

УДК616.69-008.3/8-055.1(571.63)

О.А. Дмитриева, Ю.А. Аверьянова, В.П. Соловьев,
Л.Н. Иваненко

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА В ПОПУЛЯЦИИ МУЖЧИН ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Владивостокский государственный медицинский университет,
Приморское краевое бюро судебно-медицинской
экспертизы (г. Владивосток),
Клиника «Ярослава» (г. Владивосток)

Ключевые слова: исследование эякулята, яички,
сперматогенез.

Способность к оплодотворению — одна из главных для продолжения рода — в значительной мере зависит от состояния спермы (фертильности). Нормальный ход сперматогенеза регулируется сложными процессами, которые необходимо рассматривать с точки зрения целостного организма. На него влияют антропогенные факторы, хронические соматические и инфекционные заболевания, хронические бытовые интоксикации (алкоголь, наркотики), производственные вредности, лекарственные средства, а также острые и хронические заболевания мужской репродуктивной системы (простатиты, простатовезикулиты, орхиты, орхоэпидидимиты). Анализ сведений о динамике показателей сперматогенеза на протяжении последних десятилетий, принятых за норму, свидетельствует о снижении концентрации спермиев в эякуляте здоровых мужчин, проживающих в технологически развитых странах. Установлено, что средняя концентрация спермиев за последние 50 лет снизилась — с 113 млн/мл в 1940 г. до 66 млн/мл в 1990 г. (на 42%), несколько уменьшился и средний объем эякулята — с 3,4 до 2,75 мл (на 20%) [2, 6, 7, 12].

Вместе с тем некоторые исследования не выявили существенных изменений показателей сперматогенеза у мужчин в ряде стран Европы и в США или привели к противоречивым результатам. Так, высокие и не меняющиеся со временем показатели сперматогенной функции отмечены финскими исследователями, что соответствовало более ранним наблюдениям, выполненным в Финляндии [10, 11]. Средний объем эякулята у финнов составил 3,3 мл, концентрация спермиев — 396,6 млн/мл, их общее содержание в эякуляте — 396,6 млн. За 28 лет (с 1967 по 1994 г.) было выявлено лишь небольшое уменьшение объема эякулята при сохранении уровня двух других показателей [11]. В двух сериях наблюдений, проведенных в Финляндии с использованием гистологического анализа материала, полученного от внезапно скончавшихся мужчин среднего возраста, были обнаружены существенные нарушения сперматогенеза [8, 9]. В первой

из указанных серий ненарушенный сперматогенез отмечен лишь в 21,2 и 42,0% случаев, во второй серии — в 41,7% случаев. При этом установлено, что доля мужчин с нормальным сперматогенезом за период с 1981 по 1991 г. снизилась с 56,4 до 26,9% на фоне уменьшения массы яичек, диаметра извитых семенных канальцев и развития фиброза.

С целью определения состояния спермы у мужчин, проживающих в Приморском крае, проведено исследование спермограмм 172 человек в возрасте от 20 до 45 лет за 1999—2003 гг. на базе специализированного центра «Клиника «Ярослава». Состояние сперматогенеза определялось цитоморфологическим исследованием эякулята. Исследовали объем спермы, концентрацию, общее количество сперматозоидов в эякуляте, процентное соотношение активно подвижных и неподвижных сперматозоидов, содержание их патологических и нормальных форм, явление агглютинации.

Для подтверждения гипотезы снижения сперматогенеза в популяции мужчин Приморского края методом случайной выборки был изучен гистологический материал (яички) от 50 трупов практически здоровых лиц мужского пола в возрасте 25—40 лет, умерших от насильственных причин (транспортная травма) в период с 2000 по 2004 г. Объекты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в целлоидин-парафин. Срезы тканей (5—7 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином. Математическая обработка полученных результатов проводилась методами вариационной статистики с использованием компьютерной программы Microsoft Excel.

Установлено, что за исследуемый период общее количество сперматозоидов в эякуляте мужчин, обследованных в клинике, снизилось с 77,6 до 58,6 млн (рис. 1). В среднем общее количество сперматозоидов за этот период составило 69,4 млн, концентрация сперматозоидов — 24 млн/мл, средний объем эякулята — 2,8 мл.

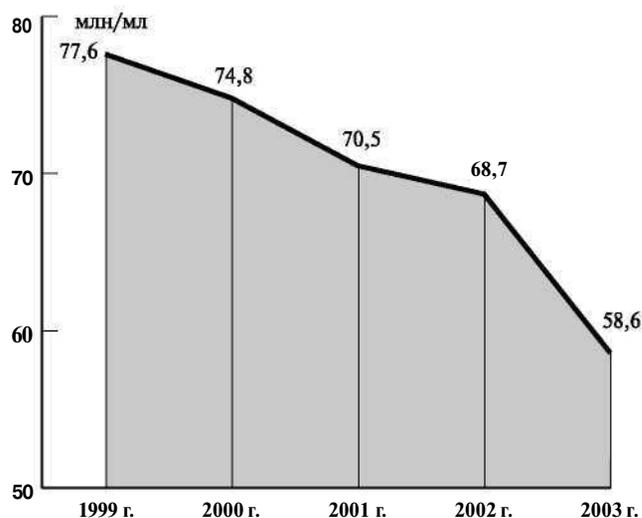


Рис. 1. Общее количество сперматозоидов в эякуляте (1999–2003 гг.).

Согласно классификации А.Ф. Возианова и И.И. Горпинченко [3], выделяют три степени олигозооспермии: 1-я степень (легкая) — 60–30 млн/мл; 2-я степень (средняя) — 29–10 млн/мл; 3-я степень (тяжелая форма бесплодия) — ниже 10 млн/мл. При полном отсутствии в эякуляте спермиев выделяют два состояния: азооспермия, при которой в эякуляте отсутствуют спермии, но обнаруживаются клетки сперматогенеза, и аспермия, при которой в эякуляте отсутствуют спермии и клетки сперматогенеза. В нашем исследовании преобладала средняя степень олигозооспермии (рис. 2). В норме количество активно подвижных сперматозоидов должно быть более 25%, суммарное количество активно подвижных и малоподвижных клеток — более 50%, неподвижные сперматозоиды должны составлять 50%, а количество морфологически нормальных сперматозоидов должно быть более 60%. Результаты, полученные нами, сопоставимы с нормой, а число патологических форм сперматозоидов не выходило за ее пределы.

Установив, что количество сперматозоидов в эякуляте обратившихся в клинику мужчин имело тенденцию к снижению и число нормальных форм сперматозоидов находилось на нижней границе нормы, исследования были продолжены на трупном материале [4, 5].

Макроскопические изменения в яичках проявлялись незначительным уменьшением их размеров и массы. Общий план микроскопического строения яичек во всех наблюдениях оказался единообразен и укладывался в границы нормы [1]. В 9 наблюдениях из 50 количественный состав содержимого семенных канальцев оказался полон, клетки герминативного эпителия были распределены равномерно. Интерстиций яичек был компактен, гормонпродуцирующий аппарат представлен достаточным количеством островков Лейдига, состоящих из клеток крупных и средних размеров с признаками высокой функциональной активности.

Случаи с нарушенным гистологическим строением были разделены на три группы в зависимости от характера выраженности патологии.

1-я группа: преобладание склеротических изменений без изменений сперматогенеза (8 наблюдений). Выявлен умеренный диффузный фиброз интерстициальной ткани, с умеренным интра- и перитубулярным фиброзом стенок семенных канальцев, где отмечался нормально протекающий сперматогенез, в отдельных канальцах выявлялись трудноидентифицируемые клеточные сочетания с дегенеративными изменениями (рис. 3, а).

2-я группа: преобладание склеротических изменений, сочетающихся с угнетением сперматогенеза (16 наблюдений). Обращал на себя внимание выраженный фиброз белочной оболочки, резкая деформация семенных канальцев за счет отека и грубоволокнистого склероза интерстициальной ткани (рис. 3, б). Кроме того, наблюдался ангиоматоз с грубым пери-

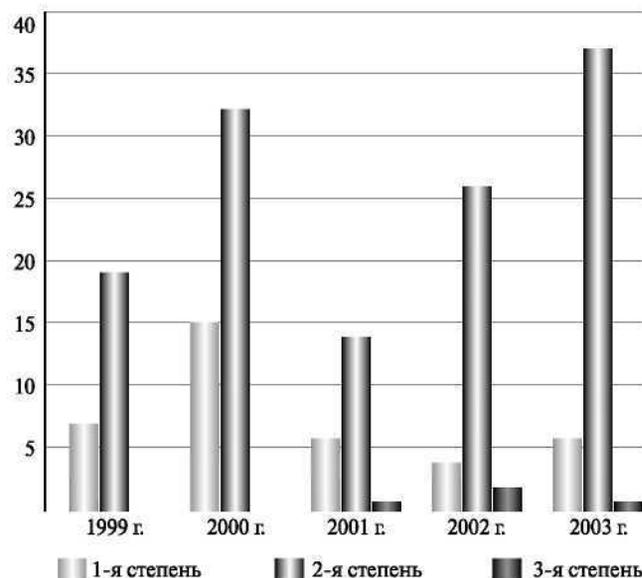


Рис. 2. Распределение случаев олигозооспермии.

1999 г. 2000 г. 2001 г. 2002 г. 2003 г. вазальным фиброзом сочеталась с преобладанием малых инволютивных элементов: малый размер, овальная форма, пеннистая цитоплазма (рис. 3, в). Подобные изменения могут свидетельствовать о снижении функциональной активности гормонпродуцирующего аппарата яичка. В отдельных полях зрения определялись семенные канальцы с признаками гиалиноза базальных мембран и явления пери- и интратубулярного склероза. Сперматогенный эпителий находился на разных этапах сперматогенеза: от нормального цикла с наличием сперматозоидов в центре семенного канальца до атрофии сперматогенного эпителия с угнетением сперматогенеза до стадии сперматогоний либо в состоянии герминогенной аплазии — полное отсутствие герминогенного эпителия, где клеточный состав семенных канальцев представлен только клетками Сертоли (рис. 3, г).

Резкое угнетение сперматогенеза в этой группе выявлено в 9 наблюдениях. Здесь собственная оболочка семенных канальцев разрушалась, инфильтрировалась лимфоидными клетками (рис. 3, д). В тех местах, где канальцевая структура сохранялась, наблюдались атрофия сперматогенного эпителия до стадии сперматогоний и признаки дегенерации половых клеток: пикноз, лизис ядер, вакуолизация цитоплазмы. Содержимое многих семенных канальцев определялось в виде конгломератов некротизированной ткани, отделенных от цитоплазмы пристеночно расположенными сустентоцитами. В некоторых канальцах обнаруживались многоядерные половые клетки. Так в основном реагировали сперматиды, которые набухали и, сливаясь между собой, формировали своеобразные семенные шары, свободно лежащие в просвете канальца. В отдельных полях зрения канальцы были выстланы только сустентоцитами. Описанные изменения формировались на фоне диффузного грубоволокнистого фиброза интерстициальной ткани,

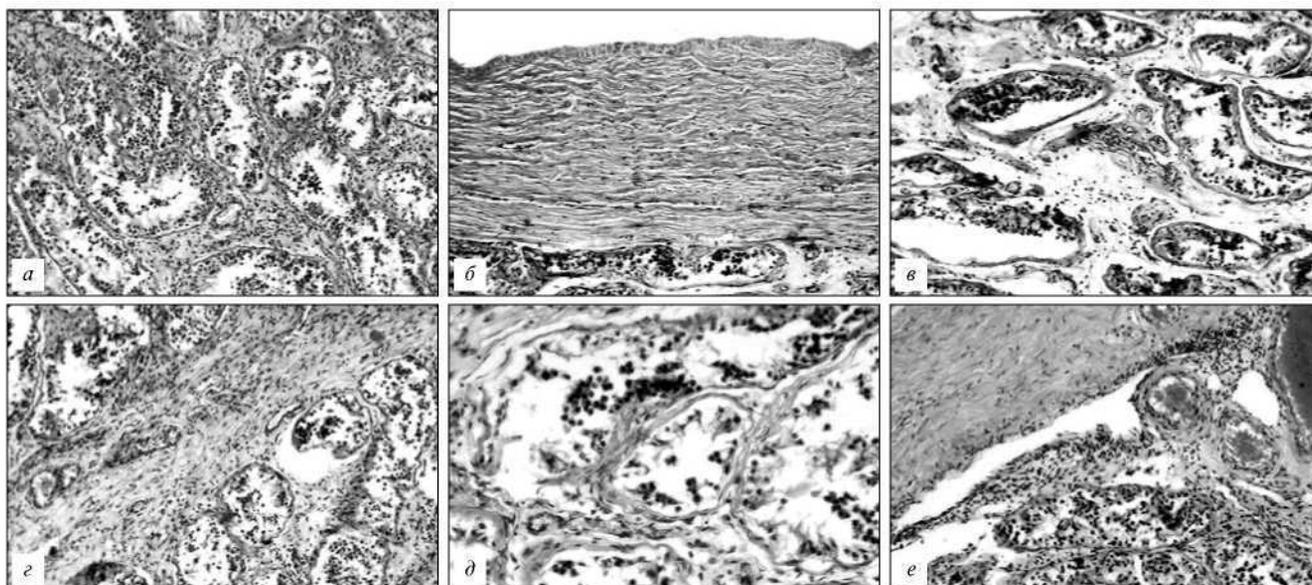


Рис. 3. Морфология яичек по данным судебно-медицинских аутопсий.

а — фиброз интерстиция, в семенных канальцах картины от нормального сперматогенеза до дегенеративных изменений; *б* — склероз белой оболочки; *в* — ангиоматоз с перивазальным фиброзом, дисконкомплексация клеток Лейдига, деформация семенных канальцев; *г* — склероз, деформация семенных канальцев, атрофия сперматогенного эпителия; *д* — угнетение сперматогенеза; *е* — угнетение сперматогенеза на фоне полнокровия и очаговой клеточной инфильтрации. Окр. гематоксилином и эозином, *а—г, е* — $\times 100$, *д* — $\times 200$.

очагов мукоидного набухания и лимфогистиоцитарной инфильтрации стромы, интра- и перитубулярного склероза с преобладанием малых инволютивных элементов среди клеток Лейдига.

3-я группа: острое течение с выраженными расстройствами кровообращения, угнетение сперматогенеза (8 наблюдений). Для данных наблюдений было характерно полнокровие сосудов, диапедезные кровоизлияния в строму. Регистрировалась выраженная перивазальная и очаговая инфильтрация интерстициальной ткани лимфогистиоцитарными элементами, мукоидное набухание стромы, преобладание малых инволютивных форм среди клеток Лейдига. Отмечались сдавление и деформация семенных канальцев с явлениями слабой дезорганизации сперматогенного эпителия, перитубулярный склероз. Сперматогенез угнетен до стадии сперматогоний (рис. 3, д).

Описанные изменения не носили какого-либо специфического характера. Подобная морфологическая картина может свидетельствовать о структурной перестройке мужских половых желез при многих патологических состояниях, таких как воспалительные заболевания репродуктивной системы, сосудистые заболевания, острые и хронические экзогенные интоксикации и профессиональные вредности, вредные привычки, заболевания эндокринной системы и внутренних органов, авитаминоз, голодание, стресс и др. Выраженные расстройства кровообращения, склеротические изменения в интерстициальной ткани могут быть связаны с развивающейся тканевой гипоксией при перечисленных состояниях. Преобладание среди гормонпродуцирующих клеток малых инволютивных элементов указывает на снижение функциональной активности инкреторного аппарата

мужских половых желез и, как следствие, на снижение активности сперматогенеза. В 18% наблюдений отмечен нормальный сперматогенез, что может быть объяснено молодым возрастом исследуемых и высокими компенсаторно-приспособительными возможностями организма.

Таким образом, можно констатировать, что доля мужчин с угнетенным сперматогенезом в нашем исследовании преобладала над долей мужчин с нормально протекающим сперматогенезом. Приморский край, по-видимому, можно отнести к регионам с тенденцией к снижению количественных показателей сперматогенеза. Анализ опубликованных материалов и собственные исследования позволяют сделать заключение, что полученные данные отражают общий процесс снижения сперматогенной функции человека, в неодинаковой степени проявляясь в различных контингентах обследуемых, географических зонах и при действии тех или иных факторов внешней среды.

Литература

1. Быков В.Л. *Частная гистология*. — СПб.: Сотис, 1997.
2. Быков В.Л. // *Морфология*. - 1999. - Т. 116, № 6. - С. 78-86.
3. Возианов А.Ф., Горпинченко И.И. *Сексология и андрология*. — Киев: Абрис, 1997.
4. Дмитриева О.А., Шерстюк Б.В., Олексенко О.М., Соловьев В.П. // *Тихоокеанский медицинский журнал*. - 2002. - №3. - С. 51-54.
5. Дмитриева О.А., Соловьев В.П., Константинов В.А. // *Проблемы экспертизы в медицине*. — Владивосток: Экспертиза, 2002. — No. 2. — С. 13—17.

6. De Kretser D.M. // *Rep rod. Fertil. Dev.* - 1998. - Vol. 10. - P. 93-95.
7. Irvine S. // *Brit. Med. Journal.* - 1996. - Vol. 312. - P. 1557-1558.
8. Pajarinen J., Savolainen V., Perola M. et al. // *Int. J. Androl.* - 1996. - Vol. 19. - P. 155-163.
9. Pajarinen J., Laippala P., Penttila A., Karhunen P.J. // *Brit. Med. J.* - 1997. - Vol. 314. - P. 13-18.
10. Suominen J., Vierula M. // *Brit. Med. J.* - 1993. - Vol. 306. - P. 1579.
11. Vierula M., Niemi M., Keiski A. et al. // *Int. J. Androl.* - 1996. - Vol. 19. - P. 11-17.
12. Vines G. // *New Scient.* - 1995. - Vol. 147. - P. 23-25.

Поступила в редакцию 08.11.05.

CONTEMPORARY TENDANCIES OF CHANGES IN SPERMATOGENIC ACTIVITY IN THE MALE POPULATION OF PRIMORYE REGION

O.A. Dmitrieva, Yu.A. Averyanov, V.P. Solov'yov, L.N. Ivanenko

Vladivostok State Medical University, Primorsky Regional Bureau of Medical Expertise, Clinic «Yaroslava» (Vladivostok)

Summary — On the basis of clinical (172 patients) and morphological (the material of 50 autopsies) material it is found, that the ratio of male with oppressed spermatogenesis in the fertile age population of Primorski Krai prevails on male with the normal spermatogenesis. It is obvious, that the received data reflect the common process of decrease spermatogenic human functions, which is found all over the world.

Pacific Medical Journal, 2006, No. 2, p. 67-70.

УДК 615.272:546.41:582.272

М.Ю. Петракова, Н.Е. Ламаш,
Ю.С. Хотимченко

ОЦЕНКА БЕЛКОВОСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ АЛЬГИНАТА КАЛЬЦИЯ

Владивостокский государственный медицинский университет,
Институт биологии моря ДВО РАН (г. Владивосток)

Ключевые слова: альгинат кальция, изотерма адсорбции, иммуноглобулин, гиалуронидаза.

Альгинаты — природные полисахариды, которые являются структурными компонентами клеточных стенок бурых водорослей. Они представляют собой линейные полимеры, состоящие из остатков Р-D-маннуриновой и а-L-гулуриновой кислот, соединенных 1—4 гликозидными связями [2]. Уникальная способность альгинатов к образованию вязких и гелеобразных растворов, биосовместимость и сорбционные свойства позволяют применять эти полисахариды в качестве матрицы для удерживания протеинов, ферментов и целых микробных клеток растений и животных для последующего освобождения захваченных веществ [4—6, 8]. На скорость высвобождения удерживаемого вещества влияют различные внешние факторы. Поэтому при создании комплексных препаратов на основе альгината кальция предварительным этапом является определение параметров, которые влияют на поведение этого полисахарида при таком применении.

Цель работы — оценить белковосвязывающие свойства альгината кальция в отношении иммуноглобулина и гиалуронидазы в зависимости от времени, концентрации и рН среды.

В работе использовались следующие препараты: «Имуноглобулин человека нормальный» (НПО «Микроген», г. Москва), «Лидаза», содержащий гиалуронидазу (НПО «Микроген», г. Москва), и альгинат кальция (НПФ «Востокфарм»). Последний

имел следующие характеристики: содержание урновых кислот — 77,3%, содержание кальция — 72,5%, 82,5% карбоксильных групп были представлены в виде кальциевой соли, характеристическая вязкость 1270 мл/г, молекулярная масса 403 кДа.

В кинетических экспериментах адсорбцию белка из раствора проводили в герметично закрывающихся центрифужных пробирках объемом 10 мл. К навескам альгината кальция массой 0,05 г добавляли 0,1% водный раствор белка объемом 10 мл. Смесь непрерывно встряхивали при 120 оборотах в минуту. Через определенные промежутки времени пробы отбирали и центрифугировали при 10000 оборотах в течение 10 мин.

Концентрацию белка в надосадочной жидкости определяли спектрофотометрическим методом при $\lambda=280$ нм. Сорбционную емкость рассчитывали по формуле:

$$Q = (C_i - C_f) / S,$$

где S — навеска альгината кальция в г, V — объем раствора белка в л, Q — начальная и конечная концентрации белка в растворе соответственно, в мг/л.

При расчете сорбционной емкости учитывали собственное светопоглощение водного извлечения из альгината кальция, приготовленного параллельно в идентичных условиях. Для построения изотерм адсорбции при комнатной температуре одинаковые навески альгината кальция помещали в растворы, содержащие разное количество сорбируемого белка. Через время, необходимое для установления равновесия, определяли равновесные концентрации сорбируемого белка и для каждой концентрации рассчитывали сорбционную емкость альгината кальция. Полученные результаты наносили на график, где на оси ординат откладывали сорбционную емкость альгината, а на оси абсцисс — соответствующие им значения равновесных концентраций белка (Ceq).

Для исследования зависимости сорбционной емкости альгината кальция от рН использовали следующие буферные растворы: 0,2М ацетатный