

## НАРУШЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК СЕРТОЛИ И ЛЕЙДИГА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СЕРТОНИНА ГИДРОХЛОРИДА

Бречка Н. М., Невзоров В. П.<sup>1</sup>, Коренева Е. М., Малова Н. Г., Рычкова С. С.,  
Иванникова С. В., Бойко М. А.

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

<sup>1</sup>ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины», г. Харьков

Репродуктивные проблемы в браке, включающие бесплодие, являются важной составляющей негативных демографических процессов, поэтому попытки их разрешения имеют не только медицинскую, но и социальную значимость. Действительно, последние годы характеризуются тревожным ростом числа бесплодных браков, которое не имеет тенденции к уменьшению [1, 2]. Это связано с огромным числом разнообразных факторов, значимость которых рассматривается многими учеными [3–5]. Ряд авторов обращают внимание, что сочетание мужского и женского факторов в бесплодном браке может колебаться от 40 до 80 % [1, 3]. Вместе с тем, многие проблемы мужской репродукции остаются открытыми. До конца не ясна роль варикоцеле в формировании инфертильности у мужчин, отсутствуют эффективные медикаментозные методы терапии иммунологического бесплодия, не разработаны вопросы лечения идиопатической патозооспермии. На сегодняшний день по-прежнему нет возможности активно влиять на сперматогенез, актуальной остается проблема олигозооспермии и астенозооспермии. Решение этих вопросов в настоящее время возможно только с помощью раскрытия механизмов, вызывающих эти патологические состояния [3–5].

Известно, что в регуляции процесса сперматогенеза у млекопитающих активное участие принимают клетки Сертоли и Лей-

дига. Источником образования тестостерона, необходимого для созревания сперматогенного эпителия, непосредственно являются интерстициальные эндокриноциты. Этот процесс поддерживается благодаря sustentоцитам [6–8]. Известно, что они выполняют опорную и трофическую функции для сперматогенного эпителия. Из этого следует, что нарушение функционального состояния этих клеток может негативно сказаться на течении сперматогенеза.

Для изучения патологии гонад в эксперименте была создана модель серотонинового повреждения яичек [9]. В механизме развития данной патологии ведущую роль играет сосудосуживающее действие серотонина. Возникает спазм сосудов, гипоксия, ишемия в тканях яичка, с последующим нарушением трофики и возникновением патологических изменений в этом органе, что, в некоторой степени, может экспериментально воспроизвести состояние при варикоцеле. Этот процесс замедляет дифференцировку половых клеток и вызывает изменения в морфофункциональном состоянии семенника [9]. Также, на фоне нарушения трофики, при этой модели гипогонадизма возникают изменения секреции ЛГ и ФСГ гипофизом, синтеза ингибина sustentоцитами и стероидогенеза в гландулоцитах [9]. Введение серотонина гидрохлорида в дозе 5 мг/кг в течение 14 суток, которое было использовано и в нашей работе, вызывает наруше-

ние процесса сперматогенеза и морфоструктуры яичек у самцов крыс, что ранее было показано с помощью световой микроскопии [10]. Однако не исследовалось, какими изменениями ультрамикроструктуры яичка этот процесс сопровождается. Изучение восстановления ультрамикроструктуры семенника важно не только для описания патологии, но и для патогенетического обосно-

вания фармакотерапевтической коррекции спермопатий.

В связи с этим целью нашей работы было выявление последствий деструктивного влияния серотонина гидрохлорида на ультраструктуру клеток Лейдига и Сертоли, играющих ключевую роль в регуляции процесса сперматогенеза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводили на половозрелых самцах крыс популяции Вистар массой 280–350 г. Животные были разделены на две группы: первая группа — интактные крысы; вторая группа — крысы с экспериментальной патологией яичек, которую моделировали путем подкожного введения серотонина гидрохлорида (Alfa Aesar®) в дозе 5 мг/кг в течение 14 суток [10].

Животных выводили из эксперимента путем декапитации на 15 сутки в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» [11].

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани семенника подвергали предварительной фиксации в 2,5% забуференном растворе глотарового альдегида в течение 5–6 часов при температуре

4 °С, 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 [7, 8]. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60 °С 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

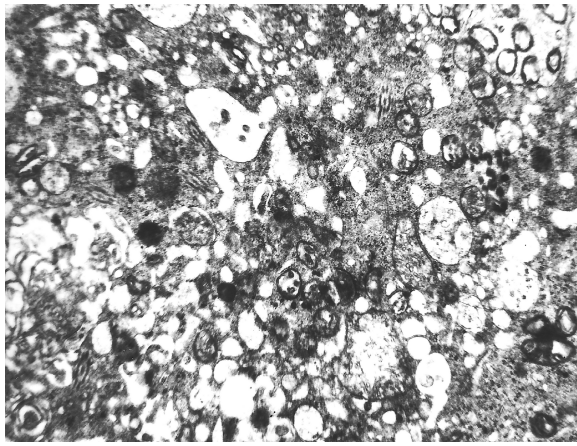
При электронно-микроскопическом исследовании препаратов интактных крыс ультраструктурная организация клеток Сертоли, Лейдига и клеток сперматогенного ряда соответствовала современным представлениям [6–8] (рис. 1). Нарушения внутриклеточных мембранных структур отсутствовали, что свидетельствовало об адекватной гистологической обработке материала.

Клетки Сертоли имели ядра неправильной формы, ядерная мембрана образовывала глубокие инвагинации. В матриксе ядра определялось осмиофильное ядрышко с околядрышковым хроматином. В цитоплазме присутствовали неизмененные митохондрии, цистерны гранулярного ретикулума, хорошо развитый пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи, а также микротрубочки, лизосомы и включения липидов. Цитоплазматическая мембрана образовывала углубления, в которых располагались сперматоциты и сперматозоиды. Ультраструктура последних не изменена и соответствовала стадиям развития. Базальная мембрана имела типичное строение и среднюю электронную плотность (рис. 1а).

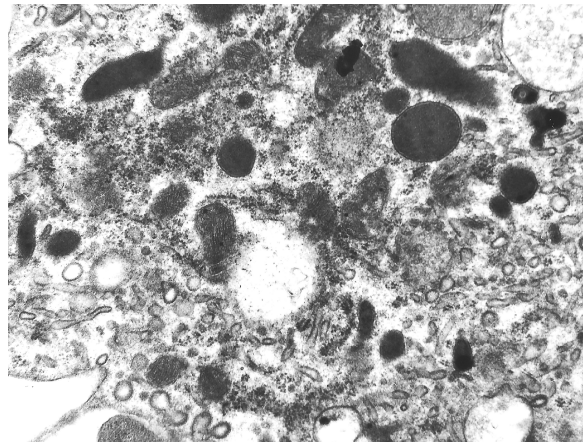
Интерстициальные эндокриноциты (клетки Лейдига) располагались около кровеносных сосудов, имели округлые ядра с 1–2 ядрышками.

В цитоплазме обнаруживался хорошо развитый гладкий эндоплазматический ретикулум, представляющий собой многочисленные ветвящиеся трубочки, заполненные

хорошо развитый гладкий эндоплазматический ретикулум, представляющий собой многочисленные ветвящиеся трубочки, заполненные

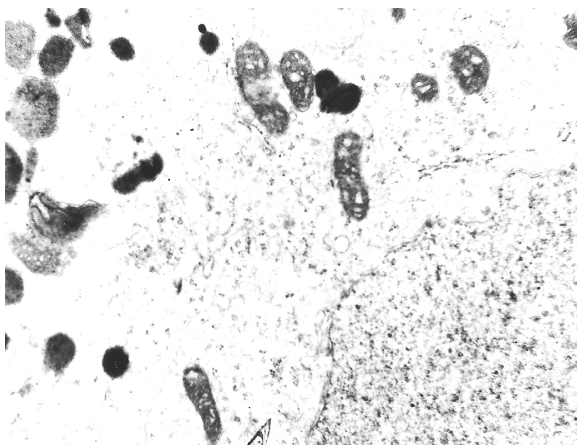


*a*

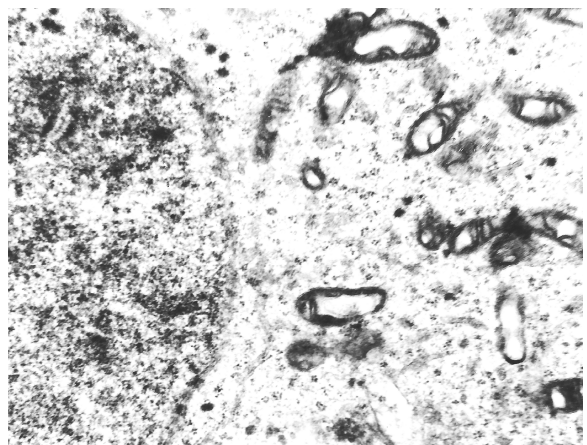


*б*

Рис. 1. Ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига intactных крыс. Контрастировано цитратом свинца (*a* — фрагмент цитоплазмы клеток Сертоли,  $\times 31000$ ; *б* — цитоплазма клеток Лейдига,  $\times 30000$ ).



*a*



*б*

Рис. 2. Ультраструктура клеток Сертоли крыс, подвергшихся воздействию серотонина гидрохлорида. Контрастировано цитратом свинца (*a* — лизис ядерной мембраны,  $\times 32000$ ; *б* — просветление матрикс митохондрий,  $\times 32000$ ).

тонковолокнистой субстанцией, на мембранах присутствовали многочисленные рибосомы. Митохондрии мелкие, с осмиофильным матриксом и небольшим числом крист. Характерным является наличие в цитоплазме различных по величине и электронной плотности секреторных гранул, локализирующихся вблизи хорошо развитого пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Цитоплазматическая мембрана соответствует по структуре элементарной мембране (рис. 1б).

При электронно-микроскопическом исследовании препаратов второй группы крыс, подвергнутых воздействию серотонина гидрохлорида, были выявлены дистрофические и деструктивные нарушения субмик-

роскопической организации органелл клеток Сертоли и Лейдига, а также сперматогенных клеток различной дифференцировки (рис. 2).

Цитоплазма клеток Сертоли просветлена. Ядра содержали матрикс очень низкой электронной плотности. Ядерный хроматин находился в деконденсированной форме и был диффузно рассеян по матриксу ядра. Ядерная мембрана теряла четко контурированную структуру и содержала множественные очаги лизиса. В отдельных поддерживающих эпителиоцитах наблюдался тотальный лизис ядерной мембраны (рис. 2а).

В отдельных клетках Сертоли ядра были пикнотичны. Митохондрии имели преимущественно округлую форму и со-

держали електронно-прозрачний матрикс (рис. 2б). Кристы у значительного количества митохондрий были подвержены лизису. Нередко наблюдалась гомогенизация митохондриального матрикса. Встречались клетки Сертоли с тотально разрушенными митохондриями, которые имели вид вакуолей, заполненных конгломератом, состоящим из лизированных крист.

Цистерны гладкого эндоплазматического ретикулума расширены, заполнены электроннопрозрачной субстанцией. Мембраны его очагово разрушены. Гранулярный эндоплазматический ретикулум развит слабо и представлен отдельными цистернами, на мембранах которых располагаются единичные рибосомы. Встречались клетки Сертоли с фрагментированными мембранами гранулярной эндоплазматической сети.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи подвержен редукции, его гладкие мембраны хаотически ориентированы. Скопления гладких мембран были окружены небольшим количеством крупных электронно-прозрачных вакуолей. В области локализации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи располагались вторичные лизосомы и включения липидов, часть которых ограничена гладкой мембраной.

В цитоплазме некоторых поддерживающих клеток присутствовали фагоцитированные, дегенеративно измененные фрагменты мембран и органелл сперматогенных клеток. Наблюдается резкое уменьшение количества рибосом и полисом в сравнении с интактной группой.

Базальная мембрана имела неравномерную ширину и различную электронную плотность. Цитоплазматическая мембрана клеток Сертоли сильно разрыхлена и имела большое количество очагов разрушения.

В группе экспериментальных животных, подвергнутых воздействию серотонина гидрохлорида, наблюдаются субмикроскопические изменения органелл интерстициальных клеток дистрофического и деструктивного характера (рис. 3). Ядерная мембрана клеток Лейдига образовывала глубокие и мелкие инвагинации. Ее структура разрыхлена, в ней обнаруживаются очаги лизиса. Ка-

риоплазма имеет низкую электронную плотность, что свидетельствует о внутриклеточном отеке. Матрикс ядра содержит преимущественно конденсированный хроматин, собранный в осмиофильные глыбки, которые концентрируются вблизи ядерной мембраны. Небольшое количество гранул деконденсированного хроматина располагается в центральной области матрикса. В отдельных glanduloцитах выявляются компактные осмиофильные ядрышки. В препаратах присутствуют glanduloциты с пикнотичными ядрами.

Наиболее ярко выраженные дистрофические и деструктивные изменения наблюдались в ультраструктурной организации митохондрий. Они имели неправильную форму и различные размеры. Наружные мембраны митохондрий очагово, а иногда и тотально, разрушены. Матрикс митохондрий обладает высокой электронной плотностью и грубо волокнистой структурой. Встречаются митохондрии с гомогенизированным матриксом. Кристы митохондрий укорочены, а часть крист разрушена (рис. 3а).

Цистерны гладкого эндоплазматического ретикулума имеют вид вакуолей, заполненных электронно-прозрачным содержанием (рис. 3б).

Значительное количество клеток Лейдига имели фрагментированный гладкий эндоплазматический ретикулум. Гиалоплазма glanduloцитов существенно просветлена и содержит очень мало свободных рибосом и полисом.

Обнаружено также, что под воздействием серотонина гидрохлорида развиваются деструктивные нарушения и в ультраструктурной организации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Его гладкие мембраны хаотически ориентированы и окружены единичными крупными электронно-прозрачными вакуолями, липидными включениями и секреторными гранулами. Цитоплазматическая мембрана glanduloцитов разрыхлена, утолщена, обладает высокой электронной плотностью, встречаются и очаги лизиса.

Таким образом, проведенное электронно-микроскопическое исследование ульт-

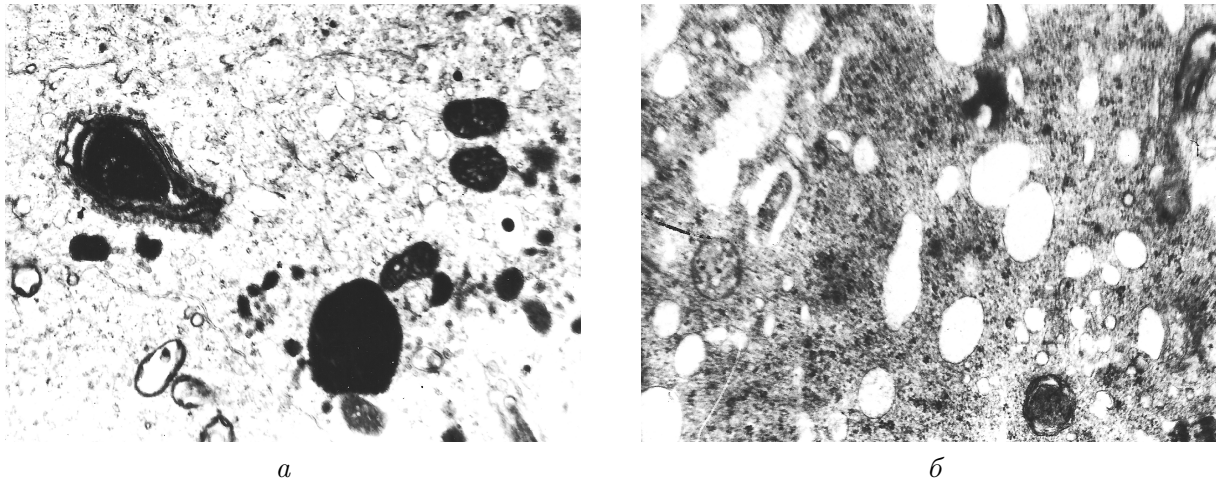


Рис. 3. Ультраструктура клеток Лейдига семенников крыс, подвергшихся воздействию серотонина гидрохлорида. Контрастировано цитратом свинца (*a* — гомогенизация матрикса митохондрий,  $\times 35000$ ; *b* — вакуолизация цистерн гладкой эндоплазматической сети,  $\times 34000$ ).

траструктурной организации поддерживающих эпителиоцитов (клеток Сертоли) и интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига) семенников крыс после воздействия серотонина гидрохлорида выявило развитие в них дистрофических и деструктивных нарушений субмикроскопической организации.

Наиболее чувствительными к негативному влиянию серотонина гидрохлорида оказались митохондрии. Разрыхление и очаговый лизис, как наружных мембран, так и крист, указывают на нарушение внутриклеточных окислительно-восстановительных реакций. Под воздействием серотонина гидрохлорида на внутриклеточном уровне развивается митохондриальная дисфункция, в поддерживающих эпителиоцитах и интерстициальных эндокриноцитах нарушается биоэнергетическое обеспечение синтетических и репаративных процессов.

Косвенным подтверждением нарушения

внутриклеточного метаболизма является обнаруженная нами редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, уменьшение количества рибосом и полисом в цитоплазме, очаговая деструкция мембран как гранулярного, так и агранулярного эндоплазматического ретикула.

На развитие под влиянием серотонина катаболических процессов указывает и появление в цитоплазме клеток Сертоли и Лейдига вторичных лизосом и включений липидов. Вместе с тем, часть клеток находится в состоянии некролиза, сопровождающегося необратимыми катаболическими процессами, что структурно выражается тотальным лизисом мембран и крист митохондрий, фрагментацией мембран эндоплазматической сети, редукции пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, а также лизисом кариолеммы и цитоплазматических мембран.

## ВЫВОДЫ

1. Воздействие серотонина гидрохлорида в дозе 5 мг/кг нарушает ультраструктурную организацию клеток Сертоли и Лейдига в семенниках крыс. Основой этих нарушений следует считать деструкцию мембран и крист митохондрий, что вызывает дефицит биоэнергетического обеспечения синтетических

и репаративных внутриклеточных процессов.

2. 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 наблюдаемая фрагментация мембран эндоплазматической сети, уменьшение числа рибосом, полисом и секреторных гранул, увеличение числа вторичных лизосом, а также редукция пла-

стинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

- Использование серотониновой модели гонадопатий является перспективным для разработки патогенетически обоснованной фармакотерапии патоспермий.

## ЛИТЕРАТУРА

- 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.
- Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению [Текст] / под ред. В. И. Кулакова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 616 с.
- Калинченко, С. Ю. Практическая андрология [Текст] / С. Ю. Калинченко, И. А. Тюзиков. — М.: Практическая медицина, 2009. — 399 с.
- 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.
- Пшеничникова, Т. Я. Бесплодие в браке [Текст] / Т. Я. Пшеничникова. — М.: Медицина, 1991. — 318 с.
- Райцина, С. С. Современные проблемы сперматогенеза [Текст] / С. С. Райцина. — М.: Медицина, 1982. — С. 73–107.
- Данилова, Л. В. Ультраструктурные исследования сперматогенеза [Текст] / Л. В. Данилова. — М.: Наука, 1978. — 250 с.
- 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.
- Бутенко, І. Г. Корекція препаратами йохімбе-генез 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.
- 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.
- Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.

## ПОРУШЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ КЛІТИН СЕРТОЛІ І ЛЕЙДИГА ПІД ДІЄЮ СЕРТОНІНУ ГІДРОХЛОРИДУ

Бречка Н. М., Невзоров В. П.<sup>1</sup>, Коренева Є. М., Малова Н. Г., Ричкова С. С., Іваннікова С. В., Бойко М. О.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків;  
<sup>1</sup> ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії НАМН України», м. Харків

Встановлено, що при введенні серотоніну гідрохлориду порушується ультраструктурна організація клітин Сертолі і Лейдига в сім'яниках щурів. Основою цих порушень слід вважати деструкцію мембран і крист мітохондрій, що викликає дефіцит біоенергетичного забезпечення синтетичних і репаративних внутрішньоклітинних процесів. Серотоніну гідрохлорид порушує метаболізм підтримуючих епітеліоцитів і інтерстиціальних ендокриноцитів сім'яників щурів. Різко знижується синтетична та репаративна активність, структурним підтвердженням чого є фрагментація мембран ендоплазматичного ретикулуму, зменшення кількості рибосом, полісом і секреторних гранул, збільшення числа вторинних лизосом, а також редукція пластинчастого цитоплазматичного комплексу Гольджи.

К л ю ч о в і с л о в а: сперматогенез, серотоніну гідрохлорид, клітини Лейдига і Сертолі, цитоплазма, комплекс Гольджи, мітохондрії, деструкція.

## НАРУШЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК СЕРТОЛИ И ЛЕЙДИГА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СЕРТОНИНА ГИДРОХЛОРИДА

Бречка Н. М., Невзоров В. П.<sup>1</sup>, Коренева Е. М., Малова Н. Г., Рычкова С. С.,  
Иваницова С. В., Бойко М. А.

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

<sup>1</sup>ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины», г. Харьков

Установлено, что при введении серотонина гидрохлорида нарушается ультраструктурная организация клеток Сертоли и Лейдига в семенниках крыс. Основой этих нарушений следует считать деструкцию мембран и крист митохондрий, вызывающую дефицит биоэнергетического обеспечения синтетических и репаративных внутриклеточных процессов. Серотонина гидрохлорид 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.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** сперматогенез, серотонина гидрохлорид, клетки Лейдига и Сертоли, цитоплазма, комплекс Гольджи, митохондрии, деструкция.

## THE VIOLATION OF THE SERTOLI'S AND LEIDIG'S CELLS ULTRASTRUCTURE UNDER THE SEROTONIN HYDROCHLORIDE INFLUENCE

N. M. Brechka, V. P. Nevzorov<sup>1</sup>, E. M. Koreneva, N. G. Malova, S. S. Richkova,  
S. V. Ivannicova, M. A. Boyko

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

<sup>1</sup>SI «Institute for General and Urgent Surgery of the NAMS of Ukraine», Kharkiv

The peculiarities of the Sertoli's and Leidig's cells ultrastructure changes that are playing main role in the spermatogenesis violations owing to serotonin hydrochloride destructive affect has been studied. It has been determined that serotonin hydrochloride subcutaneous introduction in dose of 5 mg/kg during 14 days led to Sertoli's and Leidig's rats cells ultrastructure violations. The basis of these violations should be considered to be the mitochondrial crists and diaphragmatic destruction. Those changes lead to the power supply deficiency of the synthetic and reparative intracellular processes. Serotonin hydrochloride disturbs the metabolism of the rat's testicles supporting epitheliocytes and endocrinocytes. The synthetic and reparative activities are dramatically decreased, that is structurally confirmed by fragmentation of the endoplasmic system diaphragms, by decreasing of the ribosome's, polysome's and secretory granules amount, by increasing of the secondary lisosome's amount and by reduction of Goldgi's cytoplasic complex.

**K e y w o r d s:** spermatogenesis, serotonin hydrochloride, Sertoli's and Leidig's cells, destruction, cytoplasm, Goldgi's complex, mitochondria.