

Передбачуваний винахід відноситься до галузі експериментальної медицини, а саме до андрології і пов'язаний з проблемою отримання достатньої кількості зрілих сперматозоїдів у дрібних експериментальних тварин для подальшого дослідження їх функціонального, морфологічного та біохімічного стану.

Відомий спосіб отримання сперми шляхом її накопичення в презервативі під час статевого акту, або мастурбації. Для дослідження сперматозоїдів сперму центрифугують. Із осаду готують мазки для морфологічних та цитохімічних досліджень сперматозоїдів. (М.А. Базарнова и соавт. Цитохимические методы исследования спермы //Лаб. дело. - 1987. - №8. - с.604-606). Спосіб розрахований на досить великих ссавців, в тому числі і чоловіків. Недоліком способу є те, що він не може бути вжитий у дрібних лабораторних ссавців з технічних причин і в зв'язку з тим, що еякулята у дрібних тварин (мишей, щурів) буває дуже мало по об'єму для повноцінного цитологічного та біохімічного дослідження.

Відомий спосіб отримання сперматозоїдів та сперматозоїдів для їх дослідження у експериментальних тварин, в тому числі дрібних. Спосіб передбачає видалення сім'яників і придатків, їх фіксацію нейтральним формаліном, виготовлення пошарових гістологічних зрізів з різних відділків гонад. Гістологічні препарати фарбують спеціальними фарбами. При мікроскопічному вивченні препаратів підраховують кількість сперматозоїдів та сперматозоїдів, їх морфологічний та цитохімічний стан (Т.М. Зеленская, Г.И. Ходоровский Половые железы и иммунитет. Киев: Наукова думка. - 1993. - с.5-11). Недоліками способу є його трудоємність, неможливість вивчення функціонального стану (рухливості) сперматозоїдів. Недоліком способу є також те, що досліджують і підраховують тільки малу частину сперматозоїдів, які попали в тонкий шар гістологічних препаратів. Визначення загальної кількості сперматозоїдів в гонадах за таких умов має великі розбіжності.

Найбільш близьким до заявлюваного способу є спосіб отримання сперматогенних клітин і сперматозоїдів шляхом виготовлення фарбованого клітинного гомогенату із паренхіми сім'яників та придатків з подальшим цитоморфологічним вивченням сперматогенезу в мазках клітинного гомогенату. Згідно даного способу у дрібних ссавців проводять лапаротомію, видаляють сім'яники з придатками, паренхіму сім'яників та придатка звільняють від білкової оболонки. Проводять гомогенізацію паренхіми сім'яника та придатка, визначають її об'єм. Потім в гомогенат додають 1% розчин генціанового фіолетового загальним об'ємом до 10мл. Одну частину суміші набирають у лейкоцитарний меланжер, заповнюють камеру Горяєва і підраховують кількість клітин в камері загальноприйнятим методом. Визначають кількість сперматозоїдів у тварини з перерахуванням на ступінь розчинення їх та загальний об'єм суміші. З другої частиною гомогенату проводять цитологічні та біохімічні дослідження (Ю.В. Иванов. Ускоренные методы изучения гонадотоксического действия веществ // Гигиена и санитария. - 1990. - №1. - с.72-74). Недоліками способу є те, що молоді та зрілі форми сперматозоїдів змішані в один гомогенат, тому провести ізольоване вивчення біохімічного стану лише зрілих сперматозоїдів неможливо. Кількість зрілих сперматозоїдів в гомогенаті складає приблизно 10,0%, що є недостатнім для їх дослідження.

В основу винаходу поставлено завдання створити спосіб отримання достатньої кількості зрілих сперматозоїдів у дрібних лабораторних тварин (щурів, мишей) для можливості більш детального дослідження їх функціонального, морфологічного та біохімічного стану.

Поставлене завдання досягається створенням способу накопичення і отримання зрілих сперматозоїдів у дрібних лабораторних ссавців для їх подальшого дослідження, що включає виготовлення клітинних гомогенатів із гонад, клітинний гомогенат готують не з сім'яників, а тільки придатків та вмісту сім'явиносячих проток, які попередньо за 3-6 днів до їх видалення (на час запліднення самок) перев'язують в дистальному відділі.

Спосіб здійснюють наступним чином. У дорослих дрібних ссавців (щурів, мишей), за 3-6 днів до отримання сперматозоїдів та їх дослідження, виконують перев'язку однієї із двох сім'явиносячих проток. Далі тварин зсаджують з самками: щурів - 6 днів; мишей - 3 дні. Після запліднення самок, щурів-самців виводять з експерименту, розтинають стінку живота, видаляють придаток гонади та сім'явиносячу протоку, яку раніше перев'язали. Проводять їх гомогенізацію, в отриманій суміші досліджують зрілі сперматозоїди. Їх буває значно більш (до 60% від загальної кількості, або до 25млн на 1 придаток та сім'явиносячу протоку проти 10% або $10,03 \pm 1,14$ млн кліток на сім'яник та придаток за способом Ю.В. Иванова) (В.П. Мамина, Д.И. Семенов. Метод определения количества сперматогенных клеток семенника в клеточной суспензии // Цитология, 1976. - т.18, №7. - с. 913-914). Порівняльне дослідження функціональних, морфологічних та біохімічних показників правого та лівого сім'яників показало, що значення цих показників не відрізняються один від одного. Тобто затримка еякуляції сперматозоїдів із сім'явиносячої протоки на 3-6 днів не впливає на стан сперматозоїдів.

Приклади конкретного використання способу.

1. Щурам-самцям (10) після проведення експерименту (дії екзотоксикантів, іонізуючого випромінювання) під наркозом проводимо лапаротомію, перев'язку однієї із двох сім'явиносячих проток. Рану передньої стінки живота зашивають одним - двома швами. На наступний день кожного щура-самця підсаджують до двох самок на період їх запліднення (в середньому 6 днів). Після цього щурів-самців виводимо з експерименту шляхом зміщення шийних хребців під наркозом. Тварин розтинаємо по середній лінії. Видаляємо окремо правий та лівий сім'яники з придатками та сім'явиносячими протоками. Відділяємо придаток з перев'язаною сім'явиносячою протокою від гонади і переносимо їх в бюкс, зважуємо, вагу порівнюємо із придатком протилежної сторони. Знімаємо лігатуру з протоки, вичавлюємо з її просвіту вміст - переважно зрілі сперматозоїди. Оболонки придатка та протоки видаляємо. Паренхіму придатку гомогенізуємо. Отриману суміш клітин розводимо в 10-100 раз в залежності від умов подальшого дослідження - функціонального (рухомість), морфологічного та біохімічного стану сперматозоїдів. Кількості зрілих сперматозоїдів в усіх випадках було достатньо.

2. Мишам-самцям (10), після проведення експерименту під наркозом проводимо перев'язку правої або лівої сім'явиносячої протоки. Рану передньої стінки живота зашиваємо одним швом. Наступного дня кожного мишу-самця підсаджують до двох самок на 3-4 дні. Потім мишей-самців виводимо з експерименту шляхом зміщення шийних хребців під наркозом. Тварин розтинаємо по середній лінії. Видаляємо придатки, праву і ліву сім'явиносячі протоки. Вичавлюємо із просвіту сім'явиносячих проток їх вміст - переважно зрілі сперматозоїди. Оболонки придатків гонад видаляємо. Із паренхіми обох придатків робимо гомогенат в який додаємо вміст сім'явиносячих проток. Отриману суміш клітин розводимо в 100 разів для подальшого дослідження. Кількість зрілих сперматозоїдів в гомогенаті з двох придатків та сім'явиносячих проток буває, як правило, достатньою для проведення подальших функціональних, морфологічних та біохімічних досліджень сперматозоїдів.