

УДК 636.934.3:611.43:621.039

ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРУКТУРНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ СЕМЕННИКОВ У КРОЛИКОВ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Федотов Д.Н., Николаев С.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*В статье описана гистологическая структура семенников у кроликов в возрастном аспекте, а также определен оптимальный срок введения самцов кроликов в племенную работу. **Ключевые слова:** кролик, семенник, гистология.*

REGULARITIES OF RESTRUCTURING OF TESTICLE A RABBITS IN THE POSTNATAL ONTOGENESIS

Fiadotau D.N., Nikolaev S.V.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*In article the histological structure of testicle at rabbits in age aspect for the first time described and also the optimum term of introduction of males of rabbits to breeding work is determined. **Keywords:** rabbit, testicle, histology.*

Введение. Половые органы кроликов начинают развиваться еще в утробе самки на 16-й день сукрольности, но после рождения семенники развиваются медленнее, чем другие части тела, однако с пятинедельного возраста они начинают расти и развиваться очень стремительно. Добавочные железы развиваются также активно аналогичным путем, но чуть позднее. Сперматогенез начинается в 40-50 дней, извилистые и прямые тестикулярные трубочки становятся активными в 84 дня, а первый спермий в эякуляте присутствует приблизительно в 100-110 дней [1].

Половая зрелость - это тот момент, когда ежедневное производство спермы прекращает увеличиваться, у кроликов средних пород (Новозеландский, Калифорнийский, Серебристый) она наступает в 32-недельном возрасте, однако самец может использоваться для воспроизводства уже в пять месяцев, хотя первые попытки сексуального поведения у молодняка появляются в 60-70 дней, когда кролики осуществляют свои первые попытки запрыгивания на собратьев. Случка впервые может произойти приблизительно в 100-110 дней, но жизнеспособность такой спермы в первом эякуляте очень слабая или вообще нулевая, так что первое спаривание лучше проводить в 145-150 дней. Самую важную роль в наступлении половой зрелости играет кормление и микроклимат [1, 2].

Объем эякулята у кроликов составляет 0,3-0,6 мл, концентрация 150-200 млн сперматозоидов/мл, но как объем, так и концентрация могут изменяться в зависимости от времени года, суток и кормления. Однако ложные соития в течении 1-2 минут до коитуса увеличивают концентрацию эякулята. В двух последовательных коитусах первый является подготовкой ко второму, который является менее объемным, но более концентрированным, в течение последующих спариваний объем эякулята все время уменьшается, в то время как концентрация увеличивается лишь между первой и второй садкой, а затем резко уменьшается [2].

Максимальное количество сперматозоидов получают, используя самца регулярно - один раз в день. Если самец работает регулярно два раза в день, то каждый эякулят содержит только половину концентрации сперматозоидов. Суточное производство кроликом сперматозоидов колеблется в пределах 150-300 млн, независимо от размера эякулята. Придатки семенников могут сохранять 1-2 млрд сперматозоидов, но только часть из них мобилизуется для повторных спариваний.

Объективная оценка морфологического состояния семенников имеет не только фундаментальное, но и прикладное значение в качестве критерия прямого и побочного действия лекарственных препаратов, токсических веществ, разнообразных химических и физических факторов окружающей среды. Все это служит основанием для изучения значимости существующих морфометрических методов исследования генеративной и эндокринной функций семенников.

Цель исследований – изучение гистологической структуры семенников кроликов в возрастном аспекте.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях ЛПХ Витебского района, прозектория и лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Было создано три возрастные группы кроликов по 5 голов в каждой в возрасте 3, 5 и 8 месяцев. Объектом исследования служили семенники. Убой кроликов проводился французским способом. После убоя семенники взвешивали, измеряли и фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и в жидкости Бродского. Затем морфологический материал подверга-

ли уплотнению путем заливки в парафин по общепринятым методикам. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3–5–7 мкм на санном микротоме. Для изучения общей гистологической картины срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Волокнистую соединительную ткань выявляли по Ван-Гизону [3].

На гистологических препаратах семенников оценивали следующие морфометрические параметры: диаметр извитых семенных канальцев (ИСК), толщину герминативного слоя, количество в поле зрения ИСК со слушиванием (десквамацией), высоту сперматогенного эпителия, количество удлинённых сперматид, клеток Лейдига, ядер клеток Сертоли (суспендоцитов), площадь ядра суспендоцитов, диаметр гемокапилляров, индекс сперматогенеза. При определении индекса сперматогенеза весь пласт герминативных клеток делили на 4 слоя: 1 – сперматогонии, 2 – сперматоциты (первичные, вторичные), 3 – сперматиды, 4 – сперматозоиды. Подсчет производили в 10 срезах канальцев, определяя в каждом из них сохранность слоев зародышевых клеток по 4-балльной системе. Индекс вычисляли по формуле:

$$I = \frac{\sum a}{N},$$

где a – количество слоев клеток, обнаруженных в каждом канальце, N – количество подсчитанных канальцев.

Метод был предложен Fogg a. Cowing (1951) [4].

Терминология описываемых гистологических структур семенников приводилась в соответствии с Международной гистологической номенклатурой [5].

Абсолютные измерения структурных компонентов семенников кроликов осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели ВХ-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra₂₀» и спектрометра HR 800 с использованием программы «CellA».

Все цифровые данные, полученные при проведении экспериментальных исследований, были обработаны статистически с помощью компьютерной программы «Microsoft Office Excel», критерий Стьюдента на достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по трем порогам вероятности.

Результаты исследований. При микроскопическом исследовании установлено, что снаружи семенник кроликов покрыт плотной соединительнотканной белочной оболочкой, от которой внутрь отходят радиальные перегородки. В наружном слое оболочки преобладают волокнистые структуры: коллагеновые и эластические волокна. Во внутреннем слое наряду с волокнистыми структурами хорошо просматриваются кровеносные сосуды и клеточные элементы рыхлой соединительной ткани.

Извитые канальцы семенника у кроликов всех исследуемых возрастных групп имеют типичное для млекопитающих строение. Их собственная оболочка состоит из базальной мембраны, основного вещества, коллагеновых волокон и клеточных элементов, имеющих морфологические признаки фибробластов и миофибробластов. На базальной мембране располагаются клетки Сертоли (суспендоциты) и клетки начальной стадии сперматогенеза. Клетки Сертоли имеют вытянутую форму, их длинная ось расположена перпендикулярно собственной пластинке. На гистологических препаратах семенников половозрелых самцов видна только базальная, ядродержащая часть этих клеток, т.к. их многочисленные отростки маскируются половыми клетками. Цитоплазма суспендоцитов оксифильна, ядра характеризуются неправильной формой, отчетливой складчатостью с глубокими вдавлениями, гомогенной кариоплазмой с небольшой, равномерно распределенной зернистостью и крупным ядрышком.

Кроме клеток Сертоли, на базальной мембране собственной пластинки семенных канальцев находятся также сперматогонии. Некоторые из сперматогоний, по-видимому, являются стволовыми клетками. Они лежат изолированно от других сперматогоний, хроматин диффузно распределен по ядру, ядрышко занимает центральное положение, вокруг него небольшое светлое пространство. По мере конденсации хроматина, в сперматогониях появляются его многочисленные глыбки, сначала мелкие и довольно равномерно распределенные в кариоплазме. В сперматогониях - крупные ядра с грубыми глыбками хроматина. При сравнительном количественном анализе суспендоцитов в семенниках от кроликов в возрасте 3, 5 месяцев установлено увеличение их количества и увеличение площади их ядер. В 3 месяца количество суспендоцитов в ИСК составляет $18,6 \pm 1,74$ шт., к 5-месячному возрасту их количество увеличилось на 21,85% ($p < 0,05$), площадь ядер суспендоцитов в 3-месячном возрасте составляет $45,31 \pm 0,49$ мкм², а по достижении 5-месячного возраста она увеличилась на 11,52%, однако к 8 месяцам количество и площадь ядер суспендоцитов снизилось на 8,4% и 1,97% соответственно по отношению к 5 месяцам.

Сперматоциты I порядка стадии профазы I мейоза также располагаются в периферическом слое на базальной мембране собственной пластинки семенного канальца. Данные клетки с меньшими по размерам ядрами, чем у сперматогоний, но по внешнему виду сходные с ними. Они менее интенсивно окрашиваются, чем сперматогонии. Первичные сперматоциты в стадии лептотены не соприкасаются с базальной мембраной, имеют ядро правильной округлой формы

с 1-2 ядрышками и плотным клубком тонких хромосом. Большая часть сперматоцитов I порядка имеет наиболее крупное ядро, содержащее толстые хромосомы, которые образуют фигуры в виде «кисточки» и иногда «парашутиков». Сперматоциты II порядка характеризуются уменьшением объема ядра, округлой формой, равномерно распределенной по ядру зернистостью, наличием нескольких рыхлых глыбок хроматина. Ядрышко у этих форм клеток не выявляется.

Таблица 1 – Морфометрические показатели гистологических структур семенника

Показатели	Возраст, мес.		
	3	3	3
Диаметр гемокапилляра, мкм	10,22±0,48	15,04±0,87*	13,43±0,61
Площадь ядра клеток Сертоли (суспендоцитов), мкм ²	45,31±0,49	51,21±0,97	50,2±0,51
Количество клеток Сертоли (суспендоцитов), шт.	18,6±1,74	23,8±2,31*	21,8±2,14
Относительное содержание клеток Лейдига, %	6,0±1,67	10,8±1,33**	11,4±1,02
Диаметр извитых канальцев, мкм	110,96±8,22	261,85±8,88***	265,56±4,89
Высота сперматогенного эпителия, мкм	27,20±1,18	66,03±1,19***	45,37±1,29*
Извитые семенные канальца со сдвиганием (десквамацией), %	0,6±0,49	2,8±0,75***	7,0±0,89**
ПАХ сперматоциты, шт.	65,4±1,85	101,8±1,72*	81,6±2,15*
Удлиненные сперматиды, шт.	24,4±7,76	110,4±14,59***	141,6±12,31
Индекс сперматогенеза, усл. ед.	1,0±0,19	1,88±0,15**	1,92±0,07

Примечания: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. * - по отношению к контрольной группе.

У половозрелых самцов кроликов эти клетки встречаются в 3–5% канальцев. Данные показывают, что наиболее бурный прирост сперматоцитов наблюдается в пятимесячном возрасте, следовательно, этот период является решающим в половозрелости самцов кроликов. Индекс сперматогенеза в 3 месяца составляет $1 \pm 0,19$, к 5 месяцам - $1,88 \pm 0,15$ ($p < 0,01$), к 8 месяцам - $1,92 \pm 0,07$ усл.ед.

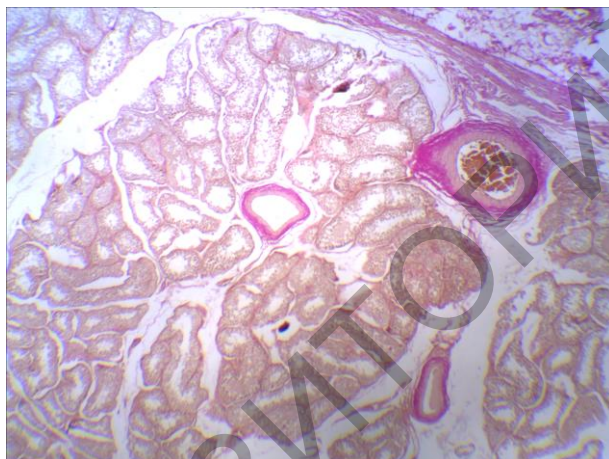


Рисунок 1 – Выраженные междольковые соединительнотканые прослойки и крупные сосуды в семеннике 3-месячного кролика (окраска по Ван-Гизону, x100)

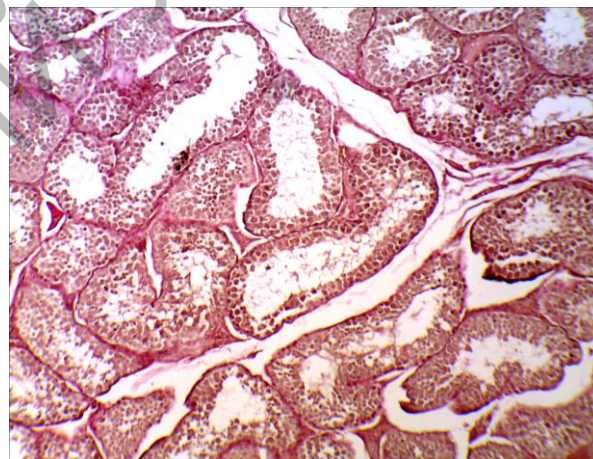


Рисунок 2 – Появление сперматозоидов в некоторых ИСК в семеннике 3-месячного кролика (окраска по Ван-Гизону, x200)

При гистологическом исследовании выявлено, что до 5-месячного возраста идет увеличение числа пахитенных сперматоцитов, их число составляет $101,8 \pm 1,72$ шт., что на 35,76% выше ($p < 0,05$), чем их число в семенниках 3-месячных кроликов. При достижении 8 месяцев их количество снижается и составляет $81,6 \pm 2,15$ шт., что на 19,84% ниже ($p < 0,05$), чем их количество в 5-месячном возрасте.

Поверхностные слои сперматогенного эпителия представлены сперматидами, находящимися на разных стадиях созревания. В конце сперматогенеза, сперматозоиды, завершившие свое развитие, располагаются в центре семенного канальца. Наиболее активное увеличение числа удлиненных сперматид происходит до 5-месячного возраста, затем их увеличение происходит незначительно. Так, количество удлиненных сперматидов в семенниках кроликов в возрасте 3 месяцев составляет $24,4 \pm 7,76$ шт., к 5-месячному возрасту их количество увеличивается на 77,9% ($p < 0,001$), а к 8-месячному возрасту - на 82,77%. Разница между пятью и восемью месяцами составляет 22,03%.

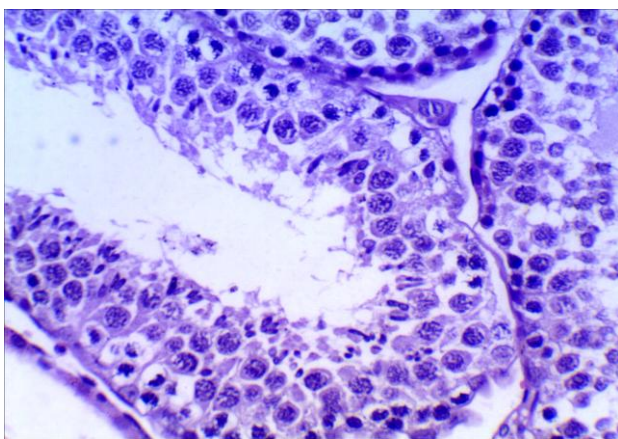


Рисунок 3 – Сформированный сперматогенный эпителий в ИСК семенника 5-месячного кролика (окраска гематоксилин-эозином, х400)

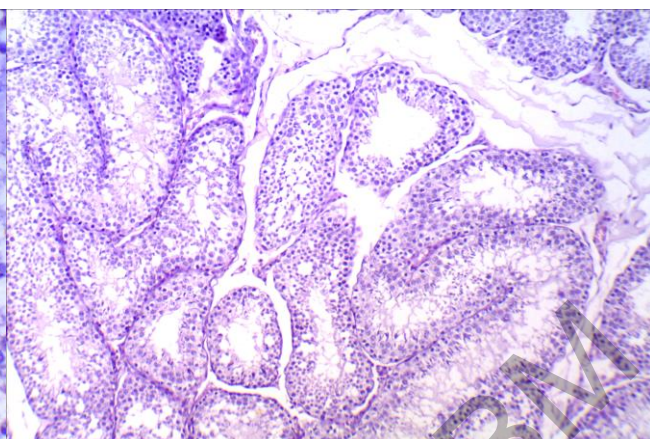


Рисунок 4 – Дефинитивные ИСК в семеннике 5-месячного кролика (окраска гематоксилин-эозином, х200)

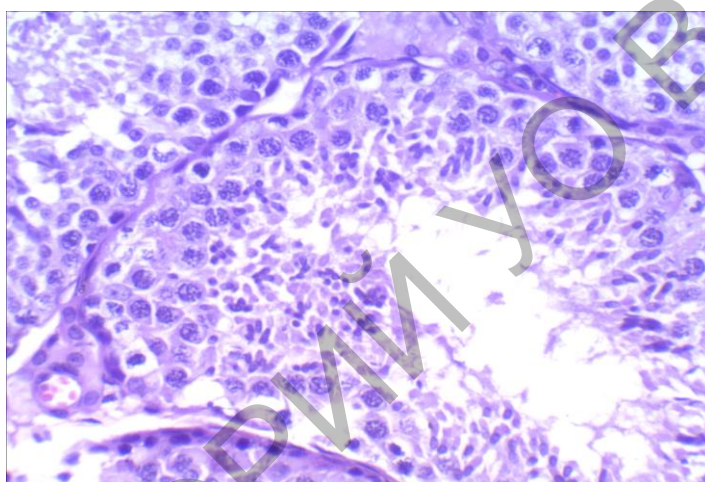


Рисунок 5 – Сперматогенез в ИСК семенника 8-месячного кролика (окраска гематоксилин-эозином, х400)

Цитологическая картина поперечного сечения семенных канальцев у 3-месячных кроликов заметно отличается от таковой у 5-месячных кроликов. Во многих канальцах клетки сперматогенного эпителия не образуют правильных концентрических слоев, а формируют 2–3 сектора, для которых характерны свои клеточные ассоциации, отличающиеся от соседних. Это обстоятельство значительно затрудняет идентификацию стадий цикла сперматогенного эпителия. Наиболее распространены сочетания первичных сперматоцитов со сперматидами.

Высота сперматогенного эпителия семенников в возрасте 3 месяцев составляет $27,20 \pm 1,18$ мкм, к 5 месяцам он увеличивается на 58,81% ($p < 0,001$), но к 8-месячному возрасту незначительно уменьшается и составляет $45,37 \pm 1,29$ ($p < 0,05$).

В возрасте 3 месяцев ИСК в семенниках располагаются плотно друг к другу, их средний диаметр составляет $110,96 \pm 8,22$ мкм. К 5, 8 месяцам пространство между ИСК незначительно увеличивается. Что касается диаметра, то по достижении возраста в 5 месяцев он увеличивается более чем в два раза ($p < 0,001$) и составляет $261,85 \pm 8,88$ мкм, а вот соотношение диаметра ИСК семенников 5 и 8-месячных кроликов меняется незначительно и составляет $265,56 \pm 4,89$ мкм, что выше всего на 1,4%. Данные показывают, что активный рост ИСК проходит до возраста 5 месяцев, а далее их развитие проходит незначительно. Также диаметр ИСК находится в тесной взаимосвязи с количеством клеток в составе эпителиосперматогенного пласта. Подсчет процента десквамации половых клеток в просвет ИСК в возрастном отрезке 3, 5 и 8 месяцев показал следующие результаты: $0,6 \pm 0,49\%$, $2,8 \pm 0,75\%$ ($p < 0,001$), $7 \pm 0,89\%$ ($p < 0,001$) соответственно. Данные показывают, что процент десквамации в ИСК в пределах нормы.

Интерстиций семенника кроликов содержит рыхлую соединительную ткань, кровеносные и лимфатические сосуды, а также весьма разнообразные клеточные элементы. Лимфатические сосуды мелкие и малозаметные. Кровеносные сосуды в перитубулярном пространстве также мелкие и немногочисленные. К 5 месяцам их диаметр увеличился по отношению к 3 месяцам на 32,05% ($p < 0,05$) и составляет $15,04 \pm 0,87$, однако к 8 месяцам снизился на 11,7%. Большая часть богатой клетками интерстициальной ткани семенника заполняет межканальцевые проме-

жутки на стыках трех и более семенных канальцев. По характеру расположения преобладают перитубулярные и интертубулярные клетки Лейдига, которые нередко образуют скопления неопределенной формы из нескольких клеток, но могут встречаться и одиночно. Клетки Лейдига располагаются поодиночке или в виде скоплений различной численности вблизи кровеносных капилляров. Они весьма крупные, их размер достигает 20 мкм и более. Ядра клеток Лейдига округло-овальной формы, светлые, с 1-2 и более ядрышками, цитоплазма ацидофильная, иногда зернистая. Так, в семенниках кроликов в возрасте 3 месяца количество клеток Лейдига составляет 6%, а уже к 5 и 8 месяцам увеличивается на 44,44% ($p < 0,05$) и 47,37 соответственно.

Заключение. Наши данные указывают, что структурная характеристика семенников у кроликов зависит от возрастного состояния организма. При достижении самцами кроликов 5-месячного возраста, их семенники имеют дефинитивное строение и морфологическую зрелость цитологических компонентов. Таким образом, целесообразно будет введение кроликов в 5-месячном возрасте в племенную работу кролиководческих хозяйств.

Литература. 1. Эффективное кролиководство : учебное пособие / В. И. Комлацкий [и др.]. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2014. – 238 с. 2. Кролиководство : учебник / Н. А. Балакирев [и др.]; под ред. Н. А. Балакирева. – Москва : Колос, 2007. – 232 с. 3. Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов : учебно-методическое пособие / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 28 с. 4. Ухов, Ю. И. Морфометрические методы в оценке функционального состояния семенников / Ю. И. Ухов, А. Ф. Астраханцев // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1983. – Т. 84, № 3. – С. 66–72. 5. Junqueira, L. C. Basic histology : text & atlas / L. C. Junqueira, J. Carneiro. – 11-th ed. – New York : McGraw-Hill, 2005. – 502 p.

Статья передана в печать 23.04.2019 г.

УДК 619:616.995.1:636.3

ПАЗАРИТО-ХОЗЯИНЫЕ ОТНОШЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ ЯГНЯТ

Ятусевич А.И., Старовойтова М.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Описаны особенности паразито-хозяйных отношений при экспериментальном заражении ягнят *Cryptosporidium parvum* на основе изучения симптоматики, морфологических и биохимических показателей крови. **Ключевые слова:** овцы, криптоспоридии, патогенез, симптоматика, кровь, белки, естественная резистентность, ферменты*

PARASITE-HOST RELATIONS IN EXPERIMENTAL INFESTATION OF LAMBS WITH CRYPTOSPORIDIOSIS

Yatusevich A.I., Starovoitava M.V

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The features of parasite-host relations in experimental infestation of lambs by *Cryptosporidium parvum* based on study of the symptoms, morphological and biochemical blood indicators have been described. **Key-words:** sheep, *Cryptosporidium*, pathogenesis, symptoms, blood, proteins, natural resistance, enzymes.*

Введение. В Республике Беларусь в последние годы предпринято ряд мер на государственном уровне по развитию так называемых малых отраслей животноводства, среди которых особое место должно занять овцеводство [1]. Дальнейшее развитие отрасли основано на организации различных типов овцеводческих хозяйств, включая разведение мясных пород. С интенсификацией овцеводства возникают проблемы здоровья животных, особенно в связи с завозом в республику импортных пород, не адаптированных к местным природно-климатическим условиям. Стали формироваться и новые паразитарные системы [10]. Во многих регионах мира все чаще стали диагностировать у овец в составе паразитарных систем криптоспоридий [3]. Несмотря на то, что этих простейших выявили более ста лет назад (Clarke J., 1895, Tyzzer E., 1907), лишь в 70-80-е годы прошлого века стали уделять большое внимание этому паразиту в связи с проблемой иммунодефицита у ВИЧ-больных людей. В последующем описаны массовые заболевания криптоспоридиозом преимущественно при употреблении сырой воды. Так, Smith N. et al (1990) сообщает о 125 случаях вспышек криптоспоридиоза после использования воды в период массовых дождей, а Mac Kerzie W. R. et al (1994) пишет о заболевании 403 тыс. человек в одном из штатов США после употребления водопроводной воды [21].

К настоящему времени криптоспоридии описаны у 170 видов домашних и диких животных [3, 4, 10].