Субмікроскопічні дослідження клітин сперматогенного епітелію після озвучування статевих залоз білих щурів

В. М. Андріанов

Лабораторія електронної мікроскопії
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Вивчення як прямого, так і непрямого впливу ультразвукових коливань на статеві залози було розпочато ще у сорокових роках цього століття. Більшість авторів, які вивчали це питання, прийшли до висновку, що ультразвук порушує структуру сім'яника.

Міногуччі [6] після озвучування внутрішніх органів морської свинки виявив атрофію паренхіматозної тканини та гіпертрофію інтерстиції сім'яників. Автор вважав, що в даному випадку у першу чергу гинуть малодиференційовані клітини сперматогенного епітелію, а сперматозоїди та клітини опірного епітелію виявляються найбільш стійкими до ультразвукових коливань, і їх структура не порушується.

Гюнзель [4, 5], вивчаючи вплив ультразвукових коливань на сім'яники білих щурів, виявив, що у першу чергу порушується структура сперматоцитів і сперматид, тому що саме вони гинуть у перші ж дні після озвучування. У дальших своїх дослідженнях він разом з іншими дослідниками [4, 5] підтвердили ці спостереження, чим значно розширили наші уявлення про вплив ультразвуку на структуру сім'яника.

Згадані дослідження показали, що ультразвукові хвилі уражують сім'яник не однаковою мірою. Так, на гістологічних препаратах автори спостерігали поряд з непорушеними звитими канальцями значно змінені канальці сім'яника.

Намагаючись з'ясувати причину змін структур сім'яника, Брюшке [2] поступово подовжував тривалість дії ультразвуку на мошонку кролика або повторював озвучування ділянки сім'яника тією самою інтенсивністю через рівні проміжки часу. Незважаючи на ретельність цих досліджень, автор не виявив причин, які приводять до загибелі певного виду клітин сперматогенного епітелію.

Озвучуючи спину кролика, Берштейн [1] виявив також структурні зміни сім'яників. На основі цих та інших даних автор прийшов до висновку, що ультразвукові коливання викликають патоморфологічні зміни органів, топографічно далеко розташованих від озвучуваної ділянки, проте ці зміни зворотні.

Ми не знайшли праць, присвячених більш повному дослідженню впливу ультразвукових коливань невеликих інтенсивностей на структуру сім'яників. Тому метою наших досліджень було вивчення динаміки розвитку реакцій субмікроскопічних структур статевих залоз щурів після озвучування малими і середніми терапевтичними інтенсивностями, що має велике теоретичне і практичне значення.

Методика досліджень

Досліди провадились на білих щурах — самцях вагою 180—200 *г*. Озвучування здійснювалось переносним ультразвуковим апаратом (УТП-1), який працює на частоті 800—810 *кгц*. Ми озвучували сім'яники щурів інтенсивністю 0,2; 0,6; 0,8; 2 *вт/см*^{2}. Вид ультразвуку безперервний, метод озвучування стабільний, тривалість озвучування 5 *хв*, температура контактного середовища (дистильованої води) така сама, як і температура поверхні мошонки кожної озвучуваної та контрольної тварини.

Дослідження проведені на 123 тваринах, з них 21 — контрольна. Ультраструктуру

клітин сперматогенного епітелію вивчали у тварин, декапітованих через 5 *хв*, 1 *год*, 4 *год*, 8 *год*, 1 добу, 7 діб і 30 діб після озвучування.

Матеріал, взятий для дослідження у ділянці гаданого входу ультразвукових коливань в орган, у глибині органа за ходом ультразвукового пучка та біля місця виходу ультразвукових хвиль з органа готували для досліджень на електронному мікроскопі за методиками Робертсона [7] і Зеландера [8] та вміщували у суміш бутил і метилметакрилатів (1 : 4). Полімеризацію здійснювали у термостаті при температурі 50° С протягом 12 *год*. Електронномікроскопічні дослідження проводились на електронному мікроскопі УЕМ-100 при прискорюючій напрузі струму 60 *квт*.

Результати досліджень та їх обговорення

Озвучування статевої залози у щурів — самців ультразвуком інтенсивністю 0,2; 0,6; 0,8 *вт/см*^{2} приводить майже до однакових уражень ультраструктури клітин сперматогенного епітелію, значно виражених уже через 1 *год* після припинення озвучування.

На цей час цитоплазма сперматогоній набуває великої кількості ділянок з сильно осмієфільними компонентами клітини. Так, поряд з ділянкою гранульованих мембран з середньою електронною щільністю трапляються ділянки цих мембран з підвищеними осмієфільними властивостями. Невелика кількість мітохондрій, розташованих переважно біля базальної мембрани клітини, значно набрякає. Ядерні ультраструктури не змінюються.

Найбільш значні порушення ультраструктур виникають у сперматоцитах. Тут виявляється посилена осмієфілія ендоплазматичної сітки на всьому її протязі, посилена осмієфілія мітохондрій, виникнення у цитоплазмі цих клітин великої кількості дрібних зерен, розмірами 80—120 Å і цистерн різноманітної форми та величини. Ядерна оболонка сперматоцитів, очевидно, ущільнюється, тому що її зовнішній шар стає дещо тоншим і сильніше затримує електрони. Внутрішній вміст ядра має також підвищену осмієфілію.

У цитоплазмі сперматид спостерігається підвищена кількість щільних осмієфільних гранул, розмірами до 200 Å. Ядра таких клітин набувають овальної форми. Через 8 *год* після озвучування сім'яника сперматоцити тих канальців, які відсепарувались у тих ділянках органа, через які проходив пучок ультразвуку, значно змінені.

У цитоплазмі цих клітин виявляється значна кількість цистерн і вакуолей значної електронної щільності, ниток і гранул різної величини. Окремі цистерни відокремлені від оточуючих їх набряклих мітохондрій пухкими мембранами, на яких розташовані дрібні електроннощільні гранули. Часто вакуолі зближуються і групуються на периферії клітини біля базальної мембрани. На цей строк спостережень дуже часто відзначається шаруватість ядерної оболонки. При цьому зовнішній шар її товщиною 120 Å більш пухкий, ніж внутрішній, товщиною 60—80 Å. Згадана обставина свідчить про збільшення перинуклеарного простору, що у свою чергу свідчить про наростання набряку (рис. 1).

До цього строку спостережень змінюється і субмікроскопічна будова сперматид. У цитоплазмі цих клітин з'являється велика кількість електроннощільних гранул, безладно розкиданих по всій клітині.

У дальшому (через 24 *год* після озвучування) цитоплазма клітин (сперматоцитів, зрідка й сперматид) стає майже однорідною і складається з невеликої кількості зерен, які за своєю формою і будовою нагадують зерна РНП, пухирців і цистерн. Ядра цих клітин також змінюються. Потовщується зовнішній шар оболонки ядра, і збільшується перинуклеарний простір. Вміст ядра представлений крупногранульованим компонентом.

На сьому добу після озвучування цитоплазма сперматогоній представлена невеликою кількістю цистерн, які трапляються у цей же час в цитоплазмі контрольних тварин. Ядерна оболонка тонка, середньої електронної щільності. Вміст ядра у вигляді дрібних, середньої електронної щільності зерен, рівномірно розсіяних по усьому об'єму ядра.

Ультраструктура сперматоцитів у ці строки спостережень залишається зміненою, проте меншою мірою, ніж у попередній строк.

Рис. 1. Нерівномірна електронна щільність і набряк ядерної оболонки сперматоцита щура через 5 *хв* після ультразвукового впливу інтенсивністю 1 *вт/см²*.
Електронограма.

На сьому добу можна визначити різницю у застосованих інтенсивностях, але не можна точно визначити, яка саме інтенсивність була застосована. Так, у даному випадку, після впливу інтенсивностей 0,2 і 0,6 *вт/см²* відзначається лише потоншення гранульованих мембран, зменшення зернистості цитоплазми, відносна нормалізація ендоплазматичної сітки, ядра. Як зовнішні, так і внутрішні мембрани мітохондрій у більшості випадків потоншені.

При озвучуванні сім'яника інтенсивністю 0,8 *вт/см²* ультраструктури сперматоцитів на сьому добу після озвучування мають більш грубий вигляд. Тут відзначається підвищена осміефілія та значне набрякання мітохондрій. Ендоплазматична сітка ще пухка, середньої електронної щільності. У цитоплазмі таких клітин іноді трапляються групи пухирців, які концентруються на периферії клітини, чого ми не спостерігали у клітинах контрольних органів.

Наприкінці 30 доби після озвучування в усіх клітинах сперматогенного епітелію спостерігається відновлення їх ультраструктур.

Більш значні ураження у клітинах сперматогенного епітелію відбуваються після озвучування інтенсивністю 2 *вт/см²*. У цій серії експериментів вдалося виявити ураження ендоплазматичної сітки, мітохондрій та оболонок ядра вже через 5 *хв* після припинення озвучування. При цьому слід відзначити, що в жодній серії експериментів не було відзначено ураження ультраструктур сперматогоній. У цих клітинах спостері-

гались лише незначн
вання ендоплазматич
що потоншена та ущ
У сперматоцита
вибитих фрагментів.
бою. Ці ділянки енд
крупногранулярного

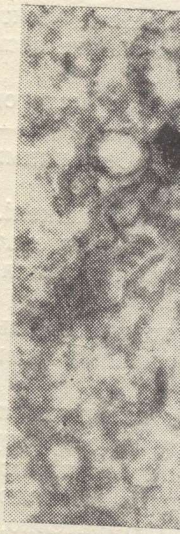

Рис. 2. Цитоплаз
тикулуму. Фрагм
після ультра

фрагментів не було зер
матичного ретикулуму,
вони мають вигляд коро
Мітохондрії також фра
перетинки. В ядрах цих
нент. Цитоплазма спер
ультразвуку, має дещо г
Через 1 *год* після о
ється невелика кількість
ними оболонками. Такі
падків концентруються
шається без змін, якщо о
У цитоплазмі сперм
кількість пухирців і цис
злиття дрібних вакуол
У сперматоцитах, розташ
му кінці від випромінюв
ться надрив ядерної обо
Такі ядра, та ядра, які
режені ядра цих клітин
Вміст цитоплазми сп
нуються і утворюють у к
форми.

гались лише незначні зміни цитоплазми. Так, через 5 *хв* після озвучування ендоплазматична сітка була повністю збережена. Проте вона дещо потоншена та ущільнена. Структура ядра повністю збережена.

У сперматоцитах ендоплазматична сітка представлена у вигляді вибитих фрагментів. Такі фрагменти її зміщені і перемішані між собою. Ці ділянки ендоплазматичної сітки важко було б відрізнити від крупногранулярного компонента клітини, якщо б на поверхні відірваних

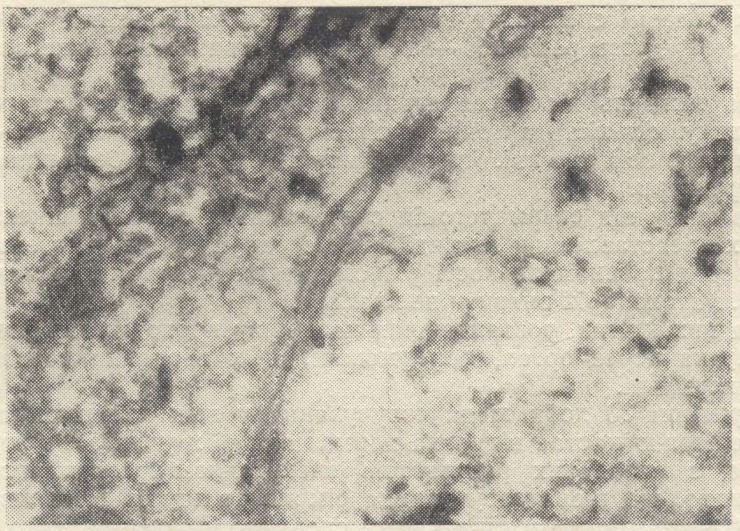

Рис. 2. Цитоплазма сперматоцита. Розрив ендоплазматичного ретикулуму. Фрагментація мітохондрій сперматоцита через 5 *хв* після ультразвукового впливу інтенсивністю 0,2 *вт/см*². Електронограма.

фрагментів не було зерен РНП. Крім того, окремі шматочки ендоплазматичного ретикулуму, відриваючись, видимо, скорочуються, тому що вони мають вигляд коротких закручених ниток, а іноді й кілець (рис. 2). Мітохондрії також фрагментуються, особливо їх внутрішні мембрани-перетинки. В ядрах цих клітин з'являється крупногранулярний компонент. Цитоплазма сперматид, як і при більш низьких інтенсивностях ультразвуку, має дещо підвищену осміефілію.

Через 1 *год* після озвучування у цитоплазмі сперматогоній з'являється невелика кількість пухирців, утворених тонкими електроннощільними оболонками. Такі пухирці, групуючись по два-три, у більшості випадків концентруються на периферичних ділянках клітини. Ядро залишається без змін, якщо судити з контролю.

У цитоплазмі сперматоцитів до цього часу з'являється велика кількість пухирців і цистерн, які утворюються, очевидно, в результаті злиття дрібних вакуолей. Гранули рибонуклеопротеїду розпушені. У сперматоцитах, розташованих у момент озвучування на протилежному кінці від випромінювача ультразвукових хвиль, часто спостерігається надрив ядерної оболонки та вихід ядерця у цитоплазму клітини. Такі ядра, та ядра, які зберегли свою цілісність, деформуються. Збережені ядра цих клітин містять грубий крупногранулярний компонент.

Вміст цитоплазми сперматид ущільнюється. Крупні гранули об'єднуються і утворюють у клітині електроннощільні острівці різноманітної форми.

Через добу після озвучування цитоплазма сперматогоній та їх ядра за своєю структурою не відрізняються від подібних утворень у попередні строки дослідження.

У цитоплазмі сперматоцитів з'явилась велика кількість пухирців і цистерн, які займають майже весь об'єм клітини та зміщують ядро на периферію цитоплазми. Гранул РНП виявити не вдалося. Зовнішня оболонка була значно набряклою, на ній з'явились дрібні електронно-щільні гранули.

У цитоплазмі сперматид виявляється велика кількість електронно-щільних зерен, розмірами 250—300 Å, які заповнюють майже весь об'єм клітини.

Через тиждень після озвучування цитоплазма сперматогоній містить велику кількість дрібних пухких гранул, розмірами 80—120 Å, розкиданих по всій клітині. Ядро клітини залишається без видимих змін ультраструктури.

На відміну від сперматогоній сперматоцити значно змінені. Цитоплазма їх представлена у вигляді крупногранулярного гомогената, розсіяного серед великої кількості різноманітних за формою і величиною пухирців. Мітохондрій виявити не вдалося.

Ядра цих клітин, розташованих на шляху проходження ультразвукового пучка через орган, деформовані, а їх оболонки потовщені та електроннощільні.

Наприкінці 30 доби після озвучування у всіх клітинах сперматогенного епітелію настає відносна нормалізація їх ультраструктур.

Отже, з наведених результатів електронномікроскопічних досліджень видно, що після озвучування сім'яників щурів інтенсивностями 0,2; 0,6; 0,8 і 2 *вт/см*^{2} частина клітин сперматогенного епітелію, а саме, сперматоцитів і сперматид (у меншій кількості) гине.

Загибель згаданих клітин сперматогенного епітелію настає, очевидно, внаслідок зруйнування більшої частини ультраструктур цих клітин. При цьому встановлено, що при зруйнуванні лише ендоплазматичної сітки або при зруйнуванні частини ендоплазматичної сітки та порушенні структури мітохондрій загибель клітин не настає.

Клітини сперматогенного епітелію гинуть тоді, коли повністю руйнується ендоплазматичний ретикулум, коли порушена цілісність ендоплазматичного ретикулуму та сильно зруйновані мітохондрії і, нарешті, клітина сперматогенного епітелію гине в тому випадку, коли порушена цілісність ендоплазматичної сітки, мітохондрій та ядерної оболонки.

Можливо, що сперматоцити найбільш уражувані і гинуть у першу чергу тому, що саме в них найбільше розвинута ендоплазматична сітка, міститься найбільша кількість мітохондрій порівняно з іншими клітинами сперматогенного епітелію, а ядра цих клітин мають найбільшу кількість крупногранулярного компонента.

Література

1. Берштейн С. А.— Доповіді АН УРСР, 1963, 7.
2. Brüsche G.— Z. zür die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete (Leipzig), 1955, 10(19), 885—889.
3. Günsel E.— Der Ultraschall in der Medizin. Kongressbericht der Erlangen Ultraschall-Tagung, 1949, 198—201.
4. Günsel E.— Strahlentherapie, 1949, 80, 2, 299—304.
5. Günsel E. u. Fuchs H.— Strahlentherapie, 1949, 79, 2, 261—270.
6. Minoguchi G.— Ber. Ges. physiol. u. exper. pharm., 1943, 132.
7. Robertson J.— Biochem. Soc. Symposia, 1959, 16, 3.
8. Zelander T.— Ultrestructure Res., 1959, 2.