено, що концентрація розчину 5 мг/л не викликає достовірних змін у структурі сім'яних канальців, інтерстиції та клітинах Лейдіга, а концентрації розчину 10 і 20 мг/л спричиняють розвиток дистрофічних змін в клітинах сперматогенного епітелію з наступним їх відшаруванням та набряк міжканальцевої сполучної тканини.

Ключові слова: розчин натрію гіпохлориту – «ВетОкс-1000», півні, тестикули, гісто- і ультраструктура.

Постановка проблеми. Протягом останніх двадцяти років набуто великого позитивного досвіду використання розчинів натрію гіпохлориту у медичній, а також і ветеринарній практиці. За фармакологічною дією розчини на основі NaClO проявляють дезинфікуючі, антисептичні, протимікробні, дезінтоксикуючі властивості.

Аналіз основних досліджень і публікацій. Успішне та ефективне застосування розчину натрію гіпохлориту як лікувального чи профілактичного засобу залежить як від глибокого знання властивостей препарату, так і розуміння механізму дії різних його концентрацій на організм у нормі та при

тих чи інших патологічних процесах [1]. Відомо, що розчин натрію гіпохлориту є сильним окисником і потрапляючи в кров, прискорює трансформацію токсинів, їх метаболітів і гідрофобних компонентів супутньої ендотоксимії у гідрофільні сполуки, що сприяє їх швидкому виведенню із організму [2]. Разом з тим є повідомлення про позитивний вплив цих розчинів на імунну систему та регенераторні процеси в органах і тканинах. Незначна концентрація сполук активного кисню і хлору гарантує повну безпеку для організму. Проте, при достатньому насиченні організму киснем посилюється вільнорадикальний процес окиснення ліпідів в тканинах, що може також призвести до виражених патологічних зсувів [3]. Тому вивчення впливу різних концентрацій розчину натрію гіпохлориту на організм клінічно здорової птиці, дасть можливість визначити найоптимальнішу концентрацію розчину, яку можна застосовувати з профілактичною метою.

Метою нашої роботи було вивчення гістологічних, ультраструктурних змін у сім'яниках півнів при вполюванні їм високочистого розчину натрію гіпохлориту під комерційною назвою “ВетОкс-1000” в концентрації 5, 10, 20 мг/л.

Матеріали і методи досліджень. Дослід проводили на 40 клінічно здорових півнях 4 місячного віку з яких формували 4 групи по 10 півнів у кожній. Перша група була контрольною, II, III і IV групи щоденно, протягом 14 діб отримували, замість води, розчин “ВетОкс-1000” у концентрації 5, 10 та 20 мг/л, відповідно. На 7 та 14 доби експерименту по 5 голів птиці виводили з експерименту шляхом декапітації згідно з “Методичними рекомендаціями по виведенню тварин із експерименту” і відбирали тестикули для визначення вагових показників. Для гістологічного дослідження шматочки сім'яників фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали і заливали в парафін. На санному мікроскопі отримували зрізи товщиною 4-6 мкм з наступним забарвленням їх гематоксиліном та еозином. Оцінку гістоструктури проводили за допомогою мікроскопу “Olympus CX-41”. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки сім'яників фіксували у 1,5 % розчині глютарового альдегіду в 0,2 молярному какодилатному буфері (рН-7,2) – 2 години. Зразки промивали у двох порціях буфера і

дофіксували в 1,5 % розчині окису осмію (OsO₄). Після відмивання, дегідратації у зростаючих концентраціях етилового спирту, контрастували уранілацетатом і заключали в епоксидну смолу – Епон-812. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю. Зразки переглядали і фотографували в електронно-трансмійному мікроскопі ПЕМ-100 [4].

Результати досліджень. Вже на 7 добу від початку впоювання півням високочистого розчину НГХ (“ВетОкс-1000”) у різних концентраціях встановлено, що маса сім’яників у всіх дослідних групах тенденційно зменшувалась. Так, у півнів II групи вага сім’яників на 7 добу складала 0,84±0,07 г проти 0,93±0,08 г у контролі, на 14 добу – 0,89±0,03 г проти 0,95±0,03 г, відповідно. У півнів III та IV груп відзначали зменшення маси сім’яників на 7 добу, відповідно на 16% та 21,5%, на 14 добу – на 16,8% і 18,9% відносно контролю (рис. 1).

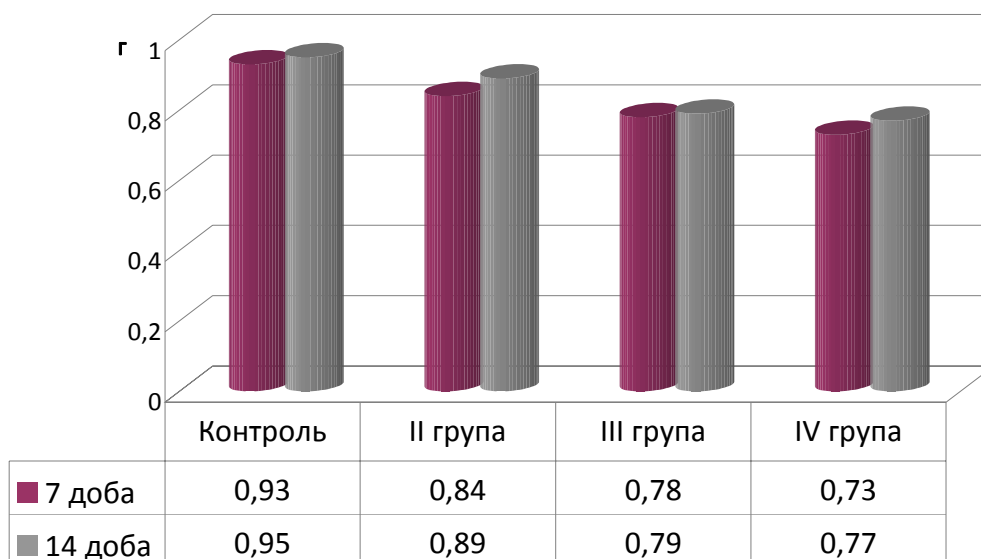


Рис. 1. Вагові показники сім’яників півнів за впоювання різних концентрацій розчину “ВетОкс-1000” ($M \pm m$, $n = 5$)

За гістологічного дослідження сім’яників півнів контрольної групи поперечний переріз сім’яних трубочок округлої форми, перший ряд (базальний) представлений фолікулярними клітинами (клітини Сертолі), другий – сперматогоніями з гіперхромним ядром великих розмірів (рис. 2). Четвертий і п’ятий ряди заповнені сперматоцитами, із світлішим і меншим ядром порівняно із сперматогоніями. Мітотична активність клітин звивистих трубочок висока. В інтерстиціальній тканині волокнисті структури компактно вистелені, серед яких добре проглядаються поперечні зрізи судин.

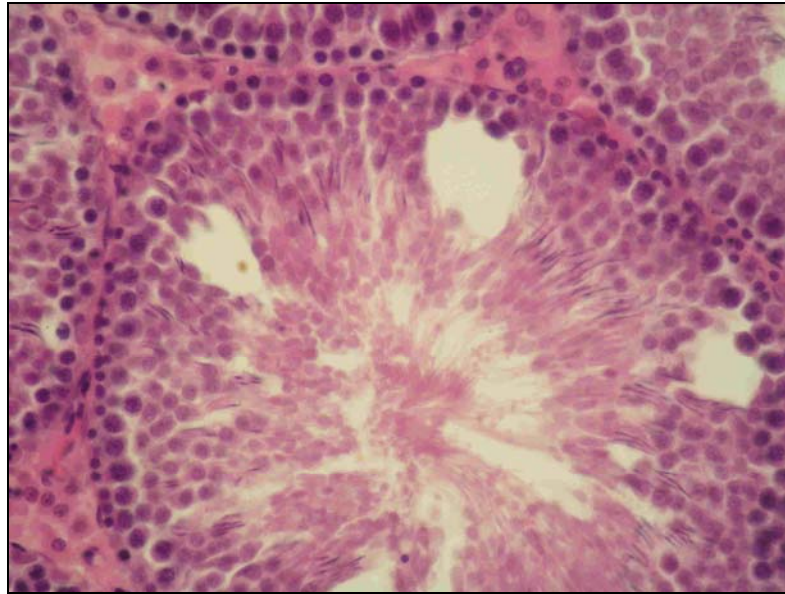


Рис. 2. Компактне розміщення клітин Сертолі на базальній мембрані сім'яного каналця півня контрольної групи. Просвіт, заповнений сформованими сперматозоїдами. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 90.

Ультраструктурно клітини Сертолі виділялись за формою увігнуто-сегментного ядра, оскільки каріолема утворювала глибокі інвагінації. Біля внутрішньої ядерної оболонки відзначали осміюфільні конденсовані глибки хроматину, а в ділянках відкритих ядерних пор – просвітлення, що вказувало на активний вихід хроматину в цитоплазму клітини (рис. 3). Мембрани ендоплазматичного ретикулуому помірно вкриті рибосомами.

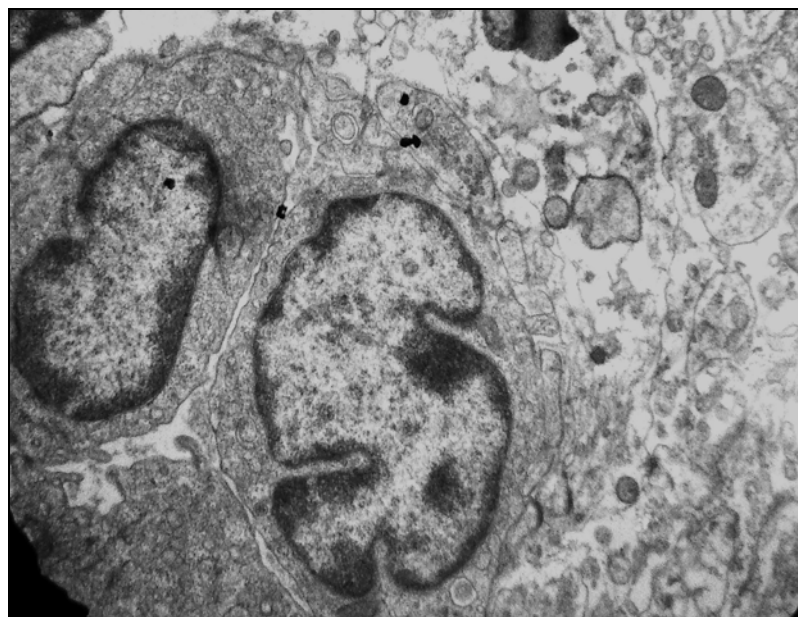


Рис. 3. Клітина Сертолі півнів контрольної групи. Ядро увігнуте, сегментне. Зб. 4000

За гістоморфометричного дослідження встановлено, що у півнів II групи, яким випоювали розчин “ВетОкс-1000” у концентрації 5 мг/л на 7 добу експерименту діаметр сім’яних трубочок тенденційно зменшувався і становив $180,6 \pm 2,84$ мкм, на 14 добу – $196,6 \pm 4,05$ мкм, тоді як у півнів контрольної групи на 7 добу досліджу становив $189,9 \pm 3,27$ мкм, на 14 добу – $214,6 \pm 3,57$ (табл. 1).

1. Діаметр сім’яних трубочок тестикулі півнів після випоювання різних концентрацій розчину “ВетОкс-1000” ($M \pm m$, $n = 5$), мкм

	Контроль	II група	III група	IV група
7 доба досліджу	$189,9 \pm 3,27$	$180,6 \pm 2,84$	$141,9 \pm 4,32$	$139,5 \pm 3,75$
14 доба досліджу	$214,6 \pm 3,57$	$196,6 \pm 4,05$	$158,1 \pm 3,93$	$154,4 \pm 4,05$

За гістологічного дослідження відзначали збережену структуру сім’яних трубочок тестикулів півнів II групи. Базальна мембрана не порушена. Сперматогенний епітелій, представлений кількома шарами сперматогоній. Клітини округлої форми з великими гіперхромними ядрами (рис. 4). Спостерігали незначне зміщення клітин у просвіт трубочки. Просвіт частини звивистих сім’яних каналців містить вже сформовані сперматозоїди та клітини з гомогенною цитоплазмою, великим світлим ядром неправильної форми. Ультроструктурно виявляли великого розміру світлі клітини - сперматогонії типу А, навколо яких формуються сперматоцити I порядку (рис. 5).

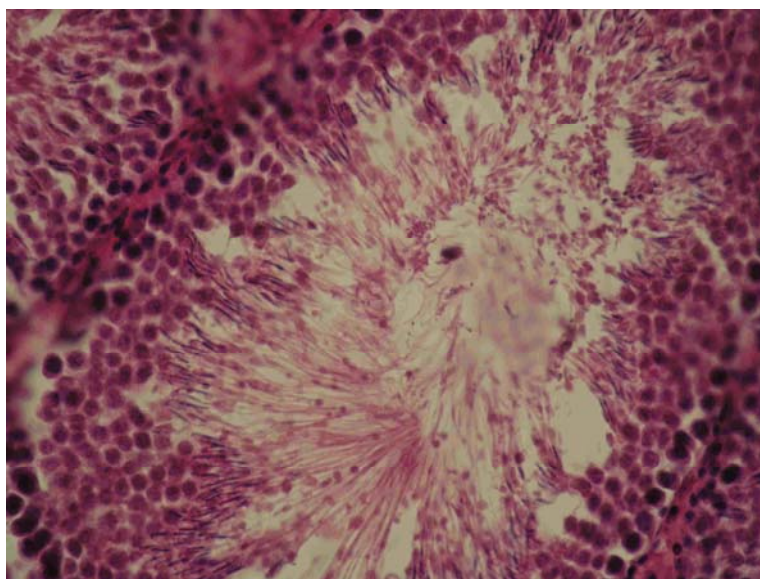


Рис.4. Сім’яний каналець півня II група. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 90

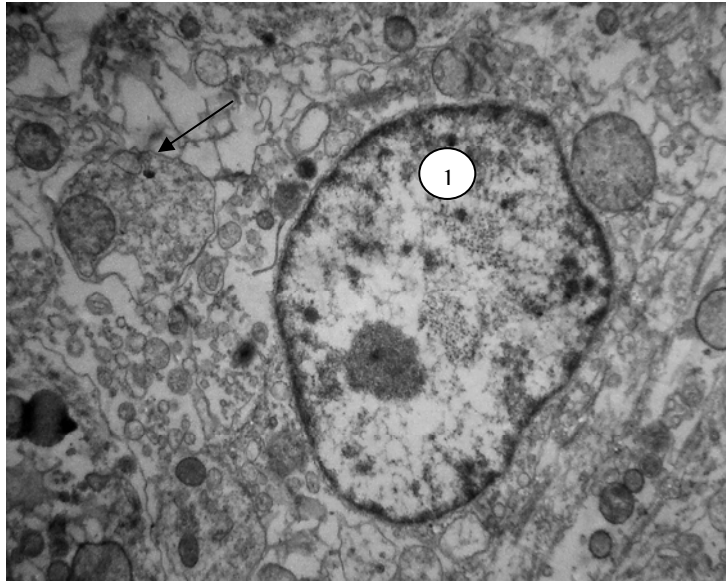


Рис. 5. Електронограма. Сперматогонії типу А (1) і сперматоцит 1 порядку (показано стрілкою) сім'яного каналця півня II групи. Зб. 4000.

Отже, випоювання півням високочистого розчину НГХ («ВетОкс-1000») у концентрації 5 мг/л не викликають достовірних змін у звивистих каналцях, інтерстиції та клітинах Лейдіга, порівняно з контрольною групою півнів. Незначні коливання даних морфометричних досліджень не можуть свідчити про порушення сперматогенезу.

У півнів III групи на 7 і 14 добу випоювання розчину «ВетОкс-1000» у концентрації 10 мг/л маса сім'яників достовірно зменшувалась у порівнянні з контролем. За гістоморфометричного дослідження на 7 і 14 доби експерименту виявлено зменшення діаметру сім'яних канатиків (табл. 1). Гістологічно відзначали потовщення базальної мембрани, частково зменшується кількість клітин в просвіті трубочок і різке зменшення кількості сперматоцитів на стадії прелептотени, що може спричинити пошкодження сперматогоній типу А. Між звивистими сім'яними трубочками простежувалось слабе просякання трансудатом інтерстиціальної сполучної тканин та незначний цитоплазматичний набряк в клітинах Лейдіга (рис.6).

При електронно-мікроскопічному дослідженні сім'яників півнів III відзначали виразні зміни у клітинах Сертолі. В одних клітинах простежували різке зменшення ядерного хроматину і появу в цитоплазмі клітини численних прозорих вакуолю на місці розширених цистерн ендоплазматичного ретикулуму (рис. 7). В інших клітинах Сертолі – ядра зменшені в розмірі і гіперхромні.

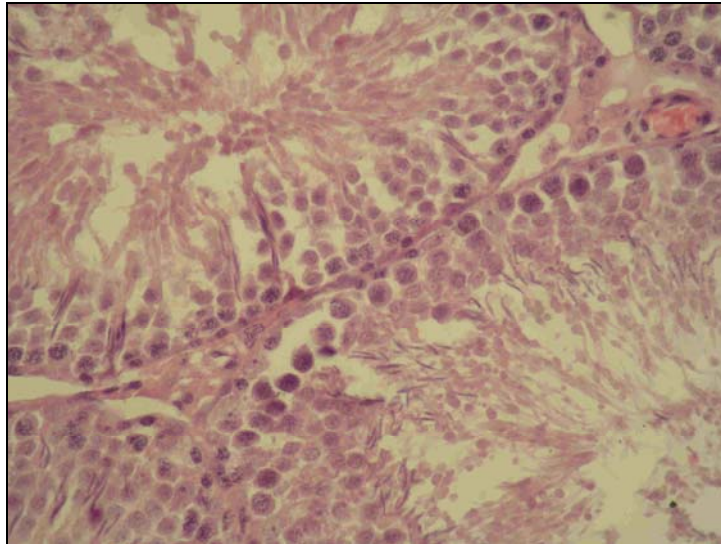


Рис. 6. Зменшення кількості клітин сперматогенного епітелію в сім'яних канальцях півнів III групи. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40.

У півнів IV групи як на 7 так і 14 доби випоювання розчину «ВетОкс-1000» у концентрації 20 мг/л відзначали зменшення маси тестикулів. Гістологічно у звивистих канальцях сім'яників спостерігали порушення шарового розміщення клітин сперматогенного епітелію, зменшення вмісту клітин герміногенного епітелію, особливо сперматоцитів. (рис.8). У просвіті канальців переважали округлі сперматиди. Піддавались дистрофічним змінам клітини Сертолі. Більшість із них була десквамована. Міжканальцева сполучна тканина набрякла, місцями розшарована.

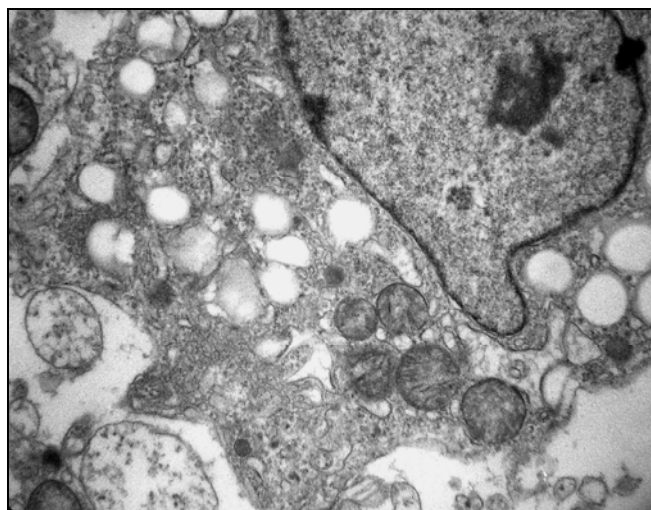


Рис. 7. Електронограма. Клітина Сертолі сім'яників півнів III групи. 36.4000.

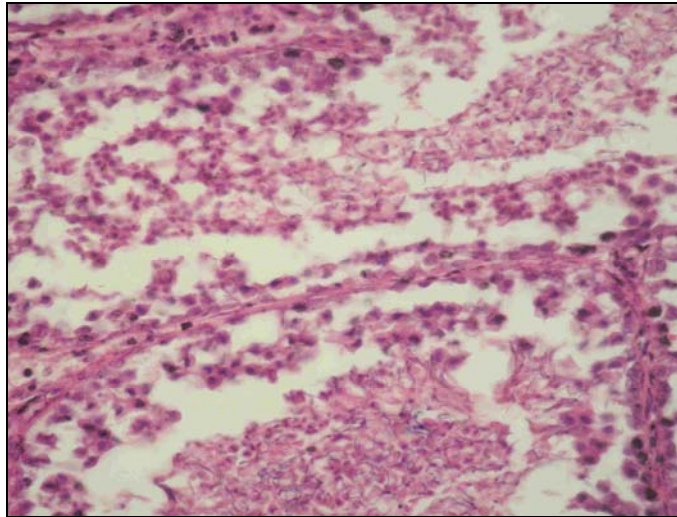


Рис. 8. Відшарування і вихід клітин герміногенного епітелію у просвіт сім'яних канальців півнів IV групи на 14 добу дослідю. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

При електронномікроскопічному дослідженні цитоплазма частини клітин суспендоцитів (клітин Сертолі) набрякла, порушена структура мембран ендоплазматичного ретикулула, крист мітохондрій, а просвіт заповнений дрібними везикулами, що вказує розвиток дистрофічно-некробіотичних змін (рис. 9).

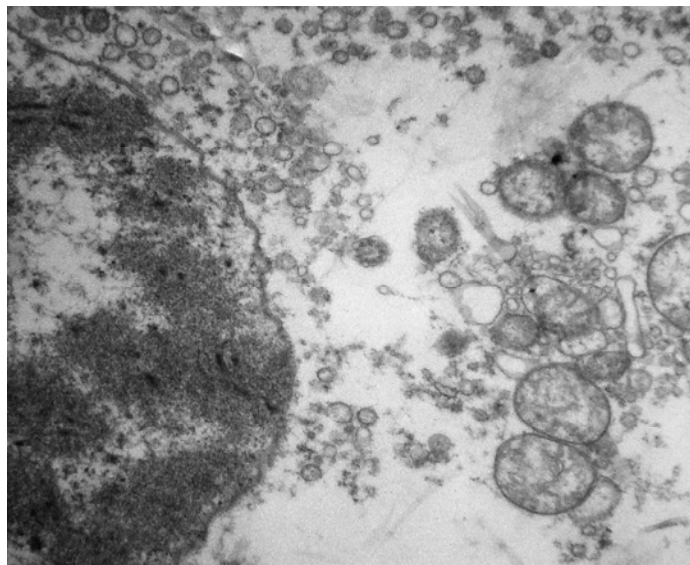


Рис.9. Електронограма. Порушена структура цитоплазми клітин Сертолі. Зб.4000

Проведені гісто- та ультраструктурні дослідження показали, що впоювання розчину натрію гіпохлориту у концентрації 10 і 20 мг/л протягом 14 діб призводить до порушення структури сім'яних канальців, що проявляються набряком міжканальцевої сполучної тканини, дистрофічними змінами у

клітинах сперматогенного епітелію з наступним її відшаруванням, проте зберігаються острівці мало змінених сустентоцитів (клітин Сертолі), що свідчить про можливість відновлення процесів сперматогенезу.

Висновок: Випоювання півням високочистого розчину НГХ (“ВетОкс-1000”) у концентрації 5 мг/л не викликає достовірних змін у структурі сім’яних каналців, інтерстиції та клітинах Лейдіга, а концентрації розчину 10 і 20 мг/л спричиняють розвиток дистрофічних змін в клітинах сперматогенного епітелію з наступним їх відшаруванням та набряк міжканальцевої сполучної тканини.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Бояринов Г.А., Векслер Н.Ю. Свойства и сферы применения натрия гипохлорита // Эфферентная терапия. – 1997. – Т. 3, № 2, – С. 5–14.
2. Кирюткин Г.В., Горлов И.Ф. Гипохлориты. – Волгоград, 2002. – 484 с.
3. Розчин натрію гіпохлориту. Технічні умови / І.Я. Коцюмбас, О.М. Брезвин, В.О. Труфанова, А.М. Котик, Г.А. Зон, Г.І. Коцюмбас, Г.Ю. Тесляр, О.М. Г.В. Кушнір, Я.В. Бабчій // ТУ У 24.4-00485670-047: 2005 – 20.05.2006.
4. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
5. Бречка Н.М. Вплив препаратів з анаболічною дією на статеву систему самців щурів / Н.М. Бречка, О.М. Демченко // Проблеми ендокринної патології. – 2004. - №3. – С. 90-98.
6. Сергієнко Л.Ю. Стан органів репродуктивної системи у самців – нащадків стресованих матерів / Л.Ю. Сергієнко, О.В. Картавцева, Г.В. Геращенко // Проблеми ендокринної патології. – 2004. - №2. – С. 76-81.
7. Боровская Т.Г. Влияние хинина на морфологию семенников мыши / Т.Г. Боровская, Е.Д. Гольдберг, Е.В. Абрамова // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2000. – Т. 130, № 10. – С. 445-448.
8. Гречин А.Б. Ультраструктурні зміни елементів паренхіми сім’яників щурів в ранні терміни після дії загальної глибокої гіпотермії / А.Б. Гречин // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2002. – Т. 6, №2. – С. 395-396.
9. Тешаев Ш.Ж. Реактивные изменения семенников крыс при воздействии которана и хлората магния / Ш.Ж. Тешаев // Морфология. – 2004. – Т. 126. - № 4. – С. 121.