

ВЛИЯНИЕ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТОК СЕРТОЛИ И ЛЕЙДИГА КРЫС

Бречка Н. М.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков

Бесплодный брак, как в нашей стране, так и за рубежом, остается одной из ключевых социальных и медицинских проблем. Учитывая результаты исследований последних лет, свидетельствующие об ухудшении качества спермы, можно сказать, что в этиологии бесплодия в настоящее время все большее значение приобретает мужской фактор [1, 2]. Однако, несмотря на актуальность проблемы, до конца еще не изучен патогенез многих заболеваний репродуктивной системы и, как следствие, не решена проблема с назначением адекватной терапии патологического состояния. Принято считать, что образ жизни (стресс, качество питания, курение, алкоголь), а также неблагоприятные внешние воздействия, включающие профессиональные вредности, неблагоприятную экологическую ситуацию и т. д., приводят к снижению фертильности [3]. Отсутствие понимания возможных составляющих мужской стерильности может привести к ошибке в диагнозе и лечении. Несомненным является то, что от понимания механизмов действия тех или иных повреждающих факторов зависит правильный подбор лекарственной терапии.

Известно, что сперматогенез происходит в извитых семенных канальцах, выстланных клетками Сертоли и герминативными клетками, окружёнными перитубулярными клетками и миоцитами. Основной функцией клеток Сертоли является обеспечение развития половых клеток — сперматозоидов.

За счёт плотных соединений между собой клетки Сертоли формируют гематотестикулярный барьер. Кроме того, клетки Сертоли секретируют ингибин, а также андроген-связывающий белок, модулирующий андрогенную активность в семенных канальцах [4, 5]. Нормальная функция клеток Сертоли обеспечивается за счёт регулирующего влияния фолликулостимулирующего гормона и высокой интрацеллюлярной концентрации тестостерона.

Клетки Лейдига располагаются в интерстициальной ткани между семенными канальцами и синтезируют тестостерон под воздействием лютеинизирующего гормона. Для нормального сперматогенеза необходима высокая внутрияичковая концентрация тестостерона. Таким образом, нормальный сперматогенез требует комплексного взаимодействия между клетками Сертоли, Лейдига и герминативными клетками [5]. Нарушение функционального состояния любых из этих клеток может негативно сказаться на течении сперматогенеза.

В этой связи особый интерес приобретают исследования по изучению негативного влияния различных факторов на функцию семенников, например, влияния серотонина гидрохлорида [6]. Ранее нами было установлено, что серотонина гидрохлорида в дозе 5 мг/кг нарушает метаболизм поддерживающих эпителиоцитов и интерстициальных эндокриноцитов семенников крыс. Резко снижается синтетическая и репаративная

активность, структурным подтверждением чего является фрагментация мембран эндоплазматической сети, уменьшение числа рибосом, полисом и секреторных гранул, увеличение числа вторичных лизосом, а также редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи [6]. В настоящее время ведется поиск препаратов, предотвращающих деструктивные воздействия на репродуктивную систему [7]. В частности, использование препаратов, содержащих гликозаминогликаны, выявило их эффективность в терапии простатитов, циститов, а также некоторых видов бесплодия (показано их по-

ложительное влияние на состояние сперматогенеза) [8]. Кроме того, доказано, что важная роль в регуляции функционирования семенников принадлежит протеогликанам. В организме при синтезе протеогликанов в соединительной ткани используется высокомолекулярный мукополисахарид, гликозаминогликан — хондроитина сульфат [8].

Целью нашей работы явилось исследование субмикроскопической архитектоники клеток Сертоли и Лейдига, подвергшихся деструктивному воздействию серотонина гидрохлорида, и возможности коррекции этого состояния хондроитина сульфатом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на половозрелых самцах крыс популяции Вистар с массой тела 280–350 г, которым за три дня до начала введения серотонина гидрохлорида, на фоне введения серотонина (14 суток) и в течение трех суток после инъекций серотонина вводили хондроитина сульфат внутривентрикулярно в дозе 60 мг/кг массы тела. Серотонина гидрохлорид (Alfa Aesar®) вводили в течение 14 суток подкожно в дозе 5 мг/кг [9].

Животных выводили из эксперимента путем декапитации на 21 сутки в соответствии с национальным «Общим этическим принципом экспериментов на животных», согласующихся с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [10].

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани семенника под-

вергали предварительной фиксации в 2,5 % забуференном растворе глутарового альдегида в течение 5–6 часов при температуре 4 °C, после чего промывали в буферном растворе. Окончательную фиксацию проводили в 1 % забуференном растворе четырехоксида осмия. Обезвоживание ткани проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Затем ткань пропитывали в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) по стандартным методикам [11, 12]. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °C в течение 48 часов. Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-3М изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После введения хондроитина сульфата крысам на фоне деструктивного воздействия серотонина гидрохлорида обнаружены компенсаторные и репаративные перестройки субмикроскопической архитектоники клеток Сертоли и Лейдига.

Так, ядра клеток Сертоли имели четко контурированную ядерную мембрану. Очаги лизиса ядер практически отсутствовали, но сохранялись очаги разрыхления. Ядер-

ный хроматин большей частью присутствовал в деконденсированной форме (рис. 1а).

Перинуклеарные пространства имели равномерную ширину. Вместе с тем в препаратах встречались поддерживающие эпителиоциты, имеющие очень сильно расширенные перинуклеарные пространства, заполненные электронно-прозрачным веществом.

Характерной для этой группы животных являлась гипертрофия пластинчато-

го цитоплазматического комплекса Годдджи (рис. 1б). На срезах он представлял собой группы параллельно ориентированных гладких мембран, окруженных множеством мелких везикул, большая часть которых заполнена электронно-прозрачной субстанцией. Определенные везикулы содержали вещество средней электронной плотности и мелкозернистой структуры.

Цитоплазма клеток Сертоли заполнена довольно большим количеством полиморфных митохондрий. Встречались митохондрии с просветленным матриксом мелковолоконистой структуры. Крист в них достаточно много (рис. 1в), есть делящиеся митохондрии. Очаги лизиса наружных мембран митохондрий отсутствовали, а кристы митохондрий были существенно разрыхлены.

Гладкий эндоплазматический ретикулум представлен большим количеством расширенных цистерн, имеющих вид вакуолей, различной величины и формы (рис. 1г). В цитоплазме располагались многочисленные рибосомы и полисомы.

В препаратах присутствовали клетки Сертоли с вакуолизированным агранулярным эндоплазматическим ретикулулом, его

цистерны были электронно-прозрачны. Наблюдалась очаги деструкции и разрыхления отдельных мембран. Сохранялось разрыхление и цитоплазматической мембраны.

Субмикроскопическая архитектура интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига) в большей мере сохраняла черты дистрофических изменений, возникших под воздействием серотонина гидрохлорида. После введения хондроитина сульфата несколько снизилась степень конденсации ядерного хроматина. Структура ядерной мембраны оставалась разрыхленной, однако очаги ее деструкции отсутствовали. Перинуклеарные пространства были равномерно расширены. Митохондрии приобретали округлую форму и были различной величины. Митохондрии с очагами лизиса наружных мембран и крист отсутствовали. Матрикс митохондрий приобретал очень высокую электронную плотность (рис. 2а).

Цитоплазма интерстициальных эндокриноцитов содержала большое количество рибосом, полисом, включений липидов, секреторных гранул и многочисленные вакуоли гладкого эндоплазматического ретикулума (рис. 2б).

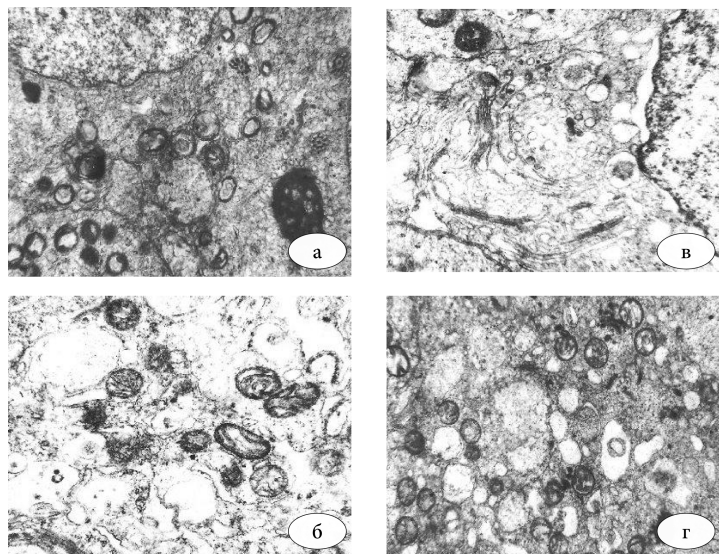


Рис. 1. Ультраструктура клеток Сертоли семенников крыс, получавших хондроитина сульфат на фоне серотонина гидрохлорида.

- а) четко контурированная ядерная мембрана, деконденсация хроматина, $\times 29\,000$;
- б) гипертрофия пластинчатого цитоплазматического комплекса Годдджи, $\times 38\,000$;
- в) увеличение количества крист в митохондриях, $\times 32\,000$;
- г) вакуоли агранулярной эндоплазматической сети, $\times 29\,000$.

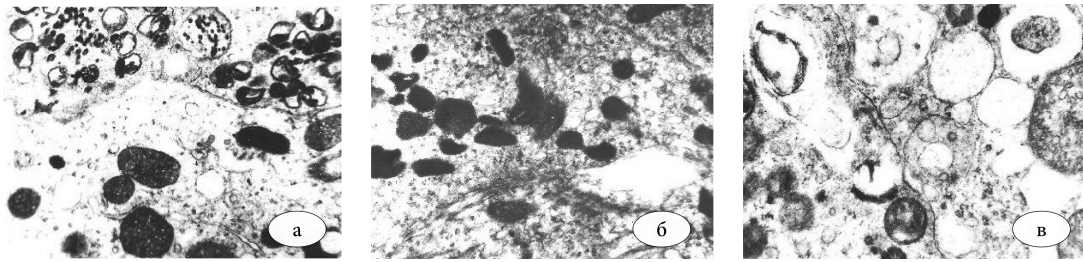


Рис. 2. Ультраструктура клеток Лейдига семенников крыс, получавших хондроитина сульфат на фоне серотонина гидрохлорида.

- а) повышение электронной плотности митохондрий, $\times 30\,000$;
- б) скопление секреторных гранул в цитоплазме, $\times 34\,000$;
- в) разрыхление наружных мембран и крист митохондрий, $\times 37\,000$.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Годьджи был умеренно гипертрофирован. Стопки параллельно ориентированных гладких мембран окружены многочисленными везикулами. Цитоплазматическая мембрана четко контурирована, без существенных изменений и очагового разрушения.

Наряду с этим в цитоплазме отдельных клеток Лейдига обнаруживались очень крупные вакуоли гладкой эндоплазматической сети, содержащие тонковолокнистую субстанцию. Часть мембран гладкого эндоплазматического ретикулума была очагово разрушена. Митохондрии в этих клетках содержали лизированные трубчатые кристы. Наружные мембраны митохондрий были утолщены и разрыхлены, однако очаги их деструкции отсутствовали (рис. 2в).

Таким образом, исследование субмикроскопической организации клеток Сертоли и Лейдига крыс, подвергшихся воздействию серотонина гидрохлорида и получавших хондроитина сульфат, выявило развитие компенсаторных и репаративных процессов, проявляющихся появлением делящихся форм митохондрий, гиперплазией

мембран эндоплазматического ретикулума и гипертрофией пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Под влиянием хондроитина сульфата снижалась степень выраженности митохондриальной дисфункции, нормализовалась ультраструктурная организация митохондрий. Кроме того, в цитоплазме появлялись делящиеся митохондрии. Обнаруженные трансформации структуры митохондрий свидетельствуют о восстановлении внутриклеточной биоэнергетики, что влечет за собой активацию синтетических, репаративных и секреторных процессов. Структурно это проявлялось существенным снижением количества очагов лизиса внутриклеточных мембран, увеличением числа рибосом и полисом. В цитоплазме уменьшалось количество вторичных лизосом и включений липидов, что является структурным проявлением превалирования синтетических процессов над катаболическими. Следовательно, введение хондроитина сульфата способствует полному восстановлению типичной ультраструктурной организации клеток Лейдига и Сертоли, нарушенной негативным влиянием серотонина гидрохлорида.

ВЫВОДЫ

1. Хондроитина сульфат способствует восстановлению типичной архитектуры митохондрий клеток Сертоли и Лейдига семенников крыс, подвергшихся деструктивному влиянию серотонина гидрохлорида.
2. Хондроитина сульфат способствует

нормализации субмикроскопической организации митохондрий, что структурно проявляется отсутствием очагов лизиса наружных мембран и крист, а также появлением делящихся форм и свидетельствует о восстановлении

- биоэнергетики, адекватной потребностям клеток.
3. Коррекция биоэнергетики клеток Сертоли и клеток Лейдига под воздействием

хондроитина сульфата влечет за собой активацию синтетических процессов и репарацию внутриклеточных структур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лечение экскреторно-токсического бесплодия, вызванного хламидийной инфекцией [Текст] / В. Н. Лесовой, А. В. Аркатов, А. В. Книгавко, Н. С. Пономаренко // Здоровье мужчины. — 2007. — Т. 20, № 1. — С. 129–132.
2. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению [Текст] / Под ред. В. И. Кулакова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 616 с.
3. *Калинченко, С. Ю.* Практическая андрология [Текст] / С. Ю. Калинченко, И. А. Тюзиков. — М.: Практическая медицина, 2009. — 399 с.
4. *Пшеничникова, Т. Я.* Бесплодие в браке [Текст] / Т. Я. Пшеничникова. — М.: Медицина, 1991. — 318 с.
5. *Райцина, С. С.* Современные проблемы сперматогенеза [Текст] / С. С. Райцина. — М.: Медицина, 1982. — С. 73–107.
6. *Бречка, Н. М.* Нарушение ультраструктуры клеток Сертоли и Лейдига под воздействием серотонина гидрохлорида [Текст] / Н. М. Бречка, В. П. Невзоров, В. А. Бондаренко, Е. М. Коренева, Н. Г. Малова [и др.] // Пробл. эндокрин. патол. — 2012. — № 2. — С. 73–79.
7. *Горпинченко, И. И.* Исследование эффективности препарата Трибестан в лечении больных с эректильной дисфункцией [Текст] / И. И. Горпинченко, А. Ю. Гурженко // Здоровье мужчины. — 2008. — № 8. — С. 89–94.
8. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на сперматогенез щурів при його порушенні серотоніном [Текст] / Г. В. Зайченко, Л. В. Яковлева, І. Г. Бутенко, Ю. Б. Лар'яновська // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2008. — № 1–3. — С. 74–79.
9. *Бутенко, І. Г.* Корекція препаратами йохімбегенез та йохімбе-гармонія порушень сперматогенезу у щурів, викликаних серотоніном [Текст] / І. Г. Бутенко, Ю. Б. Лар'яновська // Експеримент. та клініч. медицина. — 2000. — № 3. — С. 18–21.
10. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.
11. *Данилова, Л. В.* Ультраструктурные исследования сперматогенеза [Текст] / Л. В. Данилова. — М.: Наука, 1978. — 250 с.
12. *Дедов, В. И.* Ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига у крыс в норме и в условиях длительного внутреннего облучения [Текст] / В. И. Дедов // Цитология. — 1980. — Т. 22, № 10. — С. 1153–1157.

ВПЛИВ ХОНДРОЇТИНУ СУЛЬФАТУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛІТИН СЕРТОЛІ ТА ЛЕЙДІГА ЩУРІВ

Бречка Н. М.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків

Вивчено особливості ультраструктури клітин Лейдига та Сертолі сім'яників щурів під впливом хондроїтину сульфату після деструкції серотоніну гідрохлоридом. Встановлено, що хондроїтину сульфат сприяє відновленню субмікроскопічної організації мітохондрій клітин Сертолі та Лейдига, порушених деструктивним впливом серотоніну гідрохлоридом, що структурно підтверджується відсутністю вогнищ лізису зовнішніх мембран і крист, появою форм, що діляться. Це свідчить про відновлення адекватної потребам клітин біоенергетики. Корекція біоенергетики клітин Сертолі і Лейдига під впливом хондроїтину сульфату призводить до активації синтетичних процесів і репарації внутрішньоклітинних структур.

К л ю ч о в і с л о в а: сперматогенез, деструкція клітин Сертолі і Лейдига, серотоніну гідрохлорид, хондроїтину сульфат.

ВЛИЯНИЕ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТОК СЕРТОЛИ И ЛЕЙДИГА КРЫС

Бречка Н. М.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,
г. Харьков

Изучены особенности ультраструктуры клеток Лейдига и Сертоли семенников крыс под влиянием хондроитина сульфата после деструктивного воздействия серотонина гидрохлорида. Установлено, что хондроитина сульфат способствует восстановлению субмикроскопической организации митохондрий клеток Сертоли и Лейдига, что структурно проявляется отсутствием очагов лизиса наружных мембран и крист, появлением делящихся форм. Это свидетельствует о восстановлении адекватной потребностям клеток биоэнергетики. Коррекция биоэнергетики клеток Сертоли и клеток Лейдига под воздействием хондроитина сульфата влечет за собой активацию синтетических процессов и репарацию внутриклеточных структур.

К л ю ч е в ы е с л о в а: сперматогенез, деструкция клеток Лейдига и Сертоли, серотонина гидрохлорид, хондроитина сульфат.

THE INFLUENCE OF THE CHONDROITINE SULPHATE ON THE SERTOLI AND LEYDIG CELLS ULTRASTRUCTURE

N. M. Brechka

SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv

The peculiarities of the Sertoli and Leydig cells ultrastructure testis of rats under influence of the chondroitine sulphate after destructive influence of the serotonin hydrochloride have been studied. It determined that chondroitine sulphate furthers to retrieve of the typical architectonics of the testis of rats Sertoli and Leydig cells have been undergone of destructive impact of serotonin hydrochloride. Chondroitine sulphate furthers to normalization of submicroscopic mitochondrial organization manifesting by absence of the lysis areas of the external membranes and crystals and by appearance of the dividing forms. The adequate cells bioenergy consumption is renewing. The Sertoli and Leydig cells bioenergy correction under the influence of chondroitine sulphate lead to activation of the synthetic processes and to the reparation of intracellular structure.

Key words: spermatogenesis, Sertoli and Leydig cells destruction, serotonin hydrochloride, chondroitine sulphate.