

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СПЕРМАТОЗОЇДІВ У ЩУРІВ

О. В. Щербак¹, Н. М. Бречка²

¹Харківська державна зооветеринарна академія

²Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського

У статті вивчено вплив віку щурів на андрогензалежні органи та на якісні і кількісні показники спермограми. У досліді використано 60 щурів популяції Вістар, які розділені на 8 вікових груп: 2,5, 3,5, 6, 12, 18, 24, 30 та 36 місяців. Виявлено, що маси андрогензалежних органів майже не змінювались, незважаючи на їх незначні коливання в фізіологічних межах, якщо за контроль взяти групу тварин репродуктивного періоду життя (6 місяців). Кількість сперматозоїдів у групах досліджуваних тварин з віком не зменшувалася. Але при цьому відмічалось достовірне підвищення рівня патологічних форм (майже у 3 рази) та зниження рухливості у 30- та 36-місячних тварин. У 18- та 24-місячних тварин спостерігалась аглютинація слабого ступеня, а у 30- та 36-місячних — спостерігалась аглютинація як слабого, так і середнього ступеня.

Останні досягнення клітинної та генної інженерії, молекулярної біології та генетики дозволяють отримувати тварин з задалегідь заданими ознаками (химерних, клонованих та трансгенних). Отримання вказаних тварин базується на використанні таких методів, як отримання сперми та ооцитів, штучне запліднення яйцеклітин поза організмом, а також трансплантація ядер та ембріонів. Ефективність отримання подібних тварин залежить від багатьох чинників [1], серед яких і морфо-функціональний стан сперми, на який впливає вік самців. Крім того, у безплідних шлюбках в Україні частка чоловічого фактора за даними різних авторів становить від 30–40 % [2]. Вважається, що неплідність чоловіків може бути обумовлена різноманітними факторами: патологічними процесами у статевих органах, екологічними чинниками, стресом, безконтрольним вживанням лікарських препаратів, а також віком чоловіка [3, 4].

Для вирішення проблеми безпліддя все більша кількість людей звертається до послуг центрів репродукції людини. На ефективність методів (IVF, GIFT, ICSI, PESA, MESA, TESA), які використовуються у таких центрах впливають як технологічні, так і біологічні чинники. Серед технологічних факторів можливо визначити: механічний вплив на ембріони, трансплантацію ембріонів, а серед біологічних: фізіологічний стан пацієнтів, патологічні процеси в організмі, а також вік. Однак, у біотехнологічних центрах віку чоловіка не приділяється така пильна увага як віку жінки.

У роботі було вирішено вивчити один із біологічних чинників, які впливають на ефективність новітніх технологій відтворення, а саме віку самців. Тому, метою нашої роботи було: по-перше — визначити вплив віку на андрогензалежні органи; по-друге — визначити вплив віку самців щурів на якісні та кількісні показники спермограми.

Матеріали і методи. У роботі використано 60 самців щурів популяції Вістар. Цей вид тварин використовувався через те, що перетворення чоловічого статевого гормону у них ідентичне цьому процесу у людини та перебігає з перевагою 5 α — відновлення [5].

Для визначення впливу віку на андрогензалежні органи щурів поділили на 8 груп:

- 1) 2,5-місячні (ранній пубертатний період життя);
- 2) 3,5-місячні (пубертатний період життя);
- 3) 6-місячні (репродуктивний період життя);

- 4) 12-місячні (молодий зрілий період життя);
- 5) 18-місячні (зрілий період життя);
- 6) 24-місячні (пізній зрілий період життя);
- 7) 30-місячні (старечий період життя);
- 8) 36-місячні (межовий старечий період життя).

Тварин різних груп декапітували, виділяли сім'яники, вентральну передміхурову залозу (ВПЗ), сім'яні пухирці (СП), епідидимиси та вимірювали їх масу.

Визначення впливу віку самців щурів на якісні та кількісні показники сперми було проведено у тих же групах, окрім першої (ранній пубертатний період). У всіх піддослідних тварин досліджувались морфологічні показники сперматозоїдів, які вимивали з епідидимусів за класичною методикою [6, 7–10]. Суспензію сперматозоїдів, одержували повздовжнім розрізом хвостової частини придатку сім'яника щура і дозованим (дві хвилини) перемішуванням його у фізіологічному розчині (2 мл) при температурі 22–28 °С.

Для спостереження тривалості руху сперматозоїдів краплю суспензії наносили на предметне скло. Підраховували кількість рухливих та нерухливих спермій на 100 сперматозоїдів. Для підрахунку відносної кількості патологічних форм (деформація, подвоєння, набухання чи зморщування як головки, так і шийного або хвостового відділів сперматозоїдів та інше) готували мазки: одну краплю суспензії наносили на предметне скло, підсушували на повітрі та фарбували барвником — лужним розчином метиленового синього. Підрахунок проводили на 100 сперматозоїдах. Концентрацію сперматозоїдів визначали шляхом підрахунку у п'яти великих квадратах по діагоналі в камері Горяєва [6].

Дані представлено як середнє арифметичне та його похибка. При статистичній обробці результатів перевіряли характер розподілу даних у вибірках, який здебільшого підкорявся закону нормального розподілу [11].

Результати та обговорення. З віком у самців розвиток і функціонування органів та систем органів багато в чому залежить від чоловічого статевого гормону. Тому, у першій частині нашого дослідження ми вивчили вплив віку тварин на андрогензалежні органи самців. Необхідність такого дослідження визначається тим, що ендогенний тестостерон, як гормон, має політропні властивості, які умовно розподіляються на групи центральних, специфічних та анаболічних ефектів. Під центральною дією розуміють регулюючий вплив тестостерону на гонадотропну функцію гіпофізу за принципом механізму негативного зворотного зв'язку. Тобто, існують реципрокні взаємовідношення між секрецією гонадотропінів, гіпофізом та продукцією тестостерону: коли його секреція знижується, то секреція гонадотропінів збільшується. Традиційно специфічні властивості тестостерону розглядаються як його здатність вибірково стимулювати збільшення і розвиток внутрішніх статевих органів (передміхурової залози та сім'яних пухирців) та біотипологічних чоловічих ознак (будова тіла, топографія жирової клітчатки, м'язова маса). Маскулінізація зовнішніх геніталій (статевий член, мошонка, сім'яиносні протоки) забезпечується тестостероном після його перетворення у ДГТ [12]. У загальних рисах анаболічні властивості тестостерону проявляються у його здатності прискорювати синтез білка.

У результаті досліджень (табл. 1) виявлено закономірне збільшення загальної маси тварин з віком, а при візуальному огляді андрогензалежних органів щурів різних вікових груп було виявлено, що морфологія органів знаходиться у межах норми. Крім того, маса цих органів майже не змінювалась, незважаючи на їх незначні коливання в фізіологічних межах, якщо за контроль взяти групу тварин репродуктивного періоду життя (6 місяців).

Таблиця 1

Маса андрогензалежних органів самців щурів різних вікових груп (M±m)

Група тварин	К-ть тварин	Маса тварин, г	Маса сім'яників, мг	Маса сім'яних пухирців, мг	Маса передміхурової залози, мг	Маса епідидимісу, мг
2,5 міс.	7	177,86±4,54	1885,72±83,21	212,86±10,59	85,72±6,05	83,72±3,78
3,5 міс.	8	155±2,00	2440,00±46,54	264,25±12,63	188,50±12,20	332,50±13,96
6 міс.	8	267,5±9,31	3150,00±106,39	1660,00±66,49	586,88±9,31	630,25±26,60
12 міс.	8	316,25±7,98	4000,00±132,98	1827,50±79,79	650,63±22,61	733,75±23,27
18 міс.	8	375±6,65	3608,75±172,88	1662,50±33,25	628,75±33,25	625,00±29,26
24 міс.	8	413±9,31	3556,25±99,73	1700,00±113,03	729,75±30,59	689,38±33,25
30 міс.	7	420±10,59	3621,43±90,78	1767,14±113,47	695,00±34,04	710,00±11,35
36 міс.	6	488±17,73	4266,67±212,76	1733,33±88,65	572,50±44,33	850,00±35,46

У другій частині наших досліджень ми вивчали вплив віку щурів на показники спермограми. Результати досліджень представлені в таблиці 2.

Таблиця 2

Показники спермограми щурів різних вікових груп (M±m)

Група тварин	Кількість сперматозоїдів, млн/мл	Патологічні форми, %%	Рухливість, %%	
			активнорухомі	нерухомі
3,5 місяці	45,00±3,63	14,86±1,36	81,43±3,78	18,57±3,78
6 місяців	61,43±3,03	11,86±1,06	87,14±2,27	12,86±2,27
12 місяців	65,57±3,03	14,00±1,67	89,29±2,27	10,72±2,27
18 місяців	64,43±3,78	14,43±2,23	84,29±3,78	15,72±3,78
24 місяці	58,29±5,30	16,14±2,27	81,72±3,78	18,29±3,79
30 місяців	60,29±4,54	31,72±6,05*	65,00±3,78**	35,00±3,78
36 місяців	61,33±3,19	33,30±5,32*	59,17±5,32**	40,83±5,32

Примітка: * — $p < 0,05$, порівняно з 6 місяцями, ** — $p < 0,05$

Як видно з таблиці, кількість сперматозоїдів у групах досліджуваних тварин з віком не зменшувалася. Але при цьому відмічалася достовірне підвищення рівня патологічних форм (майже у 3 рази) у тварин старечого періоду життя (30 місяців) та межового старечого періоду життя (36 місяців). Підвищення кількості патологічних форм може свідчити як про вікове порушення диференціації гамет так і про наявність у них хромосомних аберацій [13].

Одним із головних критеріїв оцінки плодючості є рухливість сперматозоїдів. За результатами наших досліджень рухливість сперматозоїдів знижувалась у групах старечого періоду життя (30 місяців) та межового старечого періоду життя (36 місяців). Зменшення кількості активнорухомих сперматозоїдів знижує вірогідність запліднення яйцеклітини. Велике значення для руху сперматозоїдів має притаманний їм негативний електричний заряд, завдяки чому не відбувається зіткнення і злипання сперматозоїдів у густому еякуляті. Отже, можна припустити, що з віком спостерігається незначний прояв «гаметотоксичності» (зниження рухливості сперматозоїдів) [13].

Слід зауважити, що при перегляді зразків суспензії сперматозоїдів спостерігалася аглютинація сперматозоїдів (склеювання один з одним в окремі конгломерати) (табл. 3).

Таблиця 3

Аглютинація сперматозоїдів у щурів різних вікових груп

Групи тварин	3,5 місяці	6 місяців	12 місяців	18 місяців	24 місяці	30 місяців	36 місяців
Кількість тварин	8	8	8	8	8	7	6
Аглютинація	—	—	—	+	+	+, ++	+, ++

У групах тварин зрілого та пізнього зрілого періоду життя (18 та 24 місяці) спостерігалась аглютинація слабого ступеня (+), тобто склеєні тільки одиничні сперматозоїди. У групах старечого періоду життя (30 місяців) та межового старечого періоду життя (36 місяців) спостерігалась аглютинація як слабого (+), так і середнього (++) ступеня. Виявлена аглютинація сперматозоїдів може бути ознакою наявності антісперматозоїдних антитіл в еякуляті.

У результаті досліджень виявлено, що з віком кількість сперматозоїдів майже не зменшується, але спостерігається вірогідне зниження їх рухливості та підвищення патологічних форм. Отримані результати співпадають з результатами інших досліджень [14], в яких також підтверджено вплив віку на рухливість та морфологію сперматозоїдів, але не на їх концентрацію.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що вік щурів не впливає на концентрацію сперматозоїдів в еякуляті, але негативно впливає на їх рухливість та морфологічні показники. Спостерігається збільшення патологічних форм та підвищення ступеня аглютинації. Таким чином, якщо припустити, що кількість сперматозоїдів в еякуляті відображає рівень ділення сім'яного епітелію, наявність патологічних форм — якість диференціювання та селекції сперматозоїдів (гаметодиференціювання), а рухливість — ступінь їх функціональної готовності та життєзабезпечення (гаметоматурація), то на підставі отриманих даних можна зробити висновки про те, що вік самців може впливати як на кількість запліднень, так і на якість отриманих після запліднення зигот.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідити морфологічний стан ячок самців щурів різних вікових категорій та визначити морфометричні параметри сперматогенезу. Планується також дослідити рівень андрогенної насиченості організму цих щурів. Отримані результати такого комплексного дослідження дозволять оцінити вплив віку, як біологічного чинника, на ефективність біотехнологій відтворення.

AGE PECULIARITIES OF MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF SPERM IN RATS

E. V. Shcherbak, N. M. Brechka

SUMMARY

The paper studied the effect of age of rats on androgen bodies and on the qualitative and quantitative indicators of sperm. In the experiment used 60 Wistar rats were divided into eight age groups: 2,5 months, 3,5 months, 6 months, 12 months, 18 months, 24 months, 30 months and 36 months. It was revealed that the mass of androgen bodies remained almost unchanged, despite their slight variations in physiological limits, if a control group of animals to take the reproductive period of life (6 months). The number of sperm in the groups studied animals with age did not decrease. But while there was a significant increase in the level of pathologic forms (almost 3 times) and reduced mobility in 30 and 36 month-old animals. At 18 and 24 month-old animals was observed agglutination of low degree, and in 30 and 36-month agglutination was observed as low and secondary degree.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕРМАТОЗОИДОВ У КРЫС

О. В. Щербак, Н. М. Бречка

АННОТАЦИЯ

В статтєе изучено влияние возраста самцов крыс на андрогензависимые органы и на качественные и количественные показатели спермограммы. В опыте использовано 60 крыс популяции Вистар, разделенных на 8 возрастных групп: 2,5, 3,5, 6, 12, 18, 24, 30 и 36 мес. Выявлено, что массы андрогензависимых органов почти не изменялись, несмотря на их незначительные колебания в физиологических пределах, если за контроль взять группу животных репродуктивного периода жизни (6 месяцев). Количество сперматозоидов в группах исследуемых животных с возрастом не уменьшалась. Но при этом отмечалось достоверное повышение уровня патологических форм (почти в 3 раза) и снижение подвижности у 30- и 36-месячных животных. У 18- и 24-месячных животных наблюдалась агглютинация слабой степени, а у 30 и 36 месячных наблюдалась агглютинация как слабой так и средней степени.

ЛІТЕРАТУРА

1. Безуглий М. Д. Методи біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин / М. Д. Безуглий. — Харків, 2002. — 155 с.
2. Гайдаев Ю. О. Дослідження демографічних процесів та проблем системи охорони здоров'я України / Ю. О. Гайдаев // Укр.мед. часопис. — 2007. — Т. 61, № 5. — С. 3–8.
3. Вікторов О. П. Побічний вплив ліків на статеву систему / О. П. Вікторов, Л. А. Порохняк, Н. О. Постригач, І. О. Борзенко // Клініч. фармація. — 1999. — Т. 3, № 1. — С. 75–79.
4. Гладкова А. И. Патогенетические особенности экспериментальных патоспермий разного генеза : матеріали. наук. практ. конф., присвяч. 150-річчю з дня народження акад. В. Я. Данилевського «Патогенетичні аспекти фармакотерапії ендокринних захворювань» Харків, 6–7 лют. 2002 р. / А. И. Гладкова, И. В. Сидорова, В. Н. Золотухина. — Харків, 2002. — С. 28–29.
5. Mc Gill H. C. The heart is a target organ for androgen / H. C. Mc Gill, V. C. Anselmo, J. M. Buchanan, P. J. Meridan // Science. — 1980. — Vol. 207, № 4432. — P. 775–777.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / За ред. О. В. Стефанова. — К. : Авіцена, 2001. — Т. 1. — 528 с.
7. Buckett W. M. Fructose concentrations in seminal plasma from men with nonobstructive azoospermia / W. M. Buckett, D. I. Levis Jones // Arch. Androl. — 2002. — Vol. 48, № 1. — P. 23–27.
8. Gonzales G. F. Function of seminal vesicles and their role on male fertility / G. F. Gonzales // Asian J. Androl. — 2001. — Vol. 3, № 4. — P. 251–258.
9. Руководство по андрологии / Под ред. О. Л. Тиктинского. — Л. : Медицина, 1990. — 416 с.
10. Mc Lachlan R. I. The endocrine control of spermatogenesis / R. I. Mc Lachlan // Baillieres Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metabol. — 2000. — Vol. 14, № 3. — P. 345–362.
11. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М. : Практика, 1998. — 459 с.
12. Дедов И. И. Эндокринология : Учебник / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, В. В. Фадеев. — М. : Медицина, 2000. — 632 с.
13. Демченко А. Н. Рациональная санация недостаточности мужского пубертата — основа профилактики репродуктопатий / А. Н. Демченко // Сексология и андрология. — 2000. — Вып. 5. — С. 125–128.
14. Kidd S. A. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature / S. A. Kidd, B. Eakenazi, A. I. Wyrobek // Fertility and Sterility. — 2001. — V. 75. — P. 237–248.

Рецензент: к. б. н., ст. науковий співробітник віділу біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва НААН України К. Г. Лісіна.