



Эффективность сперматогенеза у котов в зависимости от возраста

П. М. Торгун¹, Д. Б. Никитюк², С. В. Ключкова³, Н. Т. Алексеева⁴,
А. Г. Кварацхелия⁴, Д. А. Соколов⁴, И. А. Ульянов¹, А. Д. Тепцова¹,
А. С. Ткаченко¹, М. В. Горайнова¹

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I», Воронеж, Россия

²ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет

им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия

Целью настоящего исследования является изучение эффективности сперматогенеза у старых и молодых котов.

Материал и методы. Материал собран в летний период от 16 котов различного возраста в ветклиниках г. Воронежа при проведении стерилизации животных. Семенники фиксировали в жидкостях Штыве, Буэна. Материал заливали в парафин и готовили серии парафиновых срезов, толщиной 4–5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, железным гематоксилином, азаном по Гейденгайну, по методу трихром-ШИК и тетрахром-ШИК. С помощью винтового окуляр-микрометра измеряли диаметр семенных канальцев и канала придатка семенника (по 50 измерений для каждого животного). Для определения эффективности сперматогенеза при увеличении $\times 900$ подсчитывали количество сперматозоидов первого порядка в стадии зиготены и пахитены, ранних сперматид (по 50 канальцев для каждого животного). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова – Смирнова и поправки Лиллиефорса. Результаты измерений обрабатывали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считались изменения при $P < 0.05$.

Результаты. Максимальный диаметр семенных канальцев и канала придатка семенника выявлен у животных в возрасте двух лет. Эти показатели у котов в возрасте 8 лет уменьшаются на 29.2% и 17.0% соответственно. Сравнивая численность гибнущих клеток у старых и молодых животных, можно отметить, что у котов в возрасте 8 лет увеличивается численность гибнущих сперматид, при этом эффективность сперматогенеза статистически значимо уменьшается на 19.1%.

Ключевые слова: сперматогенные клетки, коты, возраст, эффективность сперматогенеза.

Age Dependency of Spermatogenesis Efficiency in Cats

© P.M. Torgun¹, D.B. Nikityuk², S.V. Klochkova³, N.T. Alexeeva⁴, A.G. Kvaratskheliya⁴, D.A. Sokolov⁴,
I.A. Ul'yanov¹, A.D. Teptsova¹, A.S. Tkachenko¹, M.V. Goryainova¹, 2020

¹Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University, Voronezh, Russia

²The Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁴N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

The purpose of this study is to study the efficiency of spermatogenesis in old and young cats in various seasons of the year

Material and methods. The material has been collected from 16 cats of different ages in winter and summer periods in Voronezh veterinary clinics while animals being sterilized. The testicles were fixed in Shtiva's liquid and Buen's liquid. The material was poured into paraffin and a series of paraffin sections 4–5 μm thick were prepared. Sections were stained with hematoxylin and eosin, iron hematoxylin, Heidengain azane, trichrome-PAS reaction and tetrachrome-PAS reaction. By means of a helical eyepiece-micrometer, the diameter of the testicles tubules and the epididymis (50 measurements for each animal) were measured. To determine the effectiveness of spermatogenesis at an increase in 900 times, the number of first-order spermatocytes in the zygote and pachytene stage, early spermatid (50 canals for each animal) was estimated. The normality of the distribution was determined using the Kolmogorov–Smirnov test and the Lilliefors adjustment. The measurement results were processed using the nonparametric Mann–Whitney U-criteria. Changes at $P < 0.05$ were considered statistically significant.

Results. The maximum diameter of the testicular tubules and the canal of the epididymis was found in animals at two years of age. These parameters in cats at the age of 8 years are reduced by 29.2%, and by 17.0%, respectively. Comparing the number of dying cells in old and young animals, it can be noted that in cats at the age

of 8 years the number of dying spermatids increases, while spermatogenesis efficiency decrease is statistically significant (by 19.1%).

Key words: spermatogenic cells, cats, age, spermatogenesis efficiency.

*Автор для переписки:

Торгун Петр Макарович
Воронежский государственный аграрный университет им.
императора Петра I, ул. Мичурина, 1, г. Воронеж, 394087,
Российская Федерация

E-mail: pet.torgun@yandex.ru

*Corresponding author:

Petr Torgun
Emperor Peter I Voronezh State Agrarian University, ul.
Michurina, 1, Voronezh, 394087, Russian Federation
E-mail: pet.torgun@yandex.ru

Введение

Исследования в области репродуктивной системы кошек отличаются своей малочисленностью в отличие от других лабораторных животных [4, 9]. Знание морфофункциональных особенностей органов половой системы домашней кошки, несомненно, важно, так как этот вид полезен для биомедицинских исследований [8] и может служить ценной моделью для изучения репродуктивной функции [2].

Большинство количественных исследований сперматогенеза связаны с идентификации стадий цикла сперматогенного эпителия, подсчетом клеток Сертоли и Лейдига, суточной продукции сперматозоидов [4]. Некоторые сообщения посвящены структуре яичка домашней кошки и его морфометрическим характеристикам [3, 8]. Кариометрические исследования половых желез и оценка эффективности сперматогенеза у самцов домашней кошки в отечественной и зарубежной литературе практически отсутствуют.

Целью настоящего исследования является изучение эффективности сперматогенеза у котов различного возраста.

Материал и методы исследования

Материал собран от 16 самцов домашней кошки в возрасте 2, 4 и 8 лет в летний период в ветклиниках г. Воронежа при проведении стерилизации животных. Распределение животных по возрасту представлено в табл. 1. Семенники фиксировали в жидкостях Штыве, Буэна. Материал заливали в парафин и готовили серии парафиновых срезов толщиной 4–5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, железным гематоксилином, азаном по Гейденгайну, по методу трихром-ШИК и тетрафром-ШИК.

С помощью винтового окуляра-микрометра измеряли диаметр семенных канальцев и канала придатка семенника (по 50 измерений для каждого животного). Для определения эффективности сперматогенеза при увеличении $\times 900$ подсчитывали количество сперматозоидов первого порядка в стадии зиготемы и пахитемы, ранних сперматид (по

50 канальцев для каждого животного). Корректировку сосчитанного числа клеток проводили по методике Аберкромби в модификации Ортавана [2].

Результаты измерений диаметра семенных канальцев, канала придатка семенника и подсчета количества различных типов сперматогенных клеток обрабатывали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова – Смирнова и поправки Лиллиефорса. Статистически значимыми считались изменения при $P < 0.05$, при этом нулевая гипотеза отвергалась.

Результаты и их обсуждение

Как показали морфометрические исследования (табл. 1) максимальный диаметр семенных канальцев и канала придатка семенника выявлен у животных в возрасте 2 лет. В канале придатка семенника (рис. 1) выявляется большое количество спермиев. У котов в возрасте 4 лет диаметр семенных канальцев уменьшается на 10.1% по сравнению с предыдущей возрастной группой животных. Канал придатка семенника у котов в возрасте 4 лет остается без изменений. Значительные изменения этих показателей выявлены у старых котов в возрасте 8 лет. По сравнению с 2-летними особями диаметр извитых семенных канальцев уменьшается на 29.2%, диаметр канала придатка семенника – на 17.0%. В канале придатка семенника (рис. 2) обнаруживается небольшое количество спермиев. Отдельные участки канала лишены половых клеток.

Для изучения эффективности сперматогенеза мы определяли количество первичных зиготемных, пахитемных сперматоцитов и сперматид круглых в извитых семенных канальцах. Сперматоциты первичные молодые (лептотемные и зиготемные) располагаются в первом ряду сперматогенных клеток (рис. 3). В стадии зиготемы происходит спаривание гомологичных хромосом, образуются биваленты, которые прикрепляются своими концами к ядерной оболочке. Хромосомы в зиготемных сперматоцитах смещаются к одному полюсу ядра, образуя характерную букетную конфигурацию. Отдельные авторы сравнивают форму ядер зиготемных сперматоцитов с формой парашюта [5, 10].

Сперматоциты первичные в стадии пахитемы [6, 7] обнаруживаются во втором ряду сперматогенных клеток (рис. 3). Они имеют наиболее крупные ядра. Сперматиды ранние с круглыми ядрами выявляются в извитых семенных канальцах (рис. 3) в большом

Таблица 1

Морфометрические показатели семенников у котов различного возраста

Возраст животных (лет)	Количество животных	Диаметр семенных канальцев (мкм)	Диаметр канала придатка семенника (мкм)
2	6	188.4	176
4	5	169.4	174
8	5	133.6*	146

Примечание: * – $P < 0.05$ (критерий Манна–Уитни).

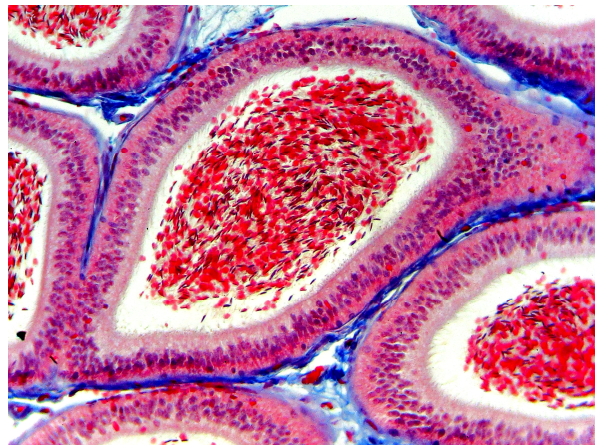


Рис. 1. Семенник кота в возрасте 2 лет. В расширенном канале придатка семенника обилие спермиев. Между каналами прослойки соединительной ткани. Фиксация в жидкости Штыве. Окраска азаном по Гейденгайну. Об. 40, ок.15.

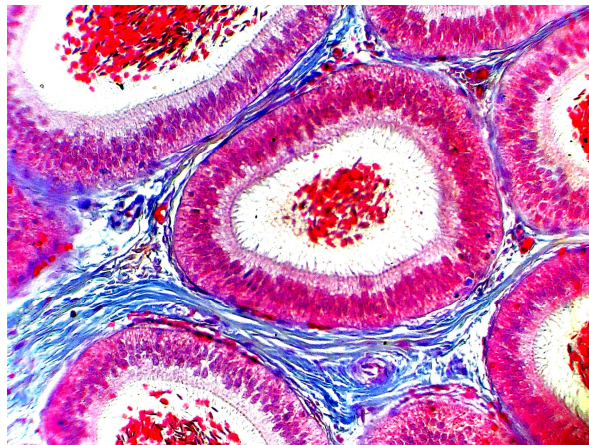


Рис. 2. Семенник кота в возрасте 8 лет. В канале придатка семенника небольшое количество спермиев. Фиксация в жидкости Штыве. Окраска азаном по Гейденгайну. Об. 40, ок. 15.

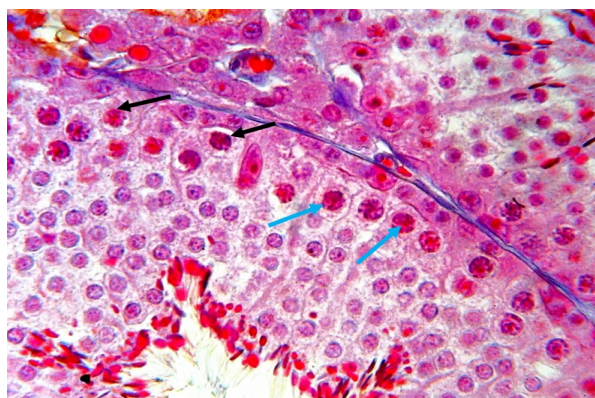


Рис. 3. Семенник кота в возрасте 2 лет. В извитых семенных канальцах семенника выявлен активный сперматогенез. В первом ряду видны сперматоциты первичные в стадии зиготемы (черные стрелки). Во втором ряду клетки с крупными ядрами – сперматоциты первичные в стадии пахитемы (голубые стрелки). Мелкие многочисленные клетки – сперматиды круглые. Фиксация в жидкости Штыве. Окраска азаном по Гейденгайну. Об. 40, ок. 15.

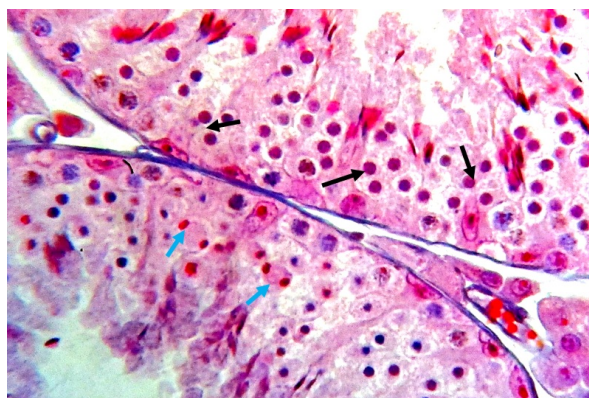


Рис. 4. Семенник кота в возрасте 2 лет. Видны два фрагмента семенных канальцев. Вверху черными стрелками обозначены молодые сперматиды. Внизу голубыми стрелками показаны делящиеся сперматоциты вторичные. Внизу справа видны мелкие сперматоциты вторичные. Сперматоциты первичные в стадии пахитемы, диплонемы, диакинеза отсутствуют. Фиксация в жидкости Штыве. Окраска азаном по Гейденгайну. Об. 40, ок. 15.

количестве. Они образуют три или четыре ряда клеток и располагаются ближе к просвету семенных канальцев. Сперматоциты вторичные (рис. 4) появляются в результате мейотического деления первичных сперматоцитов в стадии диакинеза. Эти клетки существуют недолго, быстро претерпевают второе мейотическое деление и превращаются в сперматиды. Сперматоциты вторичные и сперматиды ранние трудно отличить, но первые обнаруживаются в небольшом количестве на месте расположения первичных сперматоцитов с максимальными по величине ядрами.

Зиготемные сперматоциты превращаются в пахитемные, они не делятся и поэтому соотношение зиготемных и пахитемных сперматоцитов теоретически должно быть 1:1. Количество сперматид увеличивается в четыре раза по сравнению с количеством сперматоцитов, так как сперматоциты претерпевают два мейотических деления, и из одной клетки образуется 4 клетки. Соотношение сперматоцитов и сперматид составляет 1:4. Количество сперматид $N_2=4N$ (N – количество зиготемных сперматоцитов). Суммарное соотношение всех сперматогенных клеток за период от

Таблица 2

Численность сперматогенных клеток и эффективность сперматогенеза у котят различного возраста

Типы сперматогенных клеток	Возраст животных	
	2 года (n=6)	8 лет (n=6)
Зиготемные сперматоциты	31.4	38.0
Пахитемные сперматоциты	29.4	35.2
Сперматиды фактическое количество – N ₁	94.2	85.4
ранние теоретически возможное количество – N ₂	125.6	152.0
Количество гибнущих сперматид	31.4	66.6*
Количество гибнущих сперматид, (%)	25.0	43.8*
Эффективность сперматогенеза, (%)	75.0	56.2*

Примечание: * – $P < 0.05$. Различия статистически значимы по сравнению с животными первой группы (непараметрический критерий Манна–Уитни).

зиготемных сперматоцитов до сперматид ранних составляет 1:1:4 (теоретически).

Относительная численность сперматид после двух мейотических делений отражает эффективность сперматогенеза. Эффективность сперматогенеза мы определяли по формуле [1]:

$$ЭС (\%) = N_1 \times 100 / N_2, \text{ где}$$

ЭС – эффективность сперматогенеза, N₁ – фактическое количество сперматид круглых (ранних), N₂ – теоретически возможное количество сперматид.

Результаты определения эффективности сперматогенеза у котят различного возраста представлены в табл. 2.

Из приведенных данных в табл. 2 видно, что количество сперматоцитов пахитемных у котят меньше, чем количество зиготемных сперматоцитов, часть клеток за этот короткий период погибли. Гибель зиготемных сперматоцитов у котят в возрасте 8 лет составляет 7.3%. У котят в возрасте 2 лет за период превращения зиготемных сперматоцитов в пахитемные гибель клеток составила 6.4%.

У молодых котят в возрасте двух лет количество сперматид теоретически должно быть равно 125.6, фактически выявлено значительно меньшее количество сперматид (табл. 2). Количество гибнущих клеток у молодых животных равно 31.4 (25%). Эффективность сперматогенеза у котят в возрасте двух лет составляет 75%.

Наибольшее количество гибнущих сперматогенных клеток выявлено у старых животных в возрасте 8 лет в период первого и второго мейотического деления. Теоретически количество сперматид у котят в возрасте восьми лет должно быть равно 152.0, фактически выявлено 85.4 клетки; 66.6 клетки погибли в период первого и второго мейотического деления. Гибель клеток составила 43.8%, а эффективность сперматогенеза у этих животных равна 56.2%.

Сравнивая численность гибнущих клеток у старых и молодых животных в летний период, можно отметить, что у котят в возрасте 8 лет увеличивается численность гибнущих сперматогенных клеток, при этом эффектив-

ность сперматогенеза статистически значимо уменьшается на 19.1% (табл. 2).

Заключение

Максимальный диаметр семенных канальцев и канала придатка семенника выявлен у котят в возрасте 2 лет. Эти показатели у животных в возрасте 8 лет уменьшаются на 29.2% и 17.0% соответственно. Численность гибнущих сперматид у старых животных в возрасте 8 лет увеличивается до 43.8%, при этом эффективность сперматогенеза статистически значимо ($P < 0.05$) уменьшается до 56.2% (на 19.1% по сравнению с молодыми животными).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Котарев В.И., Ульянов А.Г., Торгун П.М. Эффективность сперматогенеза как показатель воспроизводительных качеств баранов. Ветеринарный фармакологический вестник. 2019;3:117–30 [Kotarev VI, Ulyanov AG, Torgun PM. Spermatogenesis efficacy as the rate of reproduction properties in rams. Bulletin of veterinary pharmacology. 2019 Oct;3:117–30] (in Russian). doi: 10.17238/issn2541-8203.2019.3.117
2. Dzimira S, Nizanski W, Madej JA. Morphological analysis of testicles in cats with disorders of sex development. Polish Journal of Veterinary Sciences. 2017 Mar 28;20(1):123–31. doi: 10.1515/pjvs-2017-0016
3. Elcock L, Schoning P. Age-related changes in the cat testis and epididymis. Am J Vet Res. 1984;45:2380–4.
4. Franca LR, Godinho CL. Testis Morphometry, Seminiferous Epithelium Cycle Length, and Daily Sperm Production in Domestic Cats (Felis catus). Biology of Reproduction. 2003 May 1;68(5):1554–61. doi: 10.1095/biolreprod.102.010652
5. Ortavant R. Déroulement et durée du cycle spermatogénétique chez le bélier. Annales de Zootechnie. 1959;8(3):183–244. doi: 10.1051/animres:19590301
6. Roosen-Runge E. Untersuchungen über die Degeneration samenbildender Zellen in der

- normalen Spermatogenese der Ratte. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie. 1954;41(3-4):221-35. doi: 10.1007/bf00340602
7. *Ryu B-Y, Orwig KE, Oatley JM, Avarbock MR, Brinster RL.* Effects of Aging and Niche Microenvironment on Spermatogonial Stem Cell Self-Renewal. *Stem Cells.* 2006 Feb 2;24(6):1505-11. doi: 10.1634/stemcells.2005-0580
8. *Sa'nchez B, Pizarro M, Garcia P, Flores JM.* Postnatal development of seminiferous tubules in the cat. *J Reprod Fertil Suppl* 1993; 47:343- 348.
9. *Siemieniuch MJ, Woclawek-Potocka I.* Morphological Features of The Seminiferous Epithelium in Cat (*Felis catus*, L. 1758) Testes. *Journal of Reproduction and Development.* 2007;53(5):1125-30.
10. *Zhang X, Ebata KT, Robaire B, Nagano MC.* Aging of Male Germ Line Stem Cells in Mice. *Biology of Reproduction.* 2006 Jan 1;74(1):119-24. doi: 10.1095/biolreprod.105.045591

Поступила в редакцию 14.01.2020

Принята в печать 10.03.2020

Received 14.01.2020

Accepted 10.03.2020

Для цитирования: Торгун П.М., Никитюк Д.Б., Ключкова С.В., Алексеева Н.Т., Кварацхелия А.Г., Соколов Д.А., Ульянов И.А., Тепцова А.Д., Ткаченко А.С., Горайнова М.В. Эффективность сперматогенеза у котов в зависимости от возраста. Журнал анатомии и гистопатологии. 2020; 9(1): 64-68. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-1-64-68

For citation: Torgun P.M., Nikityuk D.B., Klochkova S.V., Alexeeva N.T., Kvaratskheliya A.G., Sokolov D.A., Ul'yanov I.A., Teptsova A.D., Tkachenko A.S., Goryainova M.V. Age dependency of spermatogenesis efficiency in cats. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2020; 9(1): 64-68. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-1-64-68