

MILDRONĀTA IEDARBĪBA UZ KUIĻU SĒKLINIEKU MORFOLOĢIJU PĒC SAIMNIECISKĀS VAISLAS GATAVĪBAS SASNIEGŠANAS

THE INFLUENCE OF MILDRONATE ON MORPHOLOGY OF BOARS TESTES AFTER REACHING THE BREEDING PREPAREDNESS

Alberts Auzāns¹, Zigmunds Brūveris¹, Jāzeps Rimeicāns¹, Vita Antāne¹, Māra Mangale¹, Aleksandrs Mednis¹, Ivars Lūsis¹, Ilmārs Stonāns²

¹ LLU Veterinārmedicīnas fakultāte, Latvija

Faculty of Veterinary Medicine, LUA, Latvia

² AS Grindeks

ABSTRACT

The aim of the study was to estimate the influence of preparation Mildronate (Quaterin, Meldonium) on morphology of boars' testes after reaching the breeding preparedness. Mildronate was developed by the Institute of Organic Synthesis of Latvian Academy of Sciences. Two groups (control and experimental) of boars were used to achieve the task of the research. Each group of 6 animals were kept and fed at the same circumstances. Preparatory period lasted from weaning (21-28 day) until they reached the puberty and then the training of boars for collection of semen was started. Experimental period started two month later when the boars had reached the breeding preparedness. The boars of experimental group daily got orally 2,0 g of Mildronate 60 days. Animals both control and experimental groups on a regular basis were tested for health status as well as the blood and semen samples where taken. At the end of the experiment both groups of boars were euthanized following the study of testes (mass,volume) as well as histological research.

Analysis of studies showed in boar's testes of the experimental group there was tendency of increase of testes mass and volume. Histological studies showed an increase the thickness of spermatogeny epithelium and considerably more interstitial glandulocytes (Leydig cells) in comparison with the animals of the control group.

KEY WORDS: mildronate, boars, testes, morphometry, histology.

IEVADS

Postnatālajā ontogēnēzē turpinās sēklinieku augšanas un nobriešanas procesi. Šajā laikā ievērojami palielinās sēklinieku masa, kā arī notiek stromas un parenhīmas tālāki diferenciācijas procesi. Ņemot vērā, ka Latvijas Zinātņu akadēmijas Organiskās sintēzes institūtā sintezētais preparāts Mildronāts (Kvaterīns, Meldonijs) darbojas kā šūnu augšanas stimulators un pozitīvi ietekmē kā aminoskābju, tā arī enerģētisko vielmaiņu (4,7,8,9), izvirzījām uzdevumu noskaidrot, kā šis preparāts ietekmē sēklinieku morfofunkcionālo stāvokli kuiļu postnatālās attīstības periodā pēc saimnieciskās vaislas gatavības sasniegšanas. Vienlaicīgi tika kontrolēti arī kuiļu asins bioķīmiskie rādītāji, seksuālā funkcija un spermas kvalitāte.*

* Asins bioķīmiskās izmaiņas, kuiļu seksuālā aktivitāte un spermas kvalitāte tiks apskatīta atsevišķās publikācijās.

MATERIALS UN METODIKA

Pētījuma veikšanai no nosacīti analogiem kuilīšiem tika komplektēta eksperimentālā un kontroles grupa, ar aprēķinu, lai, uzsākot preparāta izbarošanu, katrā no tām būtu ne mazāk kā 6 dzīvnieki. Pētījums sastāvēja no diviem periodiem – sagatavošanas un eksperimentālā. Sagatavošanas periods ilga no sīvēnu atšķiršanas (21-28 dienu vec.) līdz fizioloģiskās vaislas gatavības iestāšanās laikam un kuilīšu pieradināšanai atdot spermu uz fantoma. Sākot kuiļu apmācības periodu, tie tika izvietoti atsevišķos aizgaldos. Eksperimentālais periods sākās pēc tam, kad kuiļi bija apmācīti atdot spermu uz fantoma un tiem bija iestājusies saimnieciskā vaislas gatavība (248-279 dienu vecumā). Eksperimentālās grupas kuiļi, sākot ar 280 dienu vecumu saņēma 2,0 g Mildronātu vienu reizi dienā, sajauktu kopā ar sauju sausās barības 60 dienas ilgi. Preparāta izbarošana tika veikta individuāli katram dzīvniekam un stingri sekots, lai tie saņemtu paredzēto devu. Kontroles grupas kuiļi preparātu nesaņēma. Eksperimentālā perioda laikā reizi mēnesī abu grupu kuiļi tika svērti, un noteikti hematoloģiskie un bioķīmiskie rādītāji. Eksperimentālā perioda beigās kuiļi eitanazēti. Izņemtiem sēkliniekiem noteikta masa un tilpums, kā arī veikta histoloģiskā izmeklēšana. Histoloģiskie izmeklējumi veiktizdarīti Rīgas P. Stradiņa Medicīnas akadēmijas Patoloģijas institūtā.

PĒTĪJUMU REZULTĀTI UN DISKUSIJA

SĒKLINIEKU MORFOMETRIJA

Labā un kreisā sēklinieka svēršanas un tilpuma noteikšanas rezultāti atspoguļoti 1. tabulā. To analīze rāda, ka eksperimentālās grupas dzīvnieku kā labo tā kreiso sēklinieku vidējā masa ir lielāka, salīdzinot ar kontroles grupas kuiļu sēkliniekiem (eksperimentālajai grupai attiecīgi 432.6 g un 440.8 g, bet kontroles grupai – 406.0 un 422.0 g). Abās grupās kreisais sēklinieks svēra vairāk. Arī sēklinieku vidējie tilpumi eksperimentālās grupas kuiļiem ir lielāki. Eksperimentālās grupas kuiļu labā sēklinieka vidējais tilpums sastāda 414 ml un kreisais 420 ml, bet kontroles grupā – labais sēklinieks ir tikai 378.0 ml, bet kreisais – 384 ml liels. Atšķirības nav statistiski ticamas, tomēr kā sēklinieku masas, tā tilpuma palielināšanās tendence vērojama.

Kā redzams 1. att., eksperimentālās grupas kuiļu sēklinieku masas un tilpuma rādītāji ir izlīdzinātāki, jo uzrāda mazākas individuālās svārstības.

Sēklinieku izmēru – masas un tilpuma palielināšanās, ņemot vērā literatūrā satopamos datus (2.5), ļauj prognozēt, ka arī spermas apjoms eksperimentālās grupas kuiļiem būs augstāks, jo P. L. Senger (6) skaidri norāda, ka pastāv cieša pozitīva korelācija starp sēklinieku lielumu un to spēju producēt spermu.

Sēklinieku morfometrija pēc kuīļu eitanāzijas
Morphometry of testes after boars euthanasia

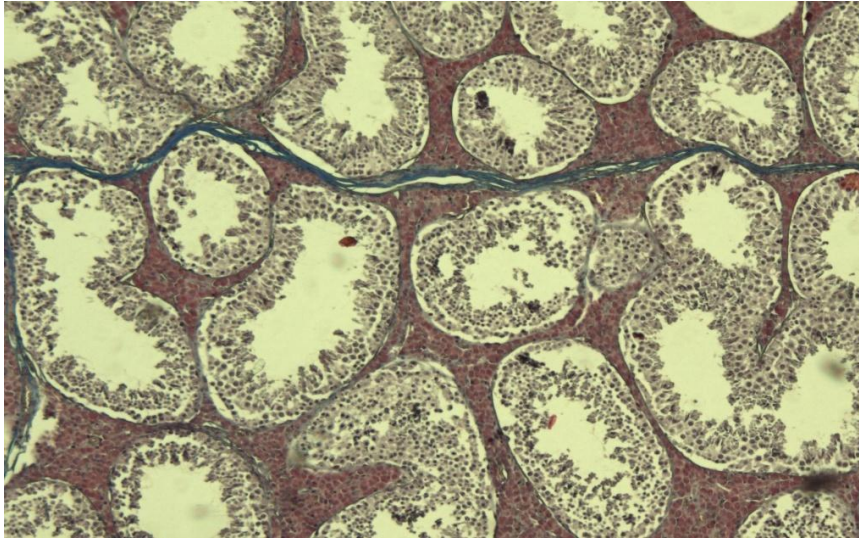
(E - eksperimentālā grupa / experimental group; K - kontroles grupa / control group)

Kuīļa id.nr. /Boar id.nr.	Grupa / Group	Sēklin.masa bez piedēkļa (g), / Weight of testis without epididymis (g),		Sēklinieka tilpums (ml), / Volume of testis (ml),		Sēklinieka piedēkļa masa (g), / Weight of epididymis (g),	
		labais / right	kreisais / left	labais / right	kreisais / left	labais / right	kreisais / left
4042	E	394.0	422.0	390.0	400.0	130.0	129.0
4043	E	435.0	424.0	440.0	420.0	114.0	114.0
5256	E	399.0	387.0	360.0	380.0	130.0	132.0
5253	E	436.0	451.0	400.0	400.0	131.0	131.0
4047	E	499.0	520.0	480.0	500.0	144.0	131.0
Vid.aritm. / Arithm. mean		432.6	440.8	414.0	420.0	129.8	127.4
Stand.nov. / Standard dev.		41.97	49.77	46.69	46.90	10.64	7.57
Stand.kļūda / Standard error		18.77	22.26	20.88	20.98	4.76	3.39
CI (95%)*		380.5...484.7	379.0...502.6	356.0...472.0	361.8...478.2	116.6...143.0	118.0...136.8
5254	K	334.0	384.0	310.0	320.0	107.0	119.0
5258	K	523.0	514.0	480.0	480.0	153.0	154.0
4048	K	331.0	353.0	300.0	320.0	132.0	133.0
4046	K	441.0	428.0	420.0	400.0	98.0	101.0
5255	K	405.0	431.0	380.0	400.0	125.0	129.0
Vid.aritm. / Arithm. mean		406.8	422.0	378.0	384.0	123.0	127.2
Stand.nov. / Standard dev.		80.19	60.80	75.63	66.93	21.60	19.42
Stand.kļūda / Standard error		35.86	27.19	33.82	29.93	9.66	8.69
CI (95%)*		307.2...506.4	346.5...497.5	284.1...471.9	300.9...467.1	96.2...149.8	103.1...151.3
p-vērtība / p-value		0.27	0.30	0.20	0.18	0.27	0.49
Nozīmīgums / Significance		-	-	-	-	-	-

*Vidēja aritmētiskā 95% ticamības intervāls / 95% confidence interval of the arithmetic mean

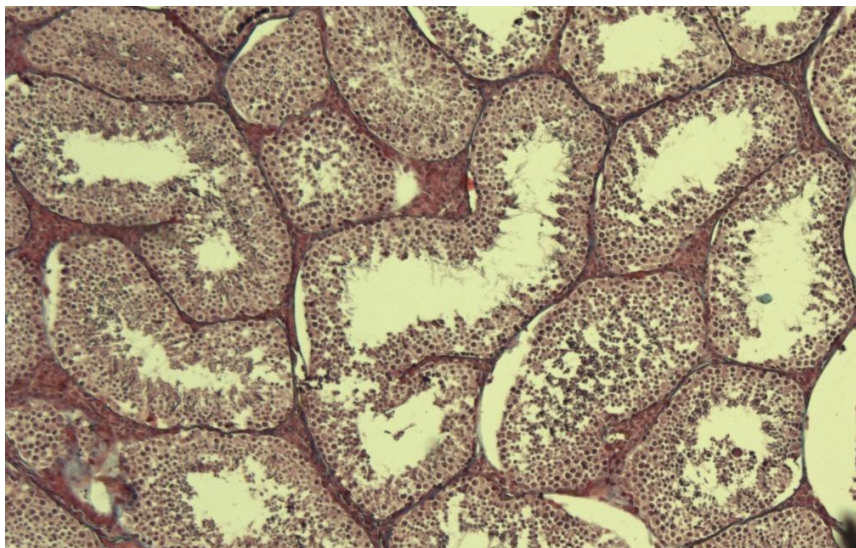
Histoloģiskie izmeklējumi

Kā eksperimentālās tā kontroles grupu kailiem mikroskopā redzama normāla, sugai atbilstoša histoloģiskā uzbūve (2. att., 3. att.). Sēklinieku izlocītos kanālīšus izklāj perpendikulāri bazālajai membrānai novietotas balsta šūnas (Sertolī šūnas) un dažādās attīstības pakāpēs esošie spermatozoīdi. Spraugas starp līkumotajiem sēklinieka kanālīšiem aizņem labi attīstīti intersticiālie audi, kas ļoti bagāti ar intersticiālajiem glandulocītiem (Leidiga šūnām). Eksperimentālās grupas kailiem intersticiālo glandulocītu ir vairāk (2. att.) abu grupu dzīvniekiem intersticiālajos audos ir daudz nelielu asinsvadu, asins un limfas kapilāru.



2. attēls. Līkumotie sēklinieku kanālīši un intersticiālie audi eksperimentālās grupas kailu sēkliniekos. Hematoksilīns-eozīns (x100)

Figure 2. Seminiferous tubules and intertubular tissues of boars' testis (experimental group). Hematoxylin-eosin (x100)



3. attēls. Līkumotie sēklinieku kanālīši un intersticiālie audi eksperimentālās grupas kailiem. Hematoksilīns-eozīns (x100)

Figure 3. Seminiferous tubules and intertubular tissues of boars testis (control group). Hematoxylin-eosin (x100)

Lai noskaidrotu Mildronāta ietekmi uz spermatogēzes procesu, tika mērīts spermatogēnā epitēlija biezums abu grupu dzīvniekiem. Šo mērījumu rezultāti redzami 2. tabulā.

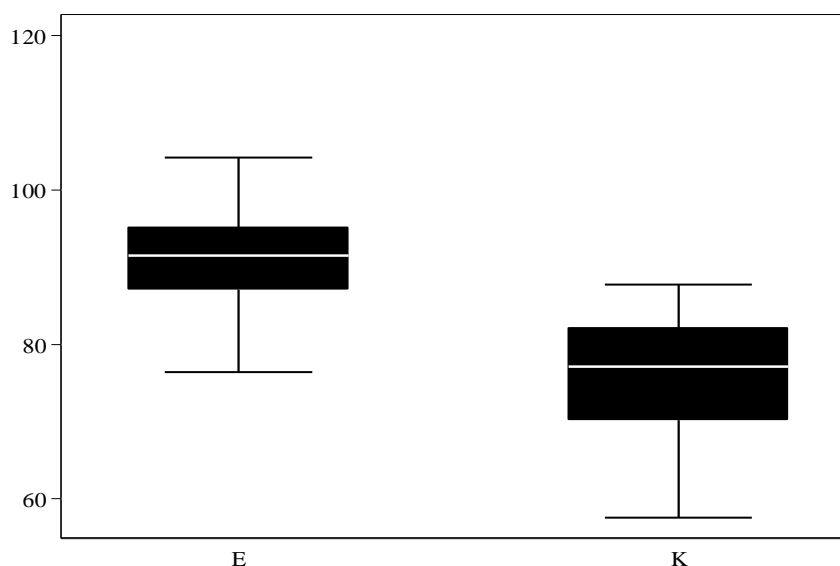
2. tabula/Table 2

Kuiļu spermatogēnā epitēlija biezums (μ)

Thickness of spermatogeny epithelium (μ)

(E – eksperimentālā grupa / experimental group, K – kontroles grupa / control group)

Kuiļa id.nr. /Boar id.nr.	Grupa/ Group	Mērījumu vieta / Place of measurement					Vidējais / Mean
		1	2	3	4	5	
4673	E	103.73	95.13	93.43	88.22	83.32	92.77
4677	E	98.1	91.53	87.1	93.9	80.63	90.25
4683	E	88.23	76.41	82.15	79.9	96.0	84.54
4685	E	88.5	89.6	78.8	87.2	92.2	87.26
4691	E	93.3	104.2	96.7	94.6	98.3	97.42
Vid. aritmētiskais / Arithm. mean							90.45
Standartnovirze / Standard deviation							7.43
Standartklūda / Standard error							1.49
95% ticamības intervāls / 95% confidence interval							87.38.....93.51
5155	K	77.10	79.74	66.47	87.73	82.28	78.66
4046	K	81.75	84.34	82.13	81.68	86.21	83.22
40,48	K	78.73	74.79	74.77	82.46	72.01	76.55
5258	K	69.01	72.78	70.18	57.54	71.27	68.16
5758	K	70.07	68.63	83.31	80.46	68.91	74.28
Vid. aritmētiskais / Arithm. mean							76.16
Standartnovirze / Standard deviation							7.35
Standartklūda / Standard error							1.47
95% ticamības intervāls / 95% confidence interval							73.14.....79.21



4. attēls. Spermatogēnā epitēlija biezums

Figure 4. Thickness of spermatogeny epithelium

E - eksperimentālā grupa / experimental group, K – kontroles grupa / control group

Mērījumu rezultātu analīze liecina, ka eksperimentālās grupas kuiļiem Mildronāta ietekmē spermatogēnā epitēlija biezums statistiski ticami ($p < 0.01$) ir lielāks nekā

kontroles grupas dzīvniekiem. Spermatoģenēzes procesu visticamāk ietekmē gamma butirotbetaīna koncentrācijas palielināšanās audos, kas notiek mildronāta ietekmē (3), neskatoties uz faktu, ka notiek L-karnitīna biosintēzes inhibīcija (1).

KOPSAVILKUMS

Mildronāta piedeva vaislas kuiļu barībā pozitīvi ietekmē sēklinieku morfoloģiju:

1. Novērojama neliela tendence palielināties to masai un tilpumam.
2. Samazinās atsevišķu kuiļu sēklinieku masas atšķirības.
3. Statistiski ticami palielinās spermatogēnā epitēlija biezums.
4. Sēklinieku stromā palielinās intersticiālo glandulocītu (Leidiga šūnu) skaits.

LITERARŪRA

1. Dambrova, M., H. Cīrule, B. Svalbe, L. Zvejniece, O. Pugovichs, T. Zorenko, I. Kalviņš, E. Liepiņš, I. Belozeroва. Effect of inhibiting carnitine biosynthesis on male rat sexual performance // *Physiology & Behavior* XXX, 2008:7.
2. . Hyang ,Y., Johnson, R. K. Effect of selection for size of testis in boars on semen and testis traits // *J. Anim. Sci. (USA)*: 1996; 74 (4): 750-760.
3. Kalvinsh, I., Veveris, M. Birmans, A.. Pharmaceutial composition comprising gammabutirotbetaine for stimulating the sexual activity and potency; 2003;.WO/2003/022263 [WO/2003/022263]. Ref. Type: Patent.
4. Mustafins, P. Anaerobās slodzes sekas// *Ž. Doctus, jūnijs*, 2010; 34-38.
5. Rathje, T., Johnson, R. K. Effect of selecting for increased testis size in boars on testis development and rates of sperm production // *Nebraska*, 1994; *Swine Report*: 36 – 38.
6. Senger, P. L. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 1st revised Ed. Washington State University Res. And Technology Part., Pullman: 1999; 281.
7. Крыжановский, С. А., Витинова, М. Б. Милдронат. В книге: *Современные лекарственные средства*. РИПОЛ Классик. 2007; 639.
8. Курашвили, Б. Е., Калвиньш, Я. И. Квинихадзе, С. Г. Кобахидзе, Л. Т. Минкеладзе, Л. Г. Чумбуридзе, С. Р. Результаты пищеварительных испытаний на цыплят стимулятора «кватерина» // *Известия академии наук СССР*, 1983; серия «Биология», 9: 4:142-149.
9. Романов, В. И. Процессы пищеварения и продуктивность телят при использовании кватерина в рационах // *Автореферат дисс. канд. вет. наук*, Дубровники: 1987; 1-23.