

М. А. БЕРДНИКОВ¹, Н. В. АНТИПОВ¹, Ю. К. ГУЛЬКОВ²

НОВАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ОБОСНОВАННАЯ МОДЕЛЬ ВАРИКОЦЕЛЕ

¹Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького» Министерства здравоохранения ДНР, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, пр. Ильича, 16, г. Донецк, ДНР, 283003.

²Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение Министерства здравоохранения ДНР, патологоанатомическое отделение, пр. Ильича, 14, г. Донецк, ДНР, 283003.

АННОТАЦИЯ

Цель. Разработать патогенетически обоснованную модель варикоцеле, сравнить ее с известной моделью.

Материалы и методы. 30 самцов беспородных лабораторных крыс были поделены на 3 равные группы, в 1-й группе выполнялась модификация способа Saypol, во 2-й – одномоментная парциальная перевязка обеих семенных канатиков с последующей абдоминализацией семенников. Группа 3 была контрольной. На 7-е, 15-е, 30-е сутки выполнялась гонадэктомия с последующим гистологическим исследованием семенников.

Результаты. В группе 1 на фоне спаечного процесса в брюшной полости у всех крыс определялись явления гидронефроза. Изменения семенных вен и семенников были достигнуты как в 1-й, так и во 2-й группах, причем более выраженные в группе 2 уже к 15-м суткам. Имели место флебэктазия, истончение меди, воспалительная инфильтрация семенников с некробиозом сперматогенного эпителия, зрелых половых клеток, в ряде случаев наблюдались пролиферация артериальных сосудов и даже восстановление сперматогенеза.

Заключение. Таким образом, применение предлагаемого способа оправдано в большей степени с технической, экономической и патогенетической точек зрения.

Ключевые слова: варикоцеле, моделирование, лабораторные крысы, сперматогенез

Для цитирования: Бердников М.А., Антипов Н.В., Гульков Ю.К. Новая экспериментальная патогенетически обоснованная модель варикоцеле. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2018; 25(2): 40-44. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-2-40-44

For citation: Berdnikov M.A., Antipov N.V., Gulkov Yu.K. New experimental pathogenetically grounded varicocele model. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2018; 25(2): 40-44. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-2-40-44

M. A. BERDNIKOV¹, N. V. ANTIPOV¹, YU. K. GULKOV²

NEW EXPERIMENTAL PATHOGENETICALLY GROUNDED VARICOCELE MODEL

¹State Educational Organisation of Higher Professional Education M. Gorky Donetsk National Medical University of the Ministry of Healthcare of the Donetsk People's Republic, Department of Operative Surgery and Topographic anatomy, Ilich ave., 16, Donetsk, Donetsk People's Republic, 283003.

²Donetsk Clinical Community-based Medical Organisation of the Ministry of Healthcare of the Donetsk People's Republic, Pathoanatomical Department, Ilich ave., 14, Donetsk, Donetsk People's Republic, 283003.

ABSTRACT

Aim. The main aim of the study was to develop a pathogenetically grounded varicocele model and to compare it with the well-known one.

Materials and methods. 30 male mongrel laboratory rats were divided in 3 equal groups, in the 1st group Saypol technique was performed, in the 2nd – one-time partial ligation of both spermatic cords with following testicles abdominisation. The 3rd group was the control one. There was a gonadectomy with following histological investigation on the 7th, 15th and 30th days.

Results. Group 1 was presented with adhesions in abdominal cavity and hydronephrosis in all rats. The changes in the spermatic veins and testicles were reached both in the 1st and 2nd groups with more significant ones in the 2nd group by the 15th day. There were phlebectasia, tunica media thinning, inflammatory infiltration of the testicles with spermatogenous epithelium and mature germ cells necrobiosis, in some cases also arterial vessels proliferation and even spermatogenesis recovery.

Conclusion. Thereby, the use of the suggested technique is more grounded from the technical, economical and pathogenetic points of view.

Keywords: varicocele, modeling, laboratory rats, spermatogenesis

Введение

Известно множество способов моделирования варикоцеле на экспериментальных животных, большинство из них сводится к частичному лигированию почечной вены проксимальнее внутренней семенной вены по Saypol или модификациям указанной методики [1-5]. Методика фактически воспроизводит патологический реносперматический рефлюкс, который приводит к повышению давления в семенной вене, и, соответственно, расширению лозовидного сплетения, что, в свою очередь, ведет к венозной гипоксии, накоплению метаболитов азота, гипертермии гонад, пагубно влияющих на сперматогенез [5, 6]. При этом, результаты применения общепринятой методики довольно противоречивы и вариабельны у различных авторов [3, 4, 5].

Цель исследования: разработать новую, патогенетически обоснованную экспериментальную модель варикоцеле и провести сравнительный анализ с существующей моделью.

Материалы и методы

30 беспородных белых лабораторных половозрелых самцов крыс весом 250-300 г были поделены на 3 равные группы. Применялся ингаляционный эфирный наркоз по закрытой системе. Для этого крыса помещалась в герметичную стеклянную емкость объемом 3 л, куда вводилось 2,5-3 мл эфира для наркоза, экспозиция составляла 1,5 минуты. Критериями нахождения животного в наркозе считалось отсутствие реакций на болевые и другие раздражители, отсутствие рефлексов, участие вспомогательной мускулатуры в акте дыхания. После этого животное извлекалось, помещалось на операционный стол и фиксировалось. На голову крысы надевалась латексная маска специальной конструкции, соединенная со стеклянной емкостью объемом 3 л, куда вводился эфир по необходимости. Расход эфира на одну операцию составлял от 3 до 6 мл при общей длительности наркоза до 38 минут, что позволяло выполнить поставленные задачи.

Во всех трех группах после трехкратной обработки раствором 10% повидон-йода производилась тотальная срединная лапаротомия. Желудок, печень, селезенка и кишечник смещались в сторону при помощи влажных марлевых салфеток. Послеоперационная рана ушивалась послойно при помощи непрерывных швов с использованием атравматичных нерассасывающихся нитей Пролен 4/0-5/0 и рассасывающихся нитей хромированного кетгута 4/0-5/0. В ходе операции использовались бинокулярные оптические лупы с линейным увеличением х3,5.

В группе 1 после лапаротомии выполнялась парциальная перевязка левой почечной вены с последующим пересечением соустьей левой семенной вены на всем протяжении и разрушением ее фасциального футляра. Для этого выде-

лялась и мобилизовалась на протяжении левая почечная вена. Медиальнее места впадения каудальной надпочечниковой вены и каудальной диафрагмальной вены на почечную вену, с предварительно расположенным на ней и параллельно ей металлическим проволочным зондом диаметром 0,8 мм, накладывалась лигатура Пролен 5/0, вена с зондом перевязывалась, после чего зонд удалялся. Таким образом, удавалось достичь перевязки 1/3-1/2 диаметра почечной вены. Затем, с использованием микрохирургического инструментария, на всем протяжении мобилизовалась левая семенная вена, пересекались ее анастомозы. Особое внимание уделялось пересечению краниальной мочепузырной вены, являющейся основным соустьем между семенной веной и общей подвздошной веной. Послеоперационная рана ушивалась послойно наглухо.

В группе 2 после лапаротомии выполнялась одномоментная парциальная перевязка обоих семенных канатиков с последующей абдоминализацией семенников. Для этого чрезбрюшинным доступом через паховые каналы в брюшную полость перемещались оба семенника с придатками и семенными канатиками, атравматично фиксировались. Мобилизовались семенные артерии и одноименные вены с обеих сторон, параллельно им устанавливались спаренные металлические проволочные зонды диаметром 0,8 мм, затем все указанные объекты и образования единомоментно лигировались одной атравматичной нитью Пролен 3/0, после чего зонды удалялись. Этот маневр позволял достичь сужения 1/3-1/2 диаметров семенных вен и артерий с обеих сторон. При этом не наступала ишемия семенников, а необходимый эффект проявлялся полнокровием вен лозовидных сплетений. Семенники с придатками оставались таким образом в брюшной полости, то есть выполнялась их абдоминализация. Послеоперационная рана ушивалась послойно наглухо.

Группа 3 являлась контрольной. После лапаротомии проводилась ревизия забрюшинного пространства, почечных и семенных вен, семенников. При этом нарушения целостности каких-либо анатомических образований и их синтопии не производилось. Послеоперационная рана ушивалась послойно наглухо.

Забор биоматериала, то есть гонадэктомия, проводился в каждой группе животных на 7-е, 15-е и 30-е сутки. Для достижения равных условий при заборе в каждой группе проводилась релапаротомия. В 1-й и 3-й группах выполнялось перемещение семенников с придатками и семенными канатиками в брюшную полость с последующей гонадэктомией. Во 2-й группе после релапаротомии так же производилась гонадэктомия.

Правила проведения экспериментов целиком и полностью соответствовали ст. 26 Закона Украины № 3447-IV от 21.02.2006 «О защите животных от жестокого обращения», Общим этическим принци-

пам экспериментов на животных, утвержденным 20.09.2001 Первым Украинским национальным конгрессом по биоэтике и с учетом положений, изложенных в Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH publ. No. 93-23, revised 1985), а так же в Приказе МЗ СССР №755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

Из фиксированных 10% раствором нейтрального формалина кусочков семенников с придатками и семенными канатиками после парафиновой проводки без применения хлороформа изготавливались блоки, из которых изготавливали срезы толщиной 5 ± 1 мкм. В дальнейшем срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по Ван-Гизону (для изучения соединительной ткани) и по Вергофу (для изучения эластических волокон).

Гистологические препараты были изучены под светооптическим микроскопом Olympus CX-41, микрофотографирование произведено цифровой фотокамерой Olympus C-5060 с программным обеспечением Olympus DP-Soft. Статистические данные обработаны с помощью пакета MedStat.

Результаты и обсуждение

Изначальный средний вес животных составил $276,1 \pm 13,2$ г в первой группе, $272,5 \pm 12,5$ г во второй группе и $275,1 \pm 13,1$ г в третьей ($p < 0,05$). Первоначальный средний диаметр семенных вен составил $0,14 \pm 0,04$ мм в группах 1 и 2, $0,15 \pm 0,03$ мм в группе 3 ($p < 0,05$). Длительность операции в группе 1 составила $29,3 \pm 0,82$ мин, в группе 2 – $16,7 \pm 0,37$ мин. ($p < 0,05$), что свидетельствует о значительном отличии центральных тенденций на уровне значимости $p < 0,001$. После оперативного вмешательства средний диаметр вен на 30-е сутки составлял в 1-й группе $1,54 \pm 0,23$ мм, во второй – $1,63 \pm 0,28$ мм ($p < 0,05$), то есть практически десятикратное увеличение с тенденцией к более значимым изменениям в группе 2. В третьей группе изменений не наблюдалось – $0,15 \pm 0,03$ мм. В группе 1 при релапаротомии у всех животных наблюдались явления гидронефроза, вероятно связанные с развитием тромбоза почечной вены на стороне вмешательства, а так же выраженный спаечный процесс в брюшной полости, особенно заметные на 15-е и 30-е сутки после первой операции, что резко затрудняло визуализацию почечной вены соответствующей стороны. В группе 2 подобных осложнений не наблюдалось, в ряде случаев на 15-е и 30-е сутки наблюдались отдельные рыхло отделяемые спайки в брюшной полости. В 1-м случае имел место выраженный отек оболочек абдоминизированного левого семенника и придатка, развившийся к 7 суткам после моделирования варикоцеле, вероятно развившийся в связи с ишемизацией органа и выраженным стазом венозной крови. В третьей группе не наблюдалось каких-либо изменений в брюшной полости после вмешательства, у одно-

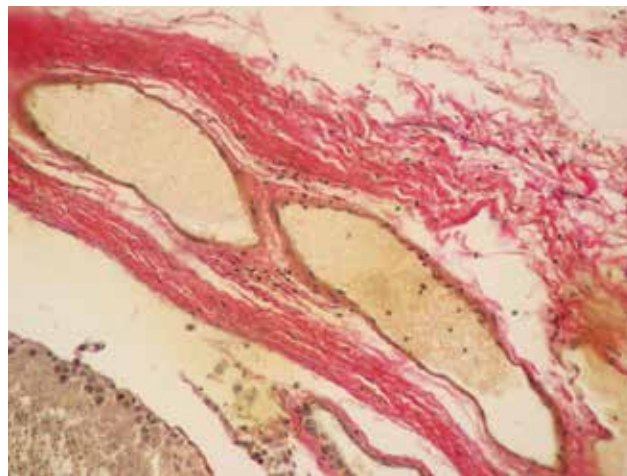


Рис. 1. Моделирование варикоцеле слева по способу 1. Гонадэктомия слева на 30-е сутки. Окраска Вергоф. Увеличение 200х.

Fig. 1. Left-sided varicocele modeling by the 1st technique. Gonadectomy performed on the 30th day. Verhoeff's stain. Enlargement 200x.

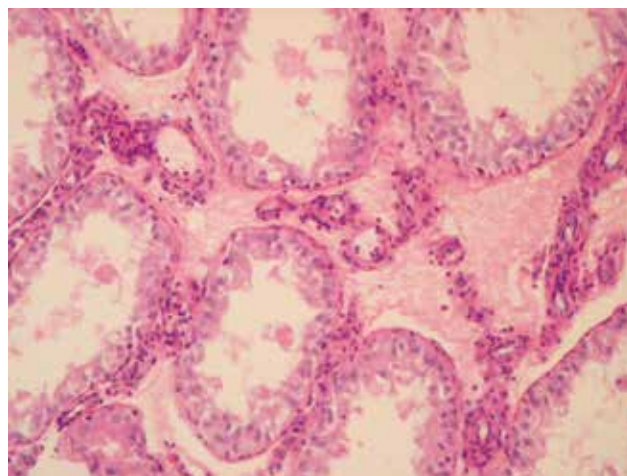


Рис. 2. Моделирование варикоцеле слева по способу 2. Гонадэктомия на 15-е сутки. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 200х.

Fig. 2. Left-sided varicocele modeling by the 2nd technique. Gonadectomy performed on the 15th day. H&E stain. Enlargement 200x.

го животного наблюдались рыхлые солитарные спайки в брюшной полости на 30-е сутки после 1-й операции.

В 1-й и 2-й группах у всех животных гистологически наблюдалась флебэктазия, то есть общее, равномерное, стойкое расширение и удлинение вен, которое не сопровождалось нарушением структуры их стенок. Имело место истончение субэндотелиального слоя и меди, которая была представлена непрерывным циркулярным слоем гладкомышечных клеток, разделенных скудной соединительной тканью. При моделировании варикоцеле в группе 2 на 15-е и 30-е сутки, а также в группе 1 на 30-е сутки наблюдалась атрофия мышечного слоя и огрубение эластических волокон (рис. 1). Очевидно, представленные изменения носят приспособительный характер венозной стенки к увеличению давления внутри сосуда на

фоне моделированного реносперматического рефлюкса, однако истинного варикозного расширения вен не наблюдается.

В одном случае, при моделировании варикоцеле с обеих сторон по способу 2 с гонадэктомией на 15-е сутки, мы наблюдали выраженную пролиферацию сосудов между семенными канальцами (рис. 2). Причем такую картину мы наблюдали с двух сторон, пролиферировали в основном мелкие сосуды, преимущественно артериального типа. Несмотря на существующую гипоксию семенников, стимулируются процессы васкулогенеза, что благоприятно будет сказываться на нарушенном сперматогенезе.

Морфологические изменения семенников также были разнообразны. При моделировании варикоцеле слева по способу 1 с гонадэктомией слева на 14-е сутки, мы наблюдали восстановление сперматогоний, однако сперматоциты 1 и 2-го порядка и сперматиды находились в состоянии некробиоза, зрелых сперматозоидов так же не было. Наиболее вероятно, что имело место компенсаторное приспособление клеток, участвующих в сперматогенезе. В центре семенного канатика имело место скопление фибрина с незначительной воспалительной инфильтрацией, что может свидетельствовать о нарушении целостности гематотестикулярного барьера на фоне гипоксии. Аналогичную морфологическую картину, только уже без воспалительных изменений, мы наблюдали и при моделировании варикоцеле с обеих сторон так же на 14-е сутки (рис. 3). В одном случае при моделировании варикоцеле в группе 2 на 7-е сутки в семенниках наблюдались некробиоз сперматогоний, сперматоцитов 1 и 2-го порядка, сперматид, зрелые сперматозоиды полностью отсутствовали, наиболее вероятно за счет ишемического поражения на фоне застоя венозной крови. Кроме того, наблюдали очаговую воспалительную инфильтрацию. В очагах некробиоза и некроза имела место диффузная инфильтрация сегментоядерными лейкоцитами. Также инфильтрация сегментоядерными лейкоцитами наблюдалась и между семенными канальцами, и в оболочках яичек, что свидетельствует о наличии выраженного орхита у крысы с развитием гидроцеле.

Полное восстановление сперматогенеза мы наблюдали при моделировании варикоцеле слева по способу 1 с гонадэктомией слева на 30-е сутки (рис. 4), что говорит о возможности адекватной компенсации скротального кровотока даже в условиях грубого реносперматического рефлюкса на фоне пересечения венозных коллатералей, чем объясняется отсутствие нарушений фертильности даже при выраженном варикоцеле.

Заключение

При моделировании варикоцеле в экспериментальных условиях как известным ранее, так и предлагаемым способом, первичным является

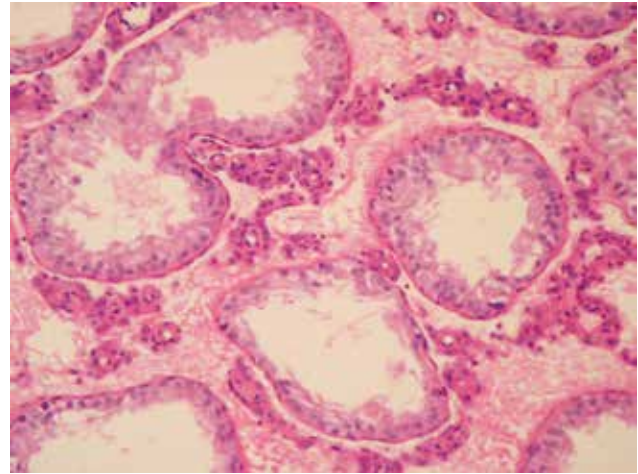


Рис. 3. Изменения семенников при моделировании варикоцеле с обеих сторон по способу 2 с гонадэктомией с обеих сторон на 14-е сутки. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 200х.

Fig. 3. Testicles changes in two-sided varicocele modeling by the 2nd technique. Gonadectomy on the 14th day. H&E stain. Enlargement 200x.

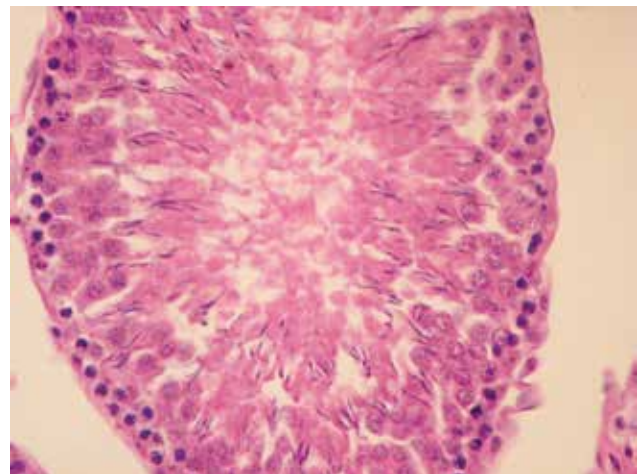


Рис. 4. Полное восстановление сперматогенеза при моделировании варикоцеле слева по способу 1 с гонадэктомией слева на 30-е сутки. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 400х.

Fig. 4. Total recovery of spermatogenesis in left-sided varicocele modeling by the 1st technique. Gonadectomy on the 30th day. H&E stain. Enlargement 400x.

поражение семенников с нарушением репродуктивной функции, очевидно обусловленное стазом венозной крови и ишемией, при этом изменения венозной стенки, очевидно, за счет развития компенсаторных механизмов, долгое время представлены флебэктазией с истончением циркулярного слоя гладкомышечных клеток меди. При моделировании известным способом очевидными и прогнозируемыми осложнениями являются гидронефроз на стороне вмешательства и развитие спаечного процесса в брюшной полости, что, в совокупности с необходимостью применения микрохирургического инструментария, увеличительной оптики, диктует необходимость поиска более физиологических, патогенетически, технически и экономически оправданных способов. Предлага-

емый новый способ моделирования варикоцеле лишен недостатков классического, прост в техническом исполнении, позволяет получать видимые результаты сразу с двух сторон уже на 15-е сутки после вмешательства, кроме того, абдоминализация семенников и симультанная парциальная перевязка семенных артерий стимулирует нарушение температурного режима гонад и, очевидно, повреждение гематотестикулярного барьера, что, таким образом, позволяет считать предлагаемый способ более оправданным.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Пташник Г.І. Вплив венозної гіпоксії на сперматогенез у експерименті. *Світ медицини та біології*. 2010; 1: 42-45. [Ptashnyk G.I. Vplyv venoznoyi hipoksiyi na spermatogenez u eksperymentі. *Svit medytsyny ta biologiyi*. 2010; 1:42-45. (In Ukrainian)].
2. Najari B.B., Li P.S., Ramasamy R. et al. Microsurgical rat varicocele model. *Journal of Urology*. 2014; 191: 548-553. DOI: 10.1016/j.juro.2013.08.011.
3. Zhou T., Cao H., Chen G., Yang B. , Sun Y. Outcomes of experimental rat varicocele with and without microsurgery. *BMC*

Urology. 2015; 15(19). DOI: 10.1186/s12894-015-0012-y.

4. Ozturk M.I., Koca O., Keleş M.O., Haklar G., Baykan O., Ercan F. et al. The impact of unilateral experimental rat varicocele model on testicular histopathology, Leydig cell counts, and intratesticular testosterone levels of both testes. *Urology Journal*. 2013; 10(3): 973-980. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1569-9056\(13\)60197-9](https://doi.org/10.1016/S1569-9056(13)60197-9).

5. Katz M.J., Najari B.B., Li P.S., Goldstein M. The role of animal models in the study of varicocele. *Translational Andrology and Urology*. 2014; 3(1): 59-63. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2014.01.07.

6. Півторак В.І., Сміюха О.А., Булько М.П. Електронно-мікроскопічні зміни структурних компонентів яєчка після моделювання варикоцеле та операції за власним методом. *Тавричеський медико-біологічний вестник*. 2013; 16(1), 2(61): 142-145. [Pivtorak V.I., Smiyukha O.A., Bulko M.P. Elektronno-mikroskopichni zminy strukturnykh komponentiv yayechka pislya modelyuvannya varicotsele ta operatsiyi za vlasnym metodom. *Tavrisheskiy medico-biologicheskiy vestnik*. 2013; 16(1), 2(61): 142-145. (In Ukrainian)].

Поступила / Received 26.10.2017

Принята в печать / Accepted 23.03.2018

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Бердников Михаил Александрович, тел.: +380502426830 (Viber); +380713217080 (Viber); e-mail: berdnikov.surgeon@ya.ru; Донецкая Народная Республика, 283052, г. Донецк, ул. Цусимская, д. 81, кв. 24.

Corresponding author: Mikhail A. Berdnikov; tel.: +380502426830 (Viber); +380713217080 (Viber); e-mail: berdnikov.surgeon@ya.ru; 81/24, Tsusimskaya str., Donetsk, Donetsk People's Republic, 283052.