

ОБЩИЕ И ЧАСТНЫЕ ВОПРОСЫ МОРФОЛОГИИ

Апсалямов В. Х.

ТЕРАТОЗООСПЕРМИЯ, ИНДУЦИРОВАННАЯ *S. TRACHOMATIS*, В ЭТИОПАТОГЕНЕЗЕ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

*Кафедра гистологии и эмбриологии (заведующий — доц. Б. Б. Барышев)
Казахской государственной медицинской академии, Астана, Казахстан*

В настоящей статье демонстрируется возможность обнаружения цитоморфологическим, иммунофлюоресцентным и гистохимическим методами в эякуляте бесплодных больных тератоформ спермиев, содержащих в резидуальной цитоплазматической капле включения микроколоний *S. trachomatis*. Обсуждается роль урогенитальной хламидийной инфекции в этиопатогенезе тератозооспермии и развитии мужской инфертильности.

Ключевые слова: *S. trachomatis*, тератозооспермия.

Нарушения мужской репродуктивной функции в последние годы приобрели особую медицинскую и социальную значимость в связи с ухудшением демографических показателей многих стран мира, учитывая, что мужские гипофертильные и инфертильные состояния обнаруживаются в 30–50 % случаев бесплодных браков [8]. Достижения современной клинической медицины в вопросах лечения мужского бесплодия в совокупности с развитием вспомогательных репродуктивных технологий определяют необходимость совершенствования методов лабораторной диагностики по установлению этиопатогенетических механизмов развития мужской инфертильности. В соответствии с вышесказанным, цель исследования состояла в изучении причин и механизмов формирования некоторых форм тератозооспермии при мужском бесплодии.

Для установления этиопатогенеза тератозооспермии в настоящей работе нами был обследован эякулят 88 пациентов в возрасте от 19 до 52 лет, обратившихся в андрологическое отделение по поводу бесплодия в браке продолжительностью более 12 месяцев, у которых при первичном обследовании был обнаружен урогенитальный хламидиоз. Признавая полиэтиологичность микробного фактора в патогенезе инфертильных состояний, мы остановили свой выбор на *S. trachomatis* как патологическом инфекционном агенте, с одной стороны, наиболее часто обнаруживаемом в тканях органов половой системы, а с другой стороны — имеющем облигатный внутриклеточный цикл развития [4, 6].

Учитывая специфику исследования, использовались данные спермограмм бесплодных пациентов, у которых при первичном обращении были исключены азооспермия и олигозооспермия. Эякулят собирали после 3-суточного воздержания в стерильный пластиковый контейнер путем мастурбации. С целью изучения качественных и количественных характеристик эякулята использовали стандарты, рекомендуемые ВОЗ [7]. Жизнеспособность спермиев оценивали с помощью люминесцентной микроскопии методом исключения красителя, используя интеркалирующие флуорохромы акридиновый оранжевый и бромистый этидий [5]. Для изучения особенностей морфологии спермиев часть мазков эякулята флуорохромировали отдельно каждым из указанных нуклеотропных красителей. Высушен-

ные на воздухе мазки эякулята подвергали термической фиксации и окрашивали азур-2-эозином. С целью выявления гликогена высушенные на воздухе мазки эякулята фиксировали жидкостью Жандра, дифференцировали абсолютным этанолом и окрашивали Шифф-йодной кислотой (ШИК) по Мак-Манусу с докраской ядер гематоксилином Гарриса. На мазках эякулята ставили реакцию прямой иммунофлюоресценции (ПИФ) по выявлению антигенов *S. trachomatis* с помощью стандартных диагностических наборов, произведенных в НПФ «Галарт-диагностикум» и «Лабдиагностика» (Москва).

При исследовании показателей эякулята инфертильных больных различные признаки морфофункциональных и цитологических отклонений в спермограмме были обнаружены у подавляющего большинства пациентов. Так, явления астенозооспермии были обнаружены у 76 пациентов (86,36 %), тератозооспермии с содержанием патологических форм более 70 % — у 31 пациента (35,23 %). У 48 пациентов (54,54 %) были обнаружены признаки воспалительной реакции, проявляющейся повышенным содержанием лейкоцитов более 1 млн/мл эякулята.

У большинства пациентов при подсчете количества гамет с атипичной структурой было обнаружено накопление в эякуляте патологических форм спермиев с избыточной каплей резидуальной цитоплазмы в области шейки, занимающей более 1/2 пространства головки нормального сперматозоида (категория «г», [7], рис. 1, *a—г*). Многие из таких спермиев имели атипичную морфологию головки и обладали сниженной способностью к прямолинейному поступательному движению либо были вовсе неподвижны. Часть тератоформ сперматозоидов с избыточной цитоплазматической каплей вовсе не имела сформированного хвостового отдела или имела деформированный и даже дублированный жгутик.

Окрашивание мазков азур-2-эозином позволяет обнаружить на территории избыточной цитоплазматической капли многих тератоформ сперматозоидов внутриклеточно расположенные полиморфные глыбки азурофильных, базофильных и метакроматичных включений размером от 0,1 до 5 мкм и более, как это показано на рис. 1, *a*. Подобные включения обнаруживаются не во всех сперматозоидах с избыточной цитоплазматической каплей, т. е. у некоторых спермиев капля избыточной резидуальной цитоплазмы может казаться «пустой». Количество сперматозоидов с подобными включениями в резидуальной цитоплазме в условиях нашего исследования могло достигать более 20 % клеток мазка эякулята. Включения с аналогичной морфологией можно было обнаружить также и в других клеточных элементах мазка эякулята — незрелых половых клетках, лейкоцитах, эпителиоцитах.

При флюорохромировании мазков эякулята акридиновым оранжевым на фоне изумрудно-зеленого свечения хроматина ядер в головках спермиев описываемые включения могут обнаруживать люминесценцию от бледно-зеленой до оранжево-красной. Использование бромистого этидия также позволяет выявить в цитоплазматической капле атипичных гамет красно-бурое свечение включений (рис. 1, *б*). Данный факт позволяет говорить о присутствии в остаточной цитоплазматической капле патологических форм сперматозоидов определенного количества нуклеопротеидов, принимая во внимание тропизм к ним используемых красителей. Указанное свечение трудно связать с нуклеопротеидами митохондриального аппарата спермиев, так как в морфологически нормальных сперматозоидах оно практически не выявляется.

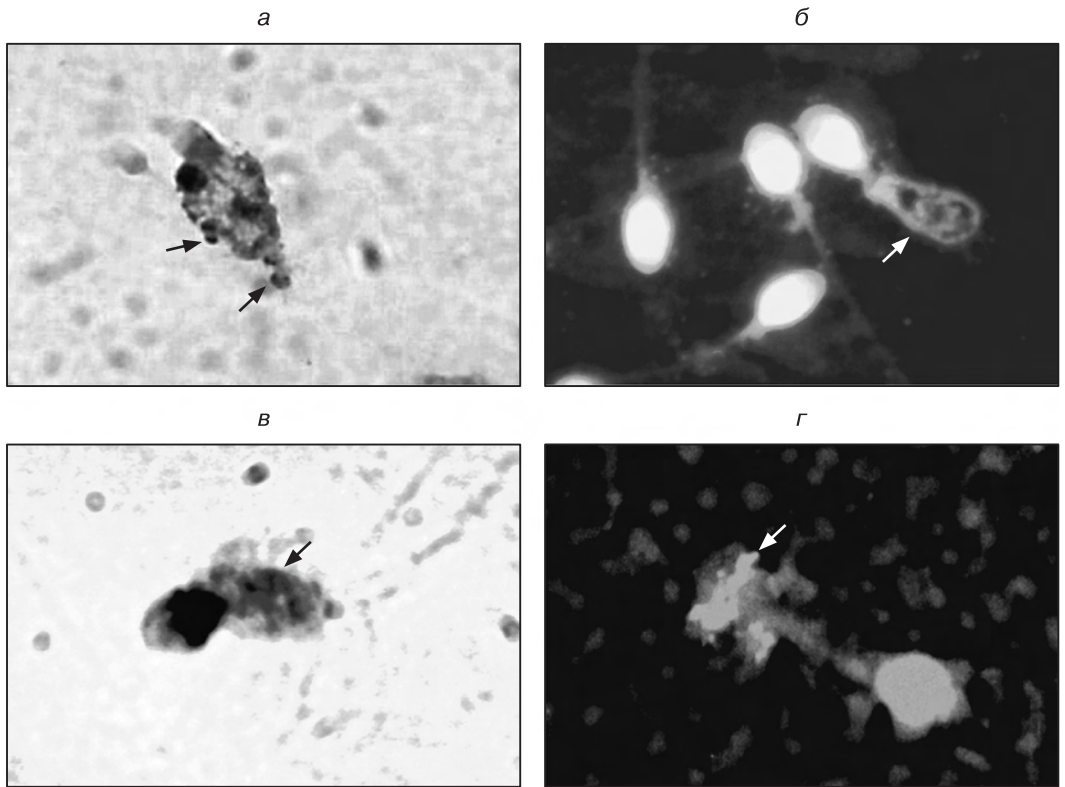


Рис. 1. Морфологические изменения в спермиях пациентов с гипофертильностью, индуцированной хламидийной инфекцией (ув. 1000): *а* — азурофильные включения микроколоний патогена в резидуальной цитоплазматической капле атипичной гаметы; стрелками обозначено отпочковывание включений от цитоплазматической капли, окраска азур-2-эозином; *б* — люминесцентная микроскопия; нуклеопротейиды во включениях цитоплазматической капли тератоформы сперматозоида (обознач. стрелкой), нативный материал флюорохромирован бромистым этидием; *в* — Шифф-положительный материал в резидуальной цитоплазме атипичного спермия (стрелка); фиксация по Жандру на гликоген, окрашивание ШИК по Мак-Манусу с докраской гематоксилином Гарриса; *г* — люминесцентная микроскопия; реакция ПИФ по выявлению антигенов *S. trachomatis*; специфическое свечение включений патогена в цитоплазматической капле тератоформы спермия

Окрашивание мазков эякулята Шифф-йодной кислотой после использования гликогенсберегающих методик фиксации позволяет обнаружить присутствие в резидуальной цитоплазматической капле спермиев с включениями значительных количеств полисахаридов, что является характерным для внутриклеточного развития микроколоний урогенитальных штаммов *S. trachomatis* [2], (рис. 1, *в*).

Постановка ПИФ по выявлению присутствия антигенов *S. trachomatis* на мазках эякулята больных со сниженной фертильностью позволяет обнаружить специфическое свечение в резидуальной цитоплазматической капле значительной части атипичных сперматозоидов (рис. 1, *г*).

Обсуждая возможный механизм развития тератозооспермии у исследуемого контингента бесплодных мужчин, сопровождающейся накоплением в эякуляте па-

тологических форм сперматозоидов, содержащих включения микроколоний хламидий в избыточной капле резидуальной цитоплазмы, на наш взгляд, важно остановиться на следующих моментах.

Присутствие в резидуальной цитоплазме гамет включений микроколоний *C. trachomatis* в сочетании со значительным изменением морфологии спермиев, по нашему мнению, указывает на вовлечение в патологический процесс сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев, возникающее в результате восходящего распространения хламидийной инфекции по семявыносящим путям. Для хламидийного патогена в тканях органов половой системы характерен очаговый, гнездный характер инфицирования клеток, когда инфицированные клеточные элементы могут соседствовать с клетками, свободными от возбудителя [4, 6]. Таким образом, речь идет об инфицировании хламидиями отдельных участков сперматогенного пласта и клонов развивающихся половых клеток в извитых семенных канальцах.

Сперматогенез млекопитающих предполагает обязательное удаление большей части резидуальной цитоплазмы во время индивидуализации сформированных спермиев из синцитиально развивающихся клонов во время спермиации с помощью специализированных структур sustentоцитов типа тубуло-бульбарных комплексов [3, 9, 10]. Угнетение нормальных механизмов спермиации, связанное с инфицированием сперматогенного эпителия, приводит к накоплению в семенной жидкости атипичных гамет с избыточной цитоплазматической каплей, содержащей включения микроколоний возбудителя.

Инфицирование *C. trachomatis* развивающихся клонов половых клеток сперматогенного эпителия позволяет объяснить не только факт накопления в эякуляте повышенного числа малоподвижных и неподвижных сперматозоидов с избыточной каплей резидуальной цитоплазмы. Установлено, что цикл внутриклеточного развития хламидий происходит с обязательным конкурентным использованием микротрубочкового аппарата клетки-хозяина [1]. Принимая во внимание роль тубулиновых структур в компактизации хроматина головки и формировании жгутика развивающегося спермия [3], можно предполагать, что многие аномалии развития головки и хвоста сперматозоида также могут быть объяснены патологическим влиянием рассматриваемого микробного агента на спермиогенез. Принимая во внимание общеизвестную метаболическую инертность сперматозоида в семявыносящих путях, мы полагаем, что многие из наблюдаемых нами атипичных вариантов гамет могли возникнуть только в результате нарушений сперматогенеза на уровне семенников.

Проведение специализированного лечения, направленного на элиминацию хламидийного возбудителя с использованием антибактериальных препаратов и иммуностимуляторов, приводит к постепенному снижению уровня тератозооспермии и увеличению подвижности сперматозоидов на фоне стихания признаков воспалительного процесса в эякуляте. Так, даже однократный курс специфического лечения уменьшает количество пациентов с тератозооспермией с 35,23 % до 19,25 % от общего числа обследованных, а процент пациентов с активностью воспалительного процесса с 54,54 % до 31,82 %. При этом число больных с астенозооспермией уменьшается с 86,36 % до 75,0 %.

Таким образом, исследование эякулята бесплодных больных, инфицированных *C. trachomatis*, позволяет обнаружить тератоформы половых клеток, содержащих в избыточной капле резидуальной цитоплазмы включения микроколоний возбудителя. Особенности измененной морфологии спермиев позволяют предположить,

что многие варианты структурной атипичии гамет могут формироваться в результате искажений спермиогенеза на уровне извитых семенных канальцев семенников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брагина Е. Е., Орлова О. Е., Дмитриев Г. А. Некоторые особенности жизненного цикла хламидий. Атипичные формы существования (обзор литературы) // Заболевания, передаваемые половым путем. № 1. 1998. С. 3–9.
2. Герасимова Н. М., Кунгуров Н. В., Бажин Ю. А. Новая классификация хламидий и ее значение для практики // Инфекции, передающиеся половым путем. № 1. 2001. С. 14–18.
3. Данилова Л. В. Сперматогонии, сперматоциты, сперматиды // Современные проблемы сперматогенеза. — М.: Наука, 1982. С. 25–72.
4. Козлова В. И., Пухнер А. Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. — М.: Триада-Х, 2003.
5. Лимфоциты: Методы / Под ред. Дж. Клауса. — М.: Мир, 1990. С. 211.
6. Лобзин Ю. В., Ляшенко Ю. И., Позняк А. П. Хламидийные инфекции. — СПб.: Фолиант, 2003.
7. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. — М.: МедПресс, 2001.
8. Тер-Аванесов Г. В. Современные аспекты диагностики и лечения мужского бесплодия. В кн.: Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / Под ред. В. И. Кулакова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. С. 275–359.
9. Sakai Yasuhiro, Yamashina Shohei. Mechanism for the removal of residual cytoplasm from spermatids during mouse spermiogenesis // Anat. Rec. 1989. V. 223. № 1. P. 43–48.
10. Sprando R. L., Russell L. D. Comparative study of cytoplasmic elimination in spermatids of selected mammalian species // Amer. J. Anat. 1987. V. 178. № 1. P. 72–80.

Асфандияров Р. И., Удочкина Л. А.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНФОРМАЦИОННОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ «ЩИТОВИДНАЯ ЖЕЛЕЗА»

*Кафедра анатомии человека (заведующий — проф. Р. И. Асфандияров)
Астраханской медицинской академии*

Известно, что адаптационные реакции организма при стрессах различного генеза реализуются путем нейрогуморальной регуляции метаболических процессов, немаловажная роль в обеспечении гомеостаза принадлежит щитовидной железе [5, 6, 7, 10, 12].

Анализ изменения морфометрических характеристик с учетом теории информации позволяет получить интегральные критерии состояния биологической системы на этапах онтогенеза в норме и при воздействии неблагоприятных факторов.

Целью нашего исследования явилось изучение с использованием информационного анализа состояния системы «щитовидная железа» на этапах онтогенеза человека и экспериментальных животных.