

BROKUOJAMŲ VEISLINIŲ KUILIŲ REPRODUKČINĖS VEIKLOS SUTRIKIMŲ TYRIMAI

Loreta Šernienė¹, Gražina Januškevičienė¹, Albina Aniulienė², Henrikas Žilinskas³

¹ *Maisto saugos ir gyvūnų higienos katedra*

² *Užkrečiamų ligų katedra*

³ *Neužkrečiamų ligų katedra*

Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, 47181 Kaunas; ¹ tel.:(8-37) 36 26 95; el. paštas: loretaser@lva.lt

Santrauka. Tyrimais nustatyta, kad dėl įvairių spermatozoidų patologijų ir sėklidžių pakitimų išbrokuojama pusė visų veislinių kuilių. Atsižvelgiant į tai numatytas darbo tikslas – ištirti Lietuvos veislynuose išbrokuotų kuilių sėklidžių histomorfologinę struktūrą ir testosterono kiekį kraujyje, nustatyti patologiją sukėlusius veiksnius – amžiaus, sezono, paties kuilio – įtaką. Analizuojant veiksnių įtaką skirtingoms spermos patologijoms nustatyta, kad visoms joms reikšmingas kuilio efektas ($p \leq 0,05$), o bendrai spermos patologijai statistiškai reikšminga ir kuilio amžiaus bei sezono įtaka ($p \leq 0,052$, $p \leq 0,0001$). Skirtingos jaunų kuilių brokavimo priežastys pasiskirsto panašiomis proporcijomis kaip ir vyresnių, išskyrus brokavimą dėl bendros spermos patologijos, kai dažniausiai išbrokuojami vyresni kuiliai – amžiaus įtaka šiuo atveju statistiškai reikšminga. Dėl bendros spermos patologijos dažniausiai išbrokuojami senyvo amžiaus kuiliai, daugiausia vasaros–rudens laikotarpiu. Histologiškai tiriant nustatytas intersticinis orchitas ir silpno (spermatozoidų uodegėlių ir galvučių patologijos atveju) bei vidutinio (bendros spermos patologijos atveju) laipsnio sėklinių kanalėlių degeneracija. Kuilių, išbrokuotų dėl spermos ir sėklidžių patologijos (oligospermijos) sėklidžių masė ($p \leq 0,05$), spermatozoidų koncentracija ($p \leq 0,001$) ir testosterono kiekis kraujyje buvo mažesni ($p \leq 0,05$). Histologiškai pažeistose sėklidėse nustatytas intersticinis nepūlinis orchitas su pilna sėklinių kanalėlių bei pavienių Leidigo ląstelių degeneracija ir nekrozė. Tiriant antsėklidį nustatyta pavienių sėklatakių degeneracija, stromos fibrozė.

Raktažodžiai: veisliniai kuiliai, sperma, kokybė, vaisingumas, patologija.

INVESTIGATION ON THE MAIN REPRODUCTIONAL DISORDERS OF THE CULLED AI BOARS IN LITHUANIA

Summary. Aim of the work was to study the histomorphological structure of testicles and testosterone levels in peripheral blood serum from culled in Lithuanian breeder-ground boars, taking into consideration the effect of alteration-inducing pathological factors.

In the present work 63 boars that were culled in AI centers due to the different reasons of reproductive failure were included into the analysis. The effects of individual boar, age of boar, season, and age by season interaction effect were included into the model. The culled boars were analyzed for peripheral blood testosterone levels, sperm morphology, and presence of other than spermatozoa cells in the ejaculate. Histomorphological evaluation of testes was carried out after the slaughter.

The analysis revealed that boar effect was the major factor influencing the culling rate based on increased numbers of sperm head, tail pathologies and pathologies of semen as well as in the testicles. The age of the boar and the season were the factors that had effect ($p \leq 0.05$) on the incidence of sperm pathologies. Histological evaluation of the testicles of the culled boars showed interstitial orchitis and mild (in case of sperm tail- and head-pathologies) and partial (total sperm pathology) degeneration of seminiferous tubules, but no histologically detectable changes in the epididymes. The peripheral blood plasma testosterone level did not differ significantly from the control group and other cells than spermatozoa in the ejaculates were not detected. In the case of pathologic condition in spermatozoa and testicles (oligospermia), testicles are small, soft and weight less compared to the control group ($p \leq 0.05$); peripheral blood plasma testosterone levels were by 207.4 mmol/l lower compared to the control ($p \leq 0.005$) sperm samples contained high incidence of lymphocytes and a few leukocytes. Histological evaluation of the affected testicles revealed interstitial non-purulent orchitis, total degeneration and necrosis of seminiferous tubules, degeneration of some efferent tubules in the epididymes, focal fibrosis of interstitial tissue and hyperplasia of pseudosratified epithelium of columnar cells.

Keywords: AI boars, sperm quality, fertility, pathology.

Įvadas. Patologinių spermatozoidų atsiradimas spermoje – su sėklidžių patologija koreliuojantis rodiklis. Vertinant spermatozoidus reikia nepamiršti, kad nuo pirmos spermatogenezės stadijos iki spermatozoidų išskyrimo praeina maždaug 60 dienų, todėl patologinis procesas savo vystymuisi pralengia gyvulio spermoje pastebimus pakitimus – sėklidžių hipoplaziją, degeneraciją, fibrozę ir uždegimą (Lagerlof, 1934). Mokslininko nuomone, sėklidėje vystosi du dažniausiai pasitaikantys pakitimai, sąlygojantys spermatogenezės

sutrikimą – paveldėta ar įgimta hipoplazija ir sėklinių kanalėlių degeneracija. Paveldėtą ar įgimtą sėklidžių patologiją, taip pat ir hipoplaziją, sukelia citogenetiniai ar chromosomų defektai, kriptorchidizmas ir ingvinalinės išvaržos. Dvi pastarosios būsenos trikdo sėklidžių termoreguliaciją, kurios padarinys – nevaisingumas ar sterilumas, tačiau gyvulys gali turėti puikų libido ir gerai kergti, dėl to gyvulio savininkas ne iš karto pastebi nevaisingumą (Vilagomez *et al.*, 1993).

Kuilių sterilumas nėra dažnas reiškinys. Iš 30 kuilių,

kuriems diagnozuota sėklidžių patologija, tik 8 arba 26,6% turi hipoplazuosas sėklides (Holst, 1969). Sterilumo atveju nustatomas mažesnis testosterono kiekis kraujo serume ir daugiau LH bei FSH. Tai susiję su Leidigo ląstelių disfunkcija (Noguchi et al., 1993). Įgytos sėklidžių patologijos diagnozuojamos daug dažniau, nei įgimtos ar paveldėtos. Tai sėklidžių degeneracija, orchitas, fibrozė ir kalcifikacija. B. P. Setchell 1978 m. aprašė natūralios ir dirbtinai sukeltos sėklidžių degeneracijos priežastis: karštį ir šaltį, radiaciją, šėrimo paklaidas, cheminius, imunologinius, chromosominius, hormoninius, neoplastinius pažeidimus. Kuiliams degeneraciją dažniausiai sukelia karštis, siejamas su temperatūros pakilimu sėklidėse kriptorchizmo, sėklidžių ektopijos ar ingvinalinės išvaržos atvejais, lokalizuotos odos infekcijos, sumušimai *skrotum* ir sėklidžių srityje, ligos, vasaros metu pakilusi aplinkos temperatūra, dažniausiai siejama su padidėjusia drėgme (Stone, 1981/1982; Wettemann et al., 1979). Antsėklidžiui aukštoje temperatūroje sumažėja uodegos ilgis ir diametras, kartu sutrumpėja ir spermatozoidų buvimo laikas antsėklidėje (Foldesy, Bedford, 1982). Antsėklidžio aktyvumo sutrikimai ir karščio stresas provokuoja nesubrendusių spermatozoidų su proksimaliniais lašeliais ir antrinėmis anomalijomis, ypač Jenseno žiedu susukta uodegėle, daugėjimą (Briz et al., 1996). Kalbant apie pakilusios temperatūros įtaką sėklidžių degeneracijai, reikia paminėti ir sumažėjusį androgeninių hormonų lygį kraujo serume (Wettemann et al., 1979; Portela et al., 1992; Tenover, 1997).

Sėklidžių degeneracijos patogenezėje labai svarbi ir amžiaus įtaka (Williams, Savage, 1993). Kuiliams tai nėra dažnas reiškinys, nes šie gyvuliai greitai išbrokuojami dėl kitų priežasčių. M. Houszka, 1988 metais atlikusi tyrimus su senais (4–8,5 metų) kuiliais nurodo, kad jų sėklidės yra 17,8% mažesnės nei 1,5–3 metų kuilių. Abiejų kuilių grupių kairė sėklidė buvo 13,5% didesnė už dešiniąją. Tiriant histologiškai nustatyti tipiški sėklidžių degeneracijos požymiai. Nėra įrodymų, kad šie požymiai yra kraujagyslinės, imuninės ar hormoninės prigimties, todėl manoma, kad degeneracija vyksta sėklidėms natūraliai senstant.

Žinoma, kad nesant gyvulio sveikatos sutrikimų ar paveldimų pakitimų, aplinkos veikiama pablogėjusi spermatozoidų kokybė bei vaisingumas yra grįžtamas reiškinys, nurodantis vienos ar kitos priežasties poveikį visam organizmui ir reprodukcinei sistemai. Tačiau šie pastebėjimai dažniausiai apibūdina pavienio veiksnio daromą įtaką, o biologijoje pavienio faktoriaus poveikis yra labai retas. Paprastai individą veikia iš karto keletas ar net keliolika skirtingų veiksnių, tiesiogiai ar netiesiogiai sukeliančių reprodukcinės sistemos veiklos sutrikimą, dažnai paveldimo veiksnio predisponuotą. Jei reproduktorių vienu metu veikia keletas neigiamų veiksnių, reprodukcinės sistemos pažeidimas vystosi ir progresuoja – ekonominiams sumetimais kuilys brokuojamas. Atsižvelgiant į tai, numatytas darbo tikslas – ištirti Lietuvos veislynuose išbrokuotų kuilių sėklidžių histomorfologinę struktūrą ir testosterono kiekį kraujyje, nustatyti patologiją sukėlusius veiksnius įtaką.

Tyrimų sąlygos ir metodai. Tyrimai buvo atliekami 1999–2000 metais su 63 kuiliais, išbrokuotais dėl įvairių priežasčių. 2–3 kartus prieš kastruojant ar skerdžiant buvo

imamas kuilių kraujas ir sperma, atliekamas spermatozoidų morfologinis įvertinimas (Williams, Savame, 1925; Hancock, 1956) bei pašalinių ląstelių tyrimas spermoje (Papanikolaou, 1942). Buvo išimamos iškastruoto ar paskersto brokuoto kuilio sėklidės, iš kairės ir dešinės pusės antsėklidžių uodegėlių imami mėginiai spermatozoidų morfologijai įvertinti pagal minėtas metodikas. Vėliau sėklidės buvo sveriamos, matuojamas jų dydis, histomorfologiniam tyrimui imami audinio gabalėliai iš įvairių antsėklidžio bei sėklidės dalių (Kublickienė, 1979). Paimtas kraujas buvo centrifuguojamas ir išskiriamas kraujo serumas, kuris išpilstomas ir užšaldomas testosterono tyrimui. Testosterono kiekio kraujyje tyrimai buvo atliekami radioimuniniu metodu naudojant RIA-TESTOSTERON-PR radioizotopinius rinkinius.

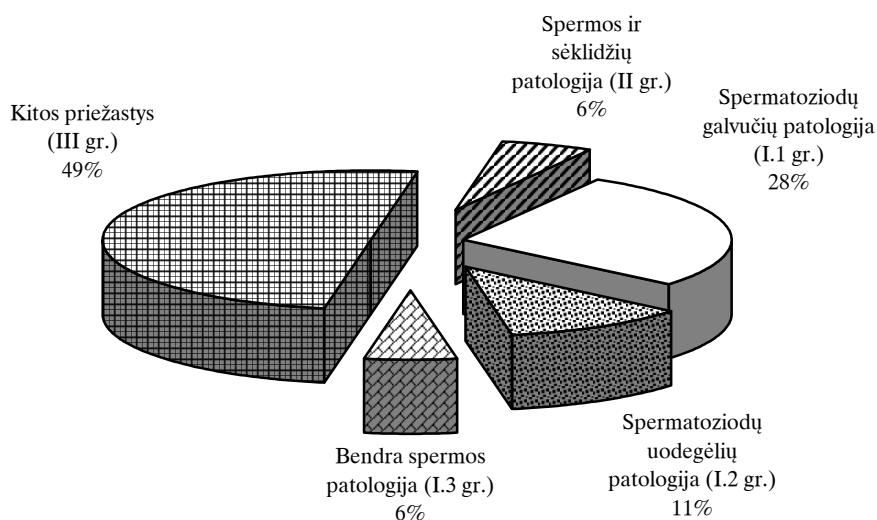
Statistinė analizė atlikta SPSS statistiniu paketu. Duomenys buvo analizuojami dispersinės analizės metodu (Glantz, 1999). Vertinant įvairių veiksnių įtaką kuilių brokavimo priežastims – spermatozoidų uodegėlių, galvučių patologijos, bendros spermos patologijos, spermos ir sėklidžių patologijos atvejais – buvo tiriama jų amžius, sezonas, individualus kuilio efektas bei analizuojama amžiaus ir sezono sąveika. Skirtumo tarp grupių patikimumo kriterijui (p) nustatyti visuose modeliuose buvo taikomas Sheffe daugybinio palyginimo metodas, esant kontrolinei grupei – Dunneto metodas, kai visos grupės buvo lyginamos su kontroline. Skirtumas buvo laikomas statistiškai patikimas, jei $p \leq 0,05$. Koreliaciniai ryšiai tarp priklausomų kintamųjų įvertinti Pearsono koreliacinėmis matricomis.

Rezultatai. Per vienerius mūsų duomenų rinkimo ir eksperimentų metus buvo išbrokuota 63 veisliniai kuiliai. Visos kuilių brokavimo priežastys buvo išskirtos į tris pagrindines grupes: dėl spermos kokybės pablogėjimo patologiinių spermatozoidų skaičiui ejakuliate viršijant normą – I grupė; dėl spermos ir sėklidžių patologijų (SSP) – II grupė; dėl kitų, spermos kokybei neturinčių įtakos, priežasčių; visi kiti kuiliai – III grupė. Šiai grupei priskirti jauni kuiliukai, brokuojami dėl nepakankamo libido, dėl galūnių silpnumo, bendrų organizmo ligų, vengiant giminingo veisimo ir dėl daugelio kitų priežasčių. Iš III grupės buvo parinkti kontroliniai kuiliai, neturintys pastebimų reprodukcinės sistemos ir spermos kokybės pažeidimų. Brokuojant kuilį dėl padaugėjusių ejakuliate patologiinių spermatozoidų, kai palpuojant sėklides jų patologija nepastebėta, spermoje nustatoma vyraujanti patologiinių spermatozoidų forma, apibūdinanti patologiinio proceso, vykstančio sėklidėse, dislokaciją ir pobūdį arba konstatuojamas visų patologiinių spermatozoidų formų padaugėjimas, paprastai apibūdinantis sėklidžių ir jų priedų pažeidimą. Pirmuoju atveju kuilių brokavimo priežastys pagal patologijos kilmę skirstomos į tris dalis: spermatozoidai su patologiinėmis galvutėmis (SGP; I.1 grupė), spermatozoidai su patologiinėmis uodegėlėmis (SUP; I.2 grupė) bei visų patologiinių spermatozoidų (BSP) formų padaugėjimas spermoje (I.3 grupė). Spermos ir sėklidžių patologijos atvejis priskiriamas II grupei, išskiriant į atskirą grupę oligospermijos ir ją lydinčio azospermijos atvejus (II.1 grupė). Pateikiama skritulinė diagrama, kurioje pavaizduotas visų kuilių brokavimo priežasčių procentinis pasiskirstymas (1 pav). Kaip matome, dėl

įvairių spermatozoidų patologijų ir sėklidžių pakitimų išbrokuojama pusė visų brokuojamų kuilių, todėl tikslinga iširti faktorius, turinčius didesnę ar mažesnę poveikį šiai brokuojamų kuilių grupei.

Veiksnių, turinčių įtakos kuilių brokavimui dėl

nurodytų priežasčių, analizei pasirinkome keletą svarbesnių, t. y. kuilio amžių ir sezoną spermos pablogėjimo laikotarpiu bei paties kuilio efektą (1 lentelė).



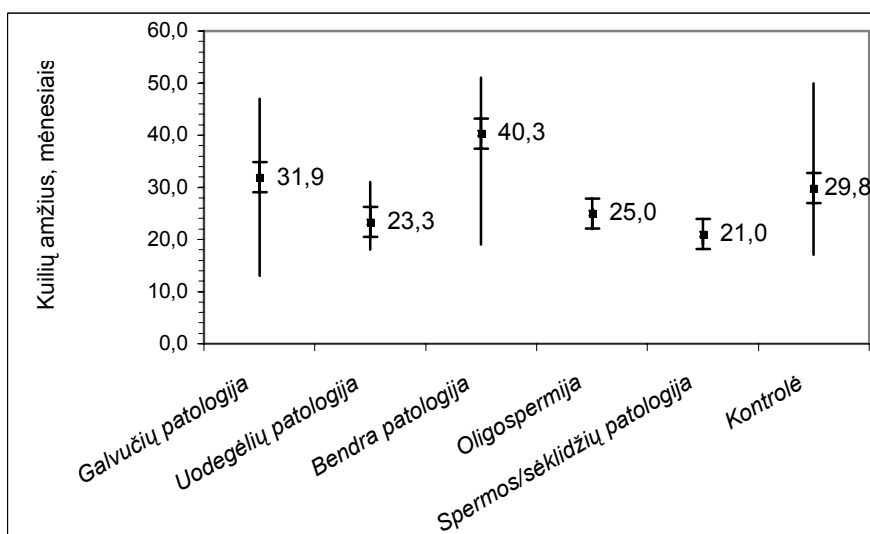
1 pav. Kuilių brokavimo priežasčių procentinis pasiskirstymas

1 lentelė. Veiksnių, turinčių įtakos spermatozoidų bei spermos ir sėklidžių patologijoms, reikšmingumas p (veiksniai tikrinami ir šalinami iš modelio (n), kai $p \leq 0,1$)

Veiksniai	Brokavimo priežastys			
	Spermatozoidų galvučių patologija (I.1 gr.)	Spermatozoidų uodegėlių patologija (I.2 gr.)	Bendra spermos patologija (I.3 gr.)	Spermos ir sėklidžių patologija (II gr.)
Amžius (A)	n	n	0,052	n
Sezonas (S)	n	n	0,001	n
Kuilio efektas (KE)	0,02	0,025	0,0001	0,043

Analizuojant veiksnių įtaką skirtingoms spermos patologijoms nustatyta, kad visoms joms reikšmingas kuilio efektas ($p \leq 0,05$), o bendrai spermos patologijai (II.3 gr.) statistiškai reikšmingi ir kuilio amžiaus bei sezono įtaka ($p \leq 0,052$; $p \leq 0,0001$). Brokuojamų kuilių amžiaus įvairavimas nuo 11 iki 58 mėnesių pateiktas 2

pav. Jaunų kuilių skirtingos brokavimo priežastys pasiskirsto panašiomis proporcijomis kaip ir vyresnių, išskyrus brokavimą dėl bendros spermos patologijos, kai dažniausiai išbrokuojami vyresni kuiliai – amžiaus įtaka šiuo atveju statistiškai reikšminga.

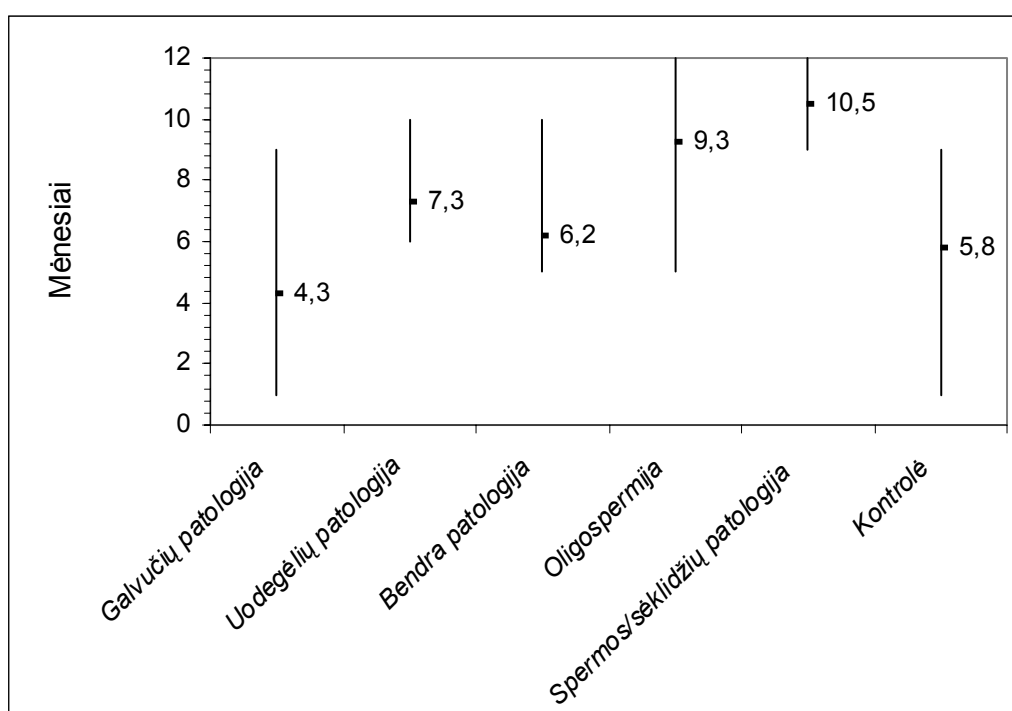


2 pav. Brokuojamų kuilių amžiaus įvairavimas

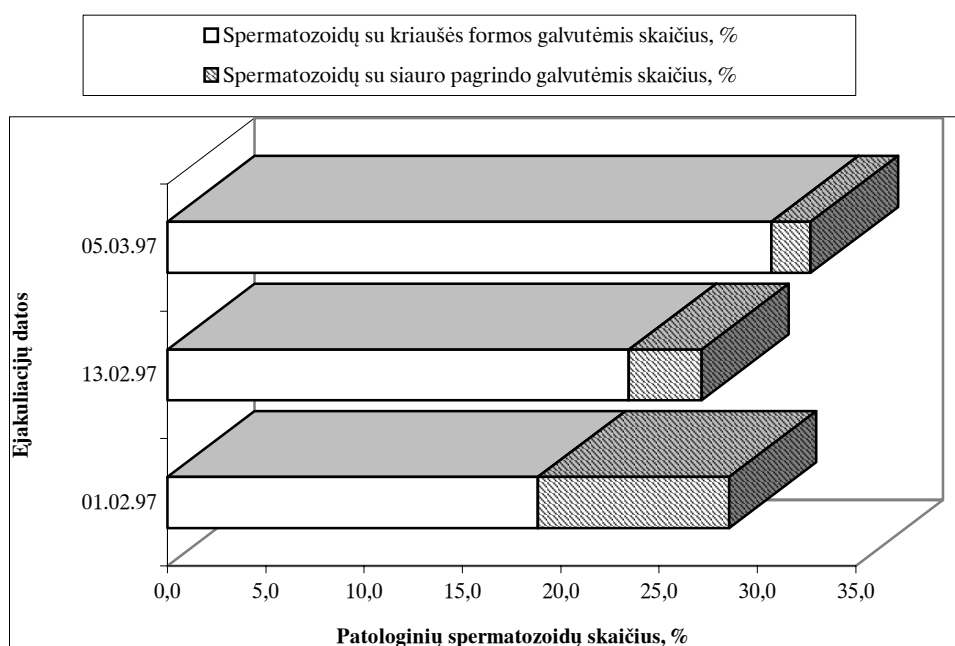
Dėl bendros spermos patologijos kuiliai dažniausiai išbrokuojami vasaros–rudens laikotarpiu (5,0–10,0 mėnesiais; 3 pav.), kai ir gera spermos kokybė išsiskiriančių kuilių ejakuliatuose padaugėja pataloginių spermatozoidų.

Pataloginių spermatozoidų skaičius ir formų įvairovė, nustatyti kuilio spermoje, ne visada tiksliai apibūdina pataloginį procesą sėklidėse, nes spermatozoidų augimas, vystymasis ir brendimas iki ejakuliacijos užtrunka maždaug 39–42 dienas, per kurias pataloginis procesas pasireiškia. Šį paūmėjimą pastebime

tik po keleto ar keliolikos ejakuliacijų, kai jos ir vėl savo eiga būna pralenkę būdingų pataloginių spermatozoidų atsiradimą. Analizuojant brokuojamų kuilių reprodukinius sutrikimus tai ypač akivaizdu, kai lyginamas spermatozoidų su siauro pagrindo ir kriaušės formos galvučių patalogijomis procentinis santykis. Pataloginio proceso pradžioje morfologiškai tiriant spermą spermatozoidų su siauro pagrindo galvutėmis nustatoma daugiau, o spermatozoidų su kriaušės formos galvutėmis – mažiau palyginti su to paties kuilio kitais ejakuliatais ($p \leq 0,05$; 4 pav.).



3 pav. Brokuojamų kuilių spermos kokybės blogėjimo periodas



4 pav. Spermatozoidų s kriaušės formos ir siauro pagrindo galvutėmis kiekio priklausomybė nuo ejakuliacijų datos

Analizuojant kuilių brokavimo priežastis buvo vertinama spermatozoidų morfologija kuilių ejakuliuose ir paskersto gyvulio dešiniajame bei kairiajame antsklidžiuose. Gauti rezultatai parodyti 3 lentelėje.

Išbrokuotų I.1 ir I.3 grupių kuilių ejakuliuose nustatytas didesnis spermatozoidų su pataloginėmis galvutėmis skaičius palyginti su kontrole ($p \leq 0,05$). Spermatozoidų su pataloginėmis galvutėmis skaičius kairiojo antsklidžio uodegėlėje I.1 brokuojamų kuilių grupėje ir kairiojo bei dešiniojo antsklidžio uodegėlėse I.3 brokuojamų kuilių grupėje buvo didesnis nei kontrolės

($p \leq 0,05$). SPGS skaičius dešiniojo antsklidžio uodegėlėje nuo to paties kontrolinio rodiklio statistiškai patikimai nesiskyrė. Statistiškai patikimo skirtumo tarp kairės ir dešinės pusės antsklidžio uodegėlėse nustatytų spermatozoidų su pataloginėmis galvutėmis skaičiaus I.1, I.2 ir I.3 grupėse palyginti su III kontroline grupe nebuvo. Spermatozoidų su pataloginėmis galvutėmis skaičius ejakuliate ir dešinės bei kairės pusės antsklidžio uodegėlėse I.2 grupėje nuo tų pačių kontrolinių rodiklių statistiškai patikimai nesiskyrė.

3 lentelė. Patologinių spermatozoidų pasiskirstymas pagal brokavimo priežastis

Rodikliai	Kuilių brokavimo priežastys					
	Spermatoz. galvučių patologija (I.1 gr.)	Spermatoz. uodegėlių patologija (I.2 gr.)	Bendra spermos patologija (I.3 gr.)	Spermos ir sėklidžių patologija (II gr)	Oligospermija/ azospermija (II.1 gr)	Kontrolė (III gr.)
SKG skaičius ejakuliate, %	9,16±8,10 b	0,75±0,58	13,60±13,45 b	0,55±0,48	0,10±0,11	1,53±0,75 c
SKG dešiniojo antsklidžio uodegėlėje	2,83±0,99	0,06±0,01	3,37±2,18 a	0,19±0,10	0	1,04±0,29 c
SKG kairiojo antsklidžio uodegėlėje	4,45±1,58	0,12±0,05	5,36±3,56 a	0	0	1,29±0,36 c
SSPG skaičius ejakuliate, %	3,75±3,29 b	0,68±0,63	3,13±3,11 b	0,35±0,23	0	0,57±0,29 c
SSPG dešiniojo antsklidžio uodegėlėje	5,91±1,39	0,17±0,05	1,35±0,89	0,27±0,15	0	1,26±0,52
SSPG kairiojo antsklidžio uodegėlėje	6,76±1,62	0	2,93±1,89	0	0	1,09±0,42
DL skaičius ejakuliate, %	7,44±7,31	23,02±18,0 b	28,15±20,78 b	16,50±11,62 b	4,04±2,50	1,85±1,26 c
DL dešiniojo antsklidžio uodegėlėje	25,05±10,58	25,72±11,0	10,84±6,44	37,96±20,50**	0	41,62±27,53
DL kairiojo antsklidžio uodegėlėje	26,29±9,79	26,45±10,70	17,63±8,89	0**	0	39,08±25,12
SPL skaičius ejakuliate, %	4,03±0,55 a	2,10±1,36	24,05±21,21 b	0,53±0,5	2,31±1,25	0,75±0,57 c
PL dešiniojo antsklidžio uodegėlėje	3,75±1,83 a	0,64±1,90	13,03±5,05 b	0,46±0,25	0	0,68±1,40*c
PL kairiojo antsklidžio uodegėlėje	3,17±1,58 a	0,78±2,42	11,18±3,91 b	0	0	2,22±0,98*c
VDP≤ skaičius ejakuliate, %	1,98±1,64	1,23±1,14	4,72±4,00 a	1,06±1,0	0,53±0,5	0,89±0,74 c
VDP≤ dešiniojo antsklidžio uodegėlėje	0,79±0,41	0,57±0,21	1,97±0,88*	0	0	0,78±0,38
VDP≤ kairiojo antsklidžio uodegėlėje	0,49±0,20	0,92±0,35	8,68±2,27*b	0	0	0,50±0,22 c
SU skaičius ejakuliate, %	4,29±4,20	38,69±31,35 b	10,27±5,20 a	20,0±4,95 b	1,85±1,0	4,09±2,40 c
SU dešiniojo antsklidžio uodegėlėje	1,73±0,58	8,28±2,21*	1,54±0,77	0	0	0,82±0,29
SU kairiojo antsklidžio uodegėlėje	3,45±0,69	1,16±0,41*	26,69±7,286 b	2,699±1,25	0	0,54±0,21 c

Tame pačiame rodiklyje skirtumas tarp a ir c patikimas, kai $p \leq 0,05$; tarp b ir c patikimas, kai $p \leq 0,01$; skirtumas tarp dešiniojo ir kairiojo antsklidžio pataloginių spermatozoidų patikimas, kai $p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**).

Spermatozoidų su pataloginėmis uodegėlėmis skaičius (SPUS) ejakuliuose I.2 ir I.3 grupėse yra didesnis nei I.1 ir III kontrolinėje grupėse ($p \leq 0,01$), dešinės ir kairės pusės antsklidžiuose SPUS I.2 ir I.3 grupėse taip pat didesnis nei kontrolinėje (atitinkamai $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$). Skirtumas tarp kairės ir dešinės pusės antsklidžių uodegėlėse nustatytų spermatozoidų su pataloginėmis uodegėlėmis skaičiaus vidurkis statistiškai nepatikimas visose grupėse, išskyrus I.3, kur SPUS dešinėsios sėklidės antsklidžio uodegėlėje didesnis nei

kairiosios ($p \leq 0,05$).

Morfologiškai tiriant ejakuliuotus ir iš dešinėsios ir kairiosios sėklidžių antsklidžių spermatozoidus I.3 grupėje nustatytas ir kitų pataloginių spermatozoidų formų padaugėjimas. Palyginti su kontroline grupe spermatozoidų su proksimaliniais bei distaliniais lašeliais, susisukusiomis uodegėlėmis, spermatozoidų su vidurinės dalies pažeidimais I.3 brokuojamų kuilių grupėje nustatoma daugiau ($p \leq 0,001$). Vertinant pataloginius spermatozoidus ejakuliate ir antsklidžiuose I.2 grupėje

nustatytas didesnis spermatozoidų su distaliniais lašeliais ir susisukusiomis uodegėlėmis skaičius ($p \leq 0,05$) palyginti su kontroline ir su I.1 brokuojamų kuilių grupėmis.

Histologiškai tiriant sėklides I.1, I.2 ir I.3 grupių rezultatai panašesni, nei morfologiškai tiriant spermatozoidus. Šių brokuojamų grupių kuilių sėklidėse nustatytas intersticinio audinio uždegimas ir silpno arba vidutinio (brokuojant kuilius bendros spermos patologijos atvejais – I.3 grupė) laipsnio sėklinių kanalėlių degeneracija. Silpnos germinatyvinių laštelių degeneracijos atveju pavieniai sėkliniai kanalėliai prisipildę bazofilinės masės, kai kurie jų vakuolėti, juose mažai spermatidžių, bazinė membrana sustorėjusi, prie jos pastebimi pavieniai makrofaagai. Intersticinio audinio uždegimo su vidutinio laipsnio sėklinių kanalėlių degeneraciniais procesais atveju histologiškai nustatytas sustorėjęs sėklidės balzganasis dangalas. Jį sudaro fibrozinis jungiamasis audinys, kurio pertvaros išsiskverbia į sėklidės parenchimą (du atvejai iš visų analizuotų). Sėklinių kanalėlių grupelės degeneravusios, jų epitelis vakuolėtas. Vietomis nustatyta degeneravusių Sertolio laštelių ir spermatogonijų kariolizė ar kariopiknozė. Bazinė membrana sustorėjusi.

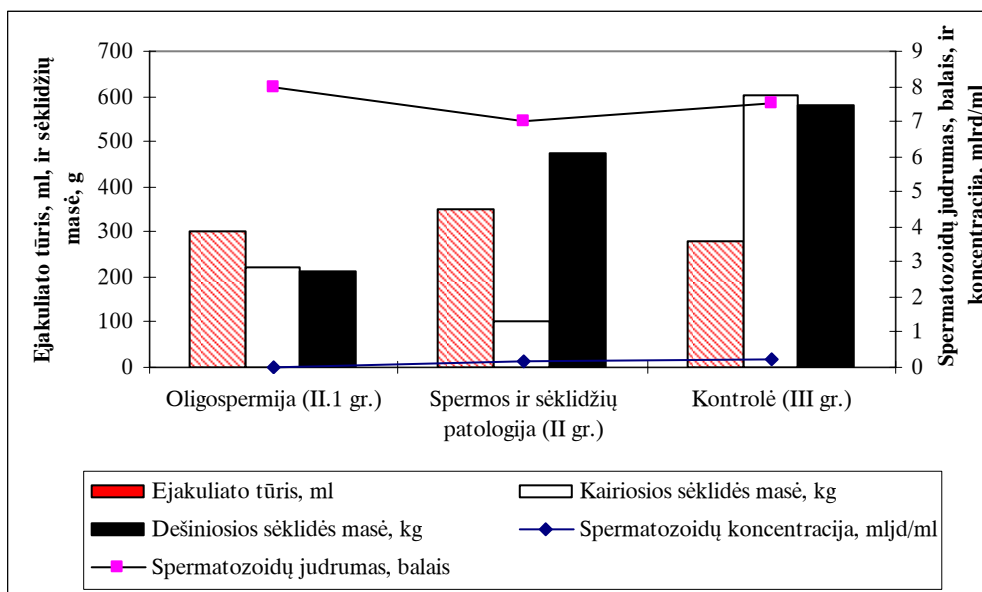
Esant minėtoms brokavimo priežastims, apie 30% tirtų kuilių histologinis dešinėsios ir kairiosios sėklidžių vaizdas nėra identiškas. Tą patvirtina ir nevienodas dešinės bei kairės pusės antsėklidžių uodegėlėse esančių patologiinių spermatozoidų pasiskirstymas. Tiek silpna,

tiek vidutinio laipsnio degeneracija pasitaiko ir dešiniojoje ir kairiojoje sėklidėse, tačiau mūsų tyrimų metu dažniau (8 atvejai iš 10) pažeista kairės pusės sėklidė arba joje nustatomos sunkesnės patologijos.

Histologiškai analizuojant I grupės brokuotų kuilių antsėklidžius nustatyti pakitimai nėra vienodi. Apie 80% I.1 ir I.2 grupės tirtų antsėklidžių nustatyta prizminių laštelių hiperplazija, kai kuriuose antsėklidžio kanalėliuose pastebėta degeneracija, pavieniuose kanalėliuose laštelių deskvamacija į spindį, stromos fibrozė. Spermatozoidų uodegėlių patologijos atveju antsėklidžiuose patologiinių pakitimų nebuvo.

Analizuojant testosterono tyrimo kraujo serume duomenis, spermatozoidų galvučių, uodegėlių ir bendros spermos patologijos atveju tarp testosterono vidurkių statistiškai patikimo skirtumo su tuo pačiu kontroliniu rodikliu nėra (2 lentelė).

Spermos ir sėklidžių patologijos atvejais (II grupė) dažniausiai pažeidžiama tik vienos pusės sėklidė, rečiau – abiejų pusių sėklidės (1 atvejis iš 4 tirtų). Kai pažeidžiamos ir dešinioji, ir kairioji sėklidės, ejakulato tyrimo metu nustatoma oligospermija (palaiptu pereinanti į azospermiją; II.1 grupė), spermatozoidų koncentracija šiuo atveju palyginti su kontroline grupe labai maža ($p \leq 0,001$). Palpuojant sėklidės mažos, minkštos konsistencijos, mažesnės masės nei kontrolinės ($p \leq 0,001$). Ejakulato tūris ir spermatozoidų judrumas šiuo atveju palyginti su kontroline grupe išlieka statistiškai patikimai nepakitę (5 pav.).



5 pav. Ejakulato tūris, sėklidžių masė, spermatozoidų koncentracija ir judrumas pagal brokavimo priežastis

Tiriant spermatozoidų morfologiją II.3 brokuojamų kuilių grupėje statistiškai patikimo skirtumo su kontroliniais pavyzdžiais nebuvo, o dešinės ir kairės pusės antsėklidžių uodegėlėse nustatytų patologiinių spermatozoidų skaičius yra per mažas, kad galima būtų gauti statistiškai patikimus rezultatus. Analizuojant testosterono kiekį kraujyje, II.1 grupėje nustatytas statistiškai patikimai mažesnis jo kiekis palyginti su kontroliniais pavyzdžiais ($p \leq 0,005$; 2 lentelė).

II brokuojamų kuilių grupėje, esant vienos pusės sėklidės pažeidimui, ET, SK ir SJ rodikliai nuo tų pačių kontrolės rodiklių skiriasi statistiškai nepatikimai. Patologijos ir kontrolės atvejais lyginant sėklidžių svorį nustatyta, kad pažeistos pusės sėklidė sveria mažiau ($p \leq 0,001$) nei tos pačios pusės kontrolinė (3 lentelė). Tiriant spermą morfologiškai, SSP atveju nustatytas didelis spermatozoidų su patologiinėmis galvutėmis ir patologiinėmis uodegėlėmis skaičius ejakuliate ir dešinės

pusės sėklidės antseklidžio uodegėlėje ($p \leq 0,05$).

Kairės pusės antseklidžio uodegėlėje patologinių spermatozoidų per mažai, kad lyginant su kontrole būtų gauti statistiškai patikimi skirtumai. Spermos ir sėklidžių patologijos atveju šviežios spermos tepinėliuose rasta ir pašalinių ląstelių – nemažai limfocitų, kai kuriais atvejais – pavienių leukocitų.

Histologinio pažeistos sėklidės tyrimo metu nustatytas intersticinis nepūlinis orchitas su visiška sėklinių kanalėlių degeneracija ir nekroze. Sėklidės balzganąjį dangalą sudaro fibrozinis jungiamasis audinys, kurio storos trabekulės dalina sėklidės parenchimą į skiltis. Tiriamajame pavyzdyje visas intersticinis audinys užsipildęs limfocitais, makrofagais bei jaunomis jungiamojo audinio ląstelėmis. Sėkliniai kanalėliai labai įvairaus dydžio, netaisyklingos formos, daugumos jų ribos neryškios, spindyje matomos tik pavienės lytinės ląstelės arba jų visai nėra, kai kurie iš jų užsipildę limfocitais, dalies kanalėlių spindyje aiškiai matomi rudai nusidažę, panašūs į hemosideriną, grūdėliai. Visi sėkliniai kanalėliai degeneravęsi, pastebima daug irstančių ląstelių. Nustatyta pavienių Leidigo ląstelių ar jų grupių degeneracija. Kanalėlių bazinės membranos sustorėjusios, hialinizavęsi.

Antseklidžių tiriant histologiškai nustatyta pavienių jų kanalėlių degeneracija, audinio stromos fibrozė. Antseklidžio kanalėlių prizminės ląstelės hiperplazavęsi, vietomis pastebima jų deskvamacija į spindį.

Spermos ir sėklidžių patologijos atveju sėklidėse, kuriose vizualiai pakitimų nepastebėta, histologiškai tiriant nustatyti silpno ar vidutinio laipsnio degeneraciniai pokyčiai. Spermos ir sėklidžių patologijos atveju išbrokuotų kuilių kraujyje nustatytas testosterono kiekis nuo kontrolinių kuilių to paties rodiklio statistiškai patikimai nesiskyrė (2 lentelė).

Aptarimas. Analizuojant tyrimų duomenis nustatyta, kad pagrindinis veiksnys, turėjęs įtakos kuilių brokavimui dėl spermatozoidų uodegėlių, galvučių, spermos ir sėklidžių patologijos, yra atskiras kuilys. Tai patvirtina ir literatūros šaltiniai, kur pažymima, kad nė vienas veiksnys, bloginantis spermos kokybę - kuilio amžius (Williams, 1993), vasaros laikotarpis (karščio stresas – Briz et al., 1996; Pinart et al., 1998), šėrimo paklaidos (Rotkiewicz et al., 1997; Walgren et al., 1997; Ten et al., 1997) – neturi lemiamos įtakos smarkiam spermos ir spermatozoidų kokybės pablogėjimui bei sėklidžių patologijos vystymuisi. Čia svarbiausia kuilio įtaka – predisponuota genetiškai, paveikta gyvulio ligotumo ar kitų vidinių veiksnių.

Bendros spermos patologijos atveju (I.3) visų patologiškai pakitusių spermatozoidų formų skaičius ejakuliate ir antseklidžiuose padidėja palyginti su kontrole ($p \leq 0,05$). Šiam brokavimo atvejui svarbu ne tik atskiras kuilys, bet ir jo amžius bei sezonas ($p \leq 0,05$) – šiuo atveju pastebimas bendras keleto faktorių veikimas.

Histologiškai tiriant išbrokuotų kuilių sėklides, nustatytas intersticinis orchitas ir silpna (spermatozoidų uodegėlių bei galvučių patologijos atveju) bei vidutinė (bendros spermos patologijos atveju) sėklinių kanalėlių degeneracija. Antseklidžiuose histologiniai pakitimai nepastebimi. Nors literatūroje nurodama, kad patologinių spermatozoidų tipas apibūdina patologijos kilmę (Morrow, 1986), šiuo atveju spermatozoidų uodegėlių

patologija išsivysto spermatozoidų judėjimo antseklidžiu metu, tačiau taip pat teigiama, kad jis retai esti patognominis tam tikroms pataloginėms būsenoms. Iš tyrimų rezultatų matome, kad kuilių brokavimo dėl spermatozoidų uodegėlių patologijos atveju histologiškai tiriant nustatyta sėklinių kanalėlių degeneracija, o antseklidžiuose pakitimų nerasta. Gali būti, kad pažeidimas vyksta molekulinio lygiu ir histologiškai nėra pastebimas.

Dėl spermos ir sėklidžių patologijos išskirta atskira brokavimo priežastis – oligospermija. Jos atveju sėklidės mažos, glebios, mažesnio svorio nei kontrolinės, spermatozoidų koncentracija spermoje labai maža, o ejakuliatu tūris ir spermatozoidų judrumas išlieka nepakitę. Patologinių spermatozoidų šiuo atveju nedaug ir ejakuliatuose, ir antseklidžiuose, tačiau dėl mažo jų skaičiaus nustatyti patikimo skirtumo su kontroline grupe neįmanoma. Testosterono kiekis kraujyje oligospermijos atveju mažesnis nei kontrolinių pavyzdžių ($p \leq 0,005$), spermoje randama nemažai limfocitų ir pavienių leukocitų. Literatūroje aprašomi senatviniai sėklidžių audinio pakitimai, panašūs į mūsų nustatytus, pasireiškiantys sėklidžių audinio degeneracija ir sumažėjusiu testosterono kiekiu (Richardson et al., 1995; Wright et al., 1993; Umopathy et al., 1997; Zirkin et al., 1993; Chen et al., 1994; Kleinman et al., 1993; Timpl, 1993). Nustatyta, kad testosterono mažėjimas nėra susijęs su germinatyvinių ląstelių atrofija ar jų degeneracija. Jis siejasi su Leidigo ląstelių pažeidimu, jų tūrio mažėjimu (Chen et al., 1994), kartu ir su sumažėjusia testosterono gamyba ir išskyrimu.

Mūsų histologinių tyrimų metu pažeistose sėklidėse nustatomas intersticinis nepūlinis orchitas su visiška sėklinių kanalėlių degeneracija ir nekroze. Priešprie nustatyta pavienių kanalėlių degeneracija, židininė stromos fibrozė, prizminių ląstelių hiperplazija. Histologinio tyrimo metu nustačius židininę fibrozę, patvirtinama jau sėklidės palpacijos metu nustatyta hipoplazija, o sėklidės atrofija atmetama. Tą patvirtina ir literatūros šaltiniai (Ohashi, Vale, 1992).

Literatūra

1. Briz M. D., Bonet S., Pinart B., Camps R. Sperm malformations throughout the boar epididymal duct // *Animal Reproduction Science*, 1996. N. 43. P.221–239.
2. Chen H., Hardy M. P., Huntaniemy I., Zirkin B. R. Age-related decreased Leydig cell testosterone production in the brown Norway rat // *Journal of Andrology*, 1994. N. 6. P. 551–557.
3. Foldsy R. G., Bedford J. M. Biology of the scrotum: I. Temperature and androgen as determinants of the sperm storage capacity of the rat cauda epididymidis // *Biology of the Reproduction*, 1982. N. 26. P. 673.
4. Glantz S. A. Mediko-biologinės statistika. Moskva, Praktika, 1999. S. 459.
5. Hancock J. L. The morphology of boar spermatozoa // *J Roy Microscopy Soc*, 1956. N. 76. P. 84–97.
6. Holst S. J. Sterility in boars // *Nord. Vet. Med.*, 1949. T. 1. N. 2. P. 87.
7. Houszka M., Dubiel A., Stanczyk J. Morphological changes in the testis and epididymis of old sterile boars // *Medycyna Weterinarnyjna*, 1988. N. 44:6. P. 372–375.
8. Kleinman H. K., Weeks B. S., Schnaper H. W., Kibbey M. C., Yamamura K., Grant D. S. The laminins: a family of basement membrane glykoproteins important in cell differentiation and tumor metastases // *Vitam Horm.*, 1993. N. 47. P. 161–186.
9. Kublickienė O. Histologinė technika ir praktinė histochemija. V., 1979.
10. Lagerlof N. Morphologische Untersuchungen uber

- Veränderungen in Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit Verminderten oder aufgehobener Fertilität // *Acta Path. et Microbiol. Scand. Suppl.* 19, 1934.
11. Larsson K., Darenius K., Johansson K. Sperm morphology and *in vitro* viability in diluted semen in relation to fertility of AI boars // *Nordisk Veterinärmedicin*, 1980. T. 32:12. P. 533–542.
12. Morrow D. A. Current therapy in theriogenology. 1986 by W. B. Saunders Company.
13. Noguchi J., Yoshida M., Ikadai H., Immamichi T., Watanabe G., Taya K. Age-related changes in blood concentrations of FSH, LH and testosterone and testicular morphology in a new rat sterile mutant with hereditary aspermia // *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993. N. 97. P. 433–439.
14. Ohashi O. M., Vale M. G. Disturb of testicular development in bufaloes: hypoplasia and aplasia of testis / 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands, August 23rd -27th, 1992. T. 3. P. 1737–1739.
15. Papanicolaou G. N. A new procedure for staining vaginal smears // *Science*, 1942. T. 95. N. 2469. P. 438–439.
16. Pinart E., Camps R., Briz M. D., Bonet S., Egozcue J. Unilateral spontaneous abdominal cryptorchidism: structural and ultrastructural study of sperm morphology // *Animal Reproduction Science*, 1998. T. 29. P. 247–268.
17. Portela A., Illera J.C., Silvan G., Lorenzo P., Illera M.J., Illera M. Effect of temperature on plasmatic steroid levels in gerbil and their relation with the reproductive capacity // 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands, August 23rd -27th, 1992. T. 3. P. 617–1619.
18. Richardson L. L., Kleinman H. K., Dym M. The effect of aging on basement membrane in the testis // *Journal of Andrology*, 1995. T. 16. N. 2. P. 118–126.
19. Rodkiewicz T., Bomba G., Falkowski J., Glogowski J., Kozera W., Kozłowski M. Studies on longterm use of rapeseed products in diets for boars. Pathomorphological changes in the reproductive system, liver and thyroid gland // 1997. T. 2. N. 3. P. 235–243.
20. Setchell B. P. The mammalian testis // Cornell Univ. press, Ithaca, N. Y, 14850, 1978. P. 359–432.
21. Stone B. A. Heat induced infertility in boars // *Animal Reproduction Science*, 1981/82. N. 4. P. 283.
22. Ten J., Vendrell F. J., Cano A., Tarin J. J. Dietary antioxidant supplementation did not affect declining sperm function with age in the mouse but did increase head abnormalities and reduced sperm production // *Reproduction, Nutrition and Development*, 1997. N. 37. P. 481–492.
23. Tenover L. Testosterone and the Aging Male // *Journal of Andrology*, 1997. N. 2. P. 103–106.
24. Timpl R. Proteoglycans of basement membranes // *Experientia*, 1993. N. 49. P. 417–428.
25. Umapathy E., Makinde M. O., Mandisodza K. T. Effect of castration on serum concentrations of gonadal hormones, insulin-like growth factor-1 and its binding proteins in male pigs // *Reproduction, Nutrition and Development*, 1997. N. 37. P. 541–549.
26. Vilagomez D. A. F., Gustavsson I., Alabay B., Ploen L. Meiotic chromosome asynapsis in a boar with a reciprocal translocation and acquired testicular degeneration // *Hereditas-Landskrona*, 1993. N. 118. P. 101–111.
27. Zirkin B. R., Santulli R., Strandberg J. D., Wright W. W., Ewing L. L., Testicular steroidogenesis in the aging brown Norway rat // *Journal of Andrology*, 1993. T. 14. N. 2. P. 118–123.
28. Waberski D., Dirksen G., Weitze K. F. Effect of semen quality on fertility results of stored liquid boars semen - A field trial // *Reproduction of Domestic Animal*, 1991. N. 1. P. 375–377.
29. Waberski D., Weitze K. F., Gleumes T., Schwarz M., Willmen T., Petzoldt R. Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen // *Theriogenology*, 1994. N. 42. P. 831–840.
30. Waberski D., Weitze K. F., Lietmann C., Lbert zur Lage, Bortolozzo F. P., Willmen T., Petzoldt R. The initial fertilising capacity of longterm-stored liquid boar semen following pre- and postovulatory insemination // *Theriogenology*, 1994. N. 41. P. 1367–1377.
31. Wallgren M., Kindahl H., RodriqueMartinez H. Alteration in testicular function after endotoxin injection in the boar // *International Journal of Andrology*, 1993. N. 16. P. 235–243.
32. Wettemann R. P., Wells M. E., Johnson R. K. Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature // *Journal of Animal Science*, 1979. T. 49:6. P. 1501–1505.
33. Williams W. W., Savage A. Observations on the seminal micropathology of bulls // *Cornell Vet*, 1925. N. 15. P. 353–375.
34. Woelders H. Overview of *in vitro* methods for evaluation of semen quality / Proc 2nd Int Conf Boar Semen Preservation, 1990. P. 145–164.
35. Wright W. W., Fiore C., Zirkin B. R. The effect of aging on the seminiferous epithelium of the brown Norway rat // *Journal of Andrology*, 1993. T. 14. N. 2. P. 110–117.