

# УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СПЕРМАТОЗО- ОНОВ ПРИ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ *HERPES SIMPLEX*, *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *TRICHOMONAS VAGINALIS*

Г.И. Маэров, А.Е. Нагорный

ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

ГУ «Институт урологии НАМН Украины»

**Резюме.** Электронномикроскопическое изучение семени при герпесе, хламидиозе и трихомонозе показало возрастание количества патологических форм сперматозоонов на ультраструктурном уровне. Имеют место деформации головки, набухание шейки и структурные изменения ядра - на фоне участков конденсированного хроматина выявляются электроннопрозрачные участки, склонные к слиянию. Ядро расположено в крупной цитоплазматической капле без четких контуров, где обнаруживаются аномальные митохондрии с расширенными кристами. Акросома не определяется. Наличие зернисто-фибрилярной головки, вакуолизация – светлые зоны, лишенные хроматина, сохранение «резидуального тела» (цитоплазматической капли) являются морфологическими признаками тератоспермии на ультраструктурном уровне.

**Ключевые слова:** *Herpes simplex*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, мужское бесплодие, сперматозооны, электронная микроскопия, морфология

## ВВЕДЕНИЕ

У 20 % бесплодных пар мужской фактор является единственной причиной infertility, а еще у 30–40 % вносит свой вклад в бесплодный [13, 14]. При венерическом уретрите в сперме мужчин увеличивается количество лейкоцитов и появляются местные антитела, что может приводить к аутоиммунному ответу к сперматозоонам и развитию иммунологического [2, 4, 9, 12]. На примере генитальной инфекции, вызванной *Ureaplasma urealyticum*, было показано, что при лейкоспермии увеличивается количество супероксидных радикалов, которые повреждают сперматозооны путем перекисного окисления

липидов мембран [6]. Сперматозооны могут повреждаться также протеолитическими ферментами, которые являются компонентом воспалительного процесса. Подвижность половых клеток снижается, и они не в состоянии преодолеть лучистый венец яйцеклетки, что было показано в пенетрационном тесте *in vitro* (Yu J.J., Xu Y.M., 2004) [15]. Персистентная инфекция *C. trachomatis* в предстательной железе и в придатках яичек может быть источником воспалительных цитокинов, которые попадают в эякулят [1, 4]. Было показано, что урогенитальная инфекция воздействует на мужскую фертильность двояко. С одной стороны, она вызывала повреждения сперматозоонов, нарушая их двигательную и пене-

трирующую способность, а с другой – меняла состав семенной плазмы в результате нарушения функций придаточных половых желез. Было установлено, что длительно протекающая хламидийная инфекция вызывает патоспермию у 20 % больных. Чаще наблюдается увеличение рН, вязкости эякулята и снижение подвижности (19 %). Реже происходит уменьшение количества половых клеток в эякуляте (у 14 %) и увеличение процента патологических форм (у 13 %) [3].

При оценке репродуктивной способности мужчин ведущее и решающее значение принадлежит исследованию спермы. Понятия *мужское бесплодие* и *патология эякулята* – не всегда идентичны. Стандартный анализ эякулята на фертильность, даже выполненный с соблюдением всех требований, не всегда может выявить пониженную способность данного индивидуума к зачатию [8]. Весьма полезным является привлечение электронной микроскопии (количественный ультраморфологический анализ) в качестве дополнительного метода оценки фертильности эякулята [13]. Электронная микроскопия позволяет определить два показателя, выражающих степень фертильности эякулята *in vivo* и *in vitro* – *естественный индекс фертильности*, который позволяет оценить возможность естественного зачатия и *индекс искусственного оплодотворения*, позволяющий предположить возможность оплодотворения «в пробирке». Ультраструктурный анализ спермы может выявить морфологические признаки повреждения половых клеток, характерные для варикоцеле, радиационного поражения, воспалительных процессов. Это позволяет, наряду с традиционными методами обследования, определить показания для лечения – оперативное вмешательство, гормональная терапия, вспомогательные репродуктивные технологии, лечение инфекций, противовоспалительная терапия [11].

Причины, обуславливающие наблюдаемые изменения спермы при урогенитальной инфекции, многие исследователи связывают с поражением придатка яичка, чаще всего смешанной хламидийно-бактериальной этио-

логии [7]. Это, как правило, неструктивный пролиферативный эпидидимит с перидуктальной инфильтрацией лимфоцитами, плазматическими клетками и гистиоцитами [3]. Ультраструктурных исследований эякулята при урогенитальной инфекции в литературе единицы (*Collodel G. et al., 2005; Moretti E. et al., 2005*) [9, 10]. В упомянутых работах исследовались мужчины с патологической спермограммой, где авторы выявили повреждения сперматозоонов также и на ультраструктурном уровне. Однако в клинической практике часто имеются случаи, когда мужчина с нормальной спермограммой и совместимостью с цервикальной слизью не может оплодотворить фертильную жену [14]. Такое мужское бесплодие «неясного генеза» не имеет морфофункционального выражения на уровне световой микроскопии. Поэтому желательно исследовать повреждение сперматозоонов на ультраструктурном уровне у мужчин с маркерами *инфекции Herpes simplex, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для ультраструктурного исследования эякулята было задействовано 19 мужчин, живущих в бесплодном браке неясного генеза от 3 до 11 лет (в среднем  $5,3 \pm 0,8$  года). В качестве контрольной группы были отобраны 9 штатных доноров спермы, средний возраст составил  $24,7 \pm 1,2$  лет (21–28 лет). При определении оплодотворяющей способности эякулята использовали рекомендации ВОЗ [8]. Для просвечивающей электронной микроскопии ультратонкие срезы, полученные на микротоме УМТП-7, контрастировали по Рейнольдсу, и изучали с помощью электронного микроскопа ПЭМ-125К и снабженного САИ - 01А на основе CCD камеры DX 2N и пакета программ KAPPA (Germany), при ускоряющем напряжении 75 kV. Для санирующей электронной микроскопии ткани хранили в 96% этаноле до окончательной просушки. Затем покрывали коллоидным золотом с помощью распылителя Pirani 10

(ВОС Edwards, Crawley, UK) и исследовали в растровом электронном микроскопе РЭМ-103-01 (НПП УКРРОСПРИБОР) при ускоряющем напряжении 20-30 kV. Для объективной количественной оценки структурно-функциональных характеристик спермы с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) была применена математическая формула *Baccetti B. et al. (1995)* с вычислением с помощью компьютера. Формула включает 16 переменных, характеризующих процент сперматозоонов с выявленными ультраструктурными изменениями и процент изменений семи органелл сперматозоона – акросомы, постакросомальной пластинки, ядра, шейки, аксонемы, митохондриального чехла и плотных наружных волокон [10, 11]. Проводилась систематическая количественная оценка степени ультраструктурных изменений органелл от нормы (0 баллов), до выраженной патологии (4 балла).

Диагноз генитального герпеса ставился на основании выявления антигена ВПГ 2 типа в ИФА, в тест-системе “Герпескрит” (Ниармедик плюс, Россия), а также с помощью ПЦР (in house), с использованием праймеров, специфичных для Herpes simplex, тип 2 – 5'-GTACAGACCTTCGGAGG-3' и 5'-CGCTTCATCATGGGC-3' [5]. Серологическая диагностика герпеса проводилась с помощью иммуноферментного тест-набора SERION ELISA classic (Вюрцбург, Германия). Лабораторная диагностика хламидиоза проводилась с помощью цитологической диагностики соскобных препаратов, окрашенных в реакции прямой иммунофлуоресценции (ПИФ), а также иммуноферментного анализа (ИФА) и ПЦР. Использовались диагностические системы: “Хламоноскрит” (Ниармедик, Россия), “Chlamydia DFA”, “Chlamydia Microplate EIA” (Санофи Диагностик Пастер, Франция). Материалом для исследования служили соскобы со слизистых оболочек мочеполювых органов, центрифугаты первой порции утренней мочи, сыворотка крови (для исследования на специфические IgG и IgA антитела). Для ПЦР-диагностики использовали тест-систему «Ампли Сенс»

(НИИ Эпидемиологии МЗ РФ, Москва, Россия). Диагностика трихомониаза проводилась с помощью микроскопии и культурального исследования, выявления антител с помощью ИФА и ПЦР. Применялись стандартная питательная среда для выделения и культивирования урогенитальных трихомонад *СКДС* – (ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины») и тест *IN Pouch* (Biomed Diagnostics, Inc. США). Использованы диагностические тест-системы для ПЦР, разработанные фирмой «ЛАГИС» и ЗАО «ВСМ» (Москва), и тест-системы для ИФА (фирма «Вектор-Бест», Новосибирск).

Аналогичные маркеры инфекции были выявлены у жен больных. На момент исследования жены обследованных мужчин жалоб не предъявляли. В анамнезе у них имели место воспалительные гинекологические заболевания – кольпит, вульвовагинит, цервицит, аднексит и уретральный синдром. При этом каких-либо факторов бесплодия у этих женщин не выявлено. Пять женщин имели детей от предыдущего брака.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе эякулята двух исследуемых групп с помощью световой микроскопии средние показатели доноров спермы были лучше, чем у мужчин с маркерами инфекции в плане количества, процента подвижности и процента сперматозоонов с дефектами головки и хвоста. Однако у больных с генитальной инфекцией эти показатели не выходили за пределы нормы, регламентируемой инструкцией ВОЗ, хотя часто и были близки к ее физиологическим границам [348]. Обобщенные данные, полученные с помощью ПЭМ, представлены в таблицах 1 и 2.

Общее среднее количество половых клеток в эякуляте у доноров было в 1,54 раза больше, однако это различие *не было* статистически достоверным при применении всех используемых методов ( $p = 0,47 - 0,53$ ). Ультраструктурные критерии нормальных и патологических сперматозоонов достаточно

хорошо разработаны. Что касается среднего процента нормальных сперматозоонов во всем эякуляте, вычисленного на основании ПЭМ с применением формулы *Vaccetti B. et al.* (1995) [348], то он существенно отличался в двух сравниваемых группах – в 4,9 раза. Статистическая значимость этого отличия весьма высока ( $p = 0,0044 - 0,0051$ ). Поэтому количество зрелых, нормальных с точки зрения ультра-

структуры сперматозоонов у больных урогенитальной инфекцией существенно ниже, чем у мужчин с хорошей и отличной фертильностью. Патологические формы половых клеток выявлены и у доноров спермы, однако их процент достоверно ниже, чем у мужчин с маркерами хламидийной, трихомонадной и бактериальной инфекции, и характер ультраструктурных изменений отличается.

Таблица 1

**Общая характеристика эякулята 9 здоровых доноров спермы с помощью электронной микроскопии**

Случай	Общее количество сперматозоонов в эякуляте ( $\times 10^6$ )	Процент нормальных сперматозоонов	Общее количество нормальных сперматозоонов в эякуляте ( $\times 10^6$ )
1	408	6,1	25
2	243	34,9	86
3	300	20,3	61
4	340	13,8	47
5	500	25,5	126
6	200	12,1	24
7	234	9,7	23
8	1000	37,0	371
9	1000	47,5	480
<b>Среднее</b>	<b>546±150</b>	<b>23,0±4,7</b>	<b>138±150</b>

В группе из 9 здоровых фертильных мужчин в среднем 77 % сперматозоонов имели изменения на ультраструктурном уровне – чаще всего незначительные. Интересно, что в плане ультраструктурной патологии отдельных по-

ловых клеток контрольная группа фертильных мужчин была неоднородной. Доля патологических сперматозоонов колебалась от 53% до 94% (табл. 1). Характер ультраструктурных изменений сперматозоонов показан на рис. 1–4.

Общая характеристика эякулята 19 мужчин, живущих в бесплодном браке, имеющих маркеры хламидийно-трихомонадно-бактериальной инфекции, с помощью электронной микроскопии

Случай	Общее количество сперматозоонов в эякуляте ( $\times 10^6$ )	Процент нормальных сперматозоонов	Общее количество нормальных сперматозоонов в эякуляте ( $\times 10^6$ )
1	120	5,2	4
2	195	5,8	11
3	940	1,4	13
4	300	4,4	13
5	360	6,1	22
6	240	6,0	14
7	120	6,3	5
8	238	7,0	13
9	940	1,7	16
10	366	5,3	15
11	439	7,4	26
12	240	6,0	14
13	120	4,2	4
14	160	4,7	9
15	940	1,2	11
16	246	3,6	11
17	295	5,0	18
18	240	4,0	9
19	240	4,0	9
<b>Среднее</b>	<b>355±63</b>	<b>4,7±0,4</b>	<b>12,5±1,3</b>

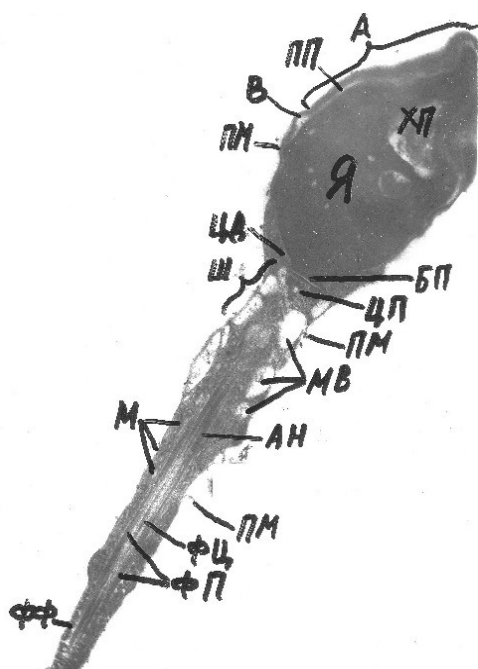


Рисунок 1 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у фертильных мужчин,  $\times 12000$

На рис. 1 представлен зрелый сперматозоон фертильного мужчины. На продольном ультратонком срезе определяется деформированная удлинённая головка овальной формы с изогнутой заостренной апикальной частью и утолщенной плазматической мембраной (ПМ). Акросома (А) неравномерной толщины, местами набухшая, и охватывает половину поверхности ядра (Я), внутренняя и наружная мембраны ее неразличимы, очевидно, в результате набухания. В расширенном периакросомном пространстве (ПП) имеется небольшое выпячивание, формирующее мембранную вакуоль (В). Ядро электронноплотное с конденсированным хроматином большей частью в виде плотно упакованной гиалиноподобной базофильной массы, среди которой, наряду с мелкими, имеется достаточно большой участок просветления хроматина (ХП) с выраженной зернистостью.

Ядерная оболочка неразличима. Базальная пластинка (БП) сохранена. Шейка (Ш) слабо структурирована. Определяется ядерное кольцо дистальной центриоли (ЦД), а также зона проксимальной центриоли (ЦП). Сегментированные столбики и центриолярный отросток не обнаруживаются. В остаточной цитоплазматической капле (ЦК) выявляются крупные электроннопрозрачные микровезикулы (МВ) и участок разрыва ПМ. Средний отдел жгутика на своем протяжении разной электронной плотности, что приводит к недостаточной четкости кинетического аппарата – аксонемы (АН). Длинная ось ее совпадает с длинной осью головки сперматозоона. Выявляются разной степени выраженности центральные (ФЦ) и периферические фибриллы (ФП). В остатке цитоплазмы определяется декомпозиция митохондриальной спирали с множеством мелких митохондрий (М), часть из которых выглядит набухшими, с нарушенными контурами. Имеются участки разрыва ПМ. Основной отдел жгутика с выраженным фибриллярным футляром (ФФ).

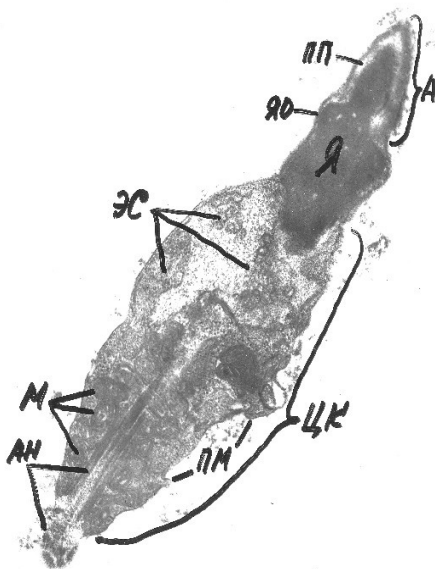


Рисунок 2 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у фертильных мужчин,  $\times 12000$

На рис. 2 показан продольный ультратонкий срез части зрелого сперматозоона. Определяется неправильной овальной формы сморщенная головка – микроголовка с заостренным апикальным концом и дефор-

мированным электронноплотным ядром (Я). Хроматин ядра хорошо конденсирован, упакован компактно и представлен относительно гомогенной электронноплотной массой. Ядерная оболочка (ЯО) выглядит размытой, местами неразличимой. Акросома охватывает около половины поверхности головки, при этом ее границы слияния с ЯО плохо различимы, а слои неравномерной толщины и гомогенизированы. Отмечается значительное расширение ПП. Структурные отделы шейки и среднего отдела жгутика не определяются. В этой области отмечается аномалия строения сперматозоона – участок представлен крупной ЦК, превышающей размеры головки в 4 раза. В ней обнаруживаются элементы эндоплазматической сети (ЭС) и отдельные митохондрии (М) достаточно крупных размеров, в которых просматривается просветление матрикса и набухание крист. Встречаются участки выпячивания ПМ. В каудальной части ЦК определяется фрагмент жгутика с недостаточно четко различимыми структурами АН. За пределами капли жгутик резко теряется, очевидно, за счет изменения направления в результате изгиба, так как на электроннограмме просматриваются структурные элементы измененной АН.

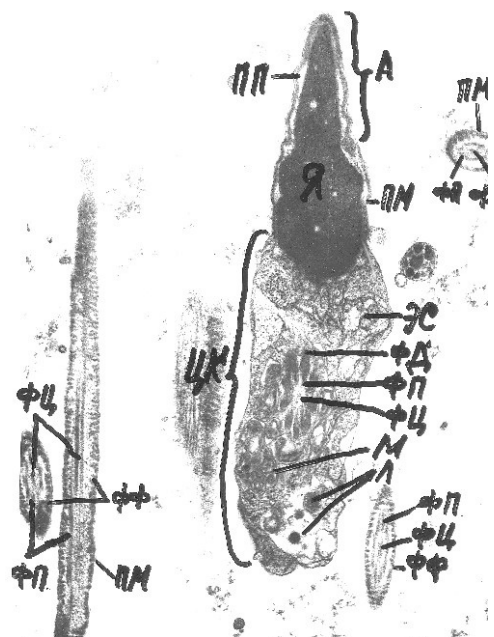


Рисунок 3 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у фертильных мужчин,  $\times 12000$

На рис. 3 представлены срезы различных отделов зрелых сперматозоонов. На продольном срезе через головку одного из них определяется деформированное, несколько уменьшенное и уплощенное электронноплотное и уплощенное ядро (Я) овальной формы с неровной поверхностью и резко заостренной апикальной частью. Хроматин ядра достаточно плотно конденсирован и представлен гомогенной электронноплотной массой с единичными мелкими пустотами. Акросома на большем протяжении достаточно четко контурируется, за исключением конца головки, и покрывает около половины ее поверхности. Между ядром и акросомой (А) с ПМ хорошо выявляется светлая узкая ПП с небольшими выпячиваниями. На месте шейки и среднего отдела жгутика определяется ЦК, которая в 2 раза превышает размер головки. В центре ее достаточно четко просматривается косопоперечный срез аксонемы среднего отдела жгутика, что косвенно может указывать на гетероаксиальность – расположение головки и жгутика под углом друг к другу относительно оси их симметрии. В аксонеме недостаточно четко выявляются ФЦ и окружающие их в виде кольца девять пар ФП, при этом явно просматриваются 9 дополнительных наружных утолщенных фибрилл (ФД). В ЦК, по периферии осевого комплекса, выявляются беспорядочно расположенные митохондрии (М) со сглаженными кристами, элементы ЭС и набухшие лизосомы (Л). На других участках электроннограммы представлены под разным углом срезы основного отдела жгутиков, на которых определяется аксонема со сглаженными контурами ФЦ и окружающими их в виде кольца девятью парами ФП, заключенных в неравномерно выраженный ФФ. Наблюдается шероховатость и неравномерная выраженность ПМ жгутиков.

На рис. 4 представлены срезы различных отделов зрелых сперматозоонов. На продольном срезе через головку одного из них определяется электронноплотное ядро (Я) овальной формы с заостренной апикальной частью и хорошо различимыми клеточной оболочкой (КО) и акросомой (А). Хроматин

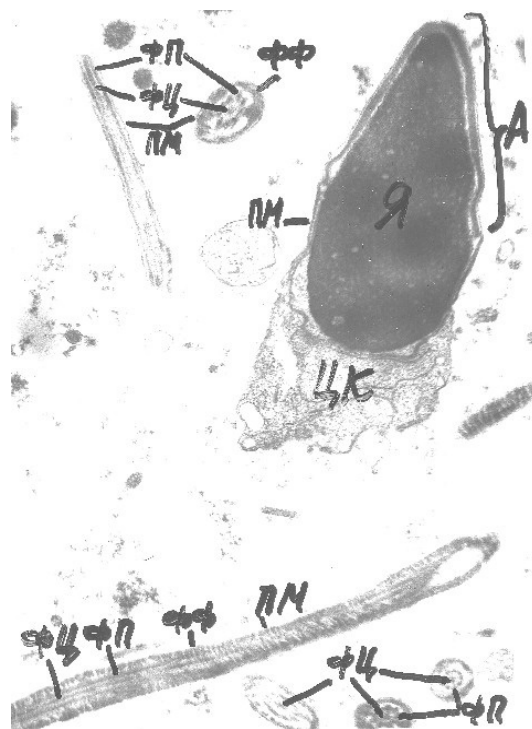


Рисунок 4 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у фертильных мужчин,  $\times 12000$

ядра выглядит хорошо конденсированным, оптически плотным, гомогенным. Акросома правильной формы и покрывает примерно половину поверхности ядра. Между ядром, акросомой и ПМ четко контурируется светлая узкая ПП с небольшим выпячиванием. Кaudальная часть головки соединена с несколько расширенной и скошенной ЦК, размеры которой составляют половину площади ядра. При этом отсутствует непосредственная связь этой головки с какими-либо структурами, напоминающими жгутик (декаудация). Возможно, срез прошел несколько под углом к длинной (продольной) оси сперматозоона, что и определило отсутствие жгутика на электроннограмме при относительно нормальной форме головки. Рядом с головкой имеется множество фрагментов срезанных под разным углом основных отделов жгутиков. В них выявляются слившиеся ФЦ и окружающие их в виде кольца девять пар ФП с размытыми очертаниями. Микротрубочки АН заключены в неравномерно выраженный ФФ. ПМ основных отделов жгутиков в большинстве фрагментов не выявляется. Один из фрагментов представляет хвостовую часть

жгутика, в которой достаточно четко просматриваются аксонема – центральные и периферические микротрубочки (ФЦ и ФП), а также ПМ.

В группе из 19 мужчин, живущих в бесплодном браке и имеющих маркеры хламидиоза, трихомониаза и бактериальной половой инфекции, в среднем 95 % сперматозонов имели патологические изменения на ультраструктурном уровне. Характер этих изменений существенно отличался от выявленных в контрольной группе фертильных мужчин. В плане ультраструктурной патологии отдельных половых клеток группа мужчин с маркерами половой инфекции была более-менее однородной. Доля патологических сперматозоонов (на ультраструктурном уровне) в группе мужчин колебалась от 92,6% до 98,6%, что в большинстве случаев делает эякулят стерильным (см. табл. 8.2). Характер ультраструктурных изменений сперматозоонов показан на рис. 5–8.

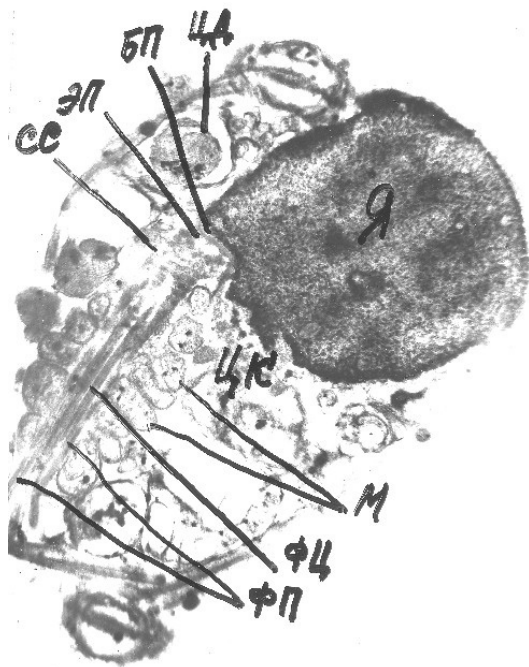


Рисунок 5 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у мужчин с маркерами хламидийной, трихомонадной и бактериальной инфекции,  $\times 12000$

На рис. 5 определяется округлая, несколько деформированная головка, которая большей частью находится в прилегающей

ЦК, в 2 раза превышающей ее размеры. Ядро (Я) соответствует форме головки, при этом передний полюс его уплощен, поверхность шероховатая, местами отмечается нечеткость контуров. Акросома отсутствует, ядерная оболочка и клеточная мембрана неразличимы. В ядре выявляется неравномерно конденсированный, гранулярный (незрелый) хроматин с участками просветленной нуклеоплазмы.

Округление головок сперматозоонов (синдром округлых головок) – *глобулозооспермию* – связывают с полным отсутствием акросомы (агенезия акросомы). Незрелость хроматина можно рассматривать как ультраструктурное проявление недостаточного созревания головки. Все вышеперечисленное – отсутствие акросомы, гранулярный «незрелый» хроматин, округлая форма головок, – является признаками *тератозооспермии*. В области имплантационной ямки определяется БП и электронооптическое просветление (ЭП), которое указывает на разрыв шейки, соединяющей головку и хвост (жгутик). Наблюдается нарушение пространственной ориентации элементов осевого комплекса (аксонемы) – гетероаксиальность – головки и жгутика под углом друг к другу относительно оси их симметрии. Ядерное кольцо ЦК – манжетка – также несколько смещена. В области шейки выявляются только семь (из 9 в норме) плохо различимых, поперечно исчерченных или сегментированных столбиков (СС). Аксонема имеет вид четырех тяжей в результате продольного сечения через две ФЦ и окружающие их в виде кольца девять пар ФП. Кнаружи от аксонемы отмечается декомпозиция митохондриальной спирали. Митохондрии (М) различных размеров с неравномерно просветленным матриксом и набухшими, сглаженными кристами. В окружающей ЦК обнаруживаются остатки эндоплазматической сети, лизосомы, микровезикулы, глобулярные гранулы, сходные с отложениями иммуноглобулинов, что может быть морфологическим проявлением антиспермальных антител.



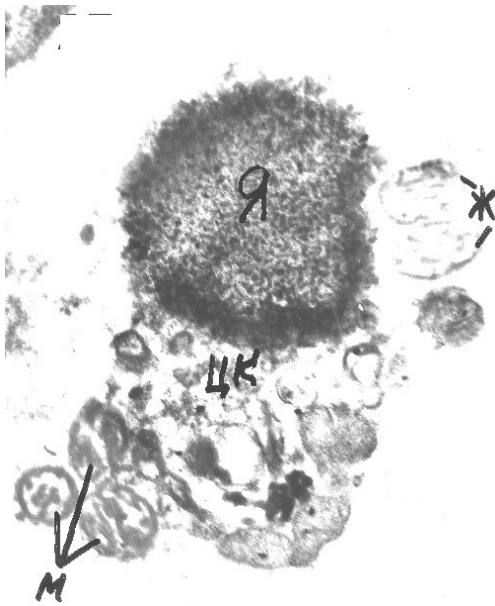


Рисунок 6 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у мужчин с маркерами хламидийной, трихомонадной и бактериальной инфекции,  $\times 12000$

На рис. 6 на косопоперечном срезе части сперматозоона обнаруживается округлой формы головка с прилежащей ЦК. Ядро (Я) содержит незрелый хроматин, т.е. имеет зернисто-фибрилярную структуру, что свидетельствует о незаконченном созревании головки. Поверхность ядра неровная, шероховатая; ядерная оболочка и акросома не определяются. Считают, что полное отсутствие акросомы (агенезия акросомы) обуславливает округление головок сперматозоонов – *глобулозооспермию* (синдром округлых головок) как проявление *тератозооспермии*. ЦК, размер которой превышает величину головки, бесформенна, содержит рибосомы, элементы эндоплазматического ретикулаума, пиноцитозные пузырьки, немногочисленные лизосомы и аномальные митохондрии (М) с электроннопрозрачным матриксом, расширенными и набухшими кристами. Клеточная мембрана не выявляется. Вплотную к головке и ЦК прилежат два косопоперечных срезам основных отделов жгутика (Ж), что может свидетельствовать о закрученности хвоста (жгутика) в ЦК. Структуры основных отделов жгутика размыты.

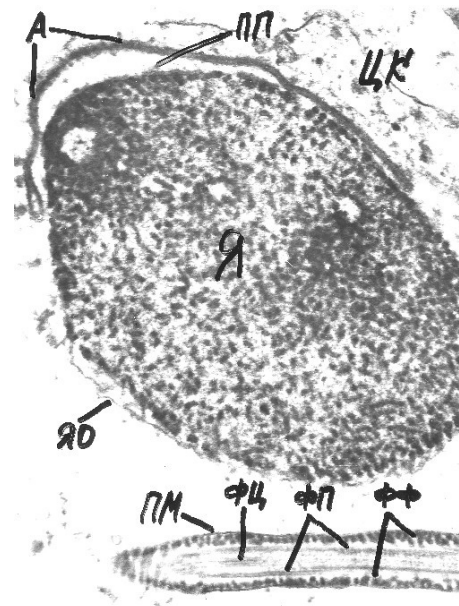


Рисунок 7 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у мужчин с маркерами хламидийной, трихомонадной и бактериальной инфекции,  $\times 12000$

На рис. 7 представлены овальной формы головка и отрезок жгутика, которые не связаны между собой. Ядро (Я) содержит незрелый хроматин с ярко выраженной зернисто-фибрилярной структурой, что свидетельствует о *гипоолигокинезии*, которая связана с незавершенным созреванием головки. Поверхность ядра неровная, покрыта волнистой и фрагментированной ЯО. Третья часть головки покрыта акросомой (А), которая расположена несколько ассиметрично относительно апикальной части ядра. На одном из концов акросомы отмечается расслоение. Между ядром и акросомой четко контурируется электроннопрозрачная ПП с небольшими выпячиваниями. По периферии ядра обнаруживаются остатки ЦК без явно выявляемых структур. Рядом с головкой имеется фрагмент продольно срезанного основного отдела жгутика. В нем выявляются размытые следы ФЦ и ФП. Микротрубочки аксонемы заключены в неравномерно выраженный ФФ. ПМ основного отдела жгутика неравномерно выражена.



Рисунок 8 Ультраструктурные изменения сперматозоонов у мужчин с маркерами хламидийной, трихомонадной и бактериальной инфекции,  $\times 12000$

На рис. 8 определяется неправильной овальной формы небольшая головка. На фоне участков достаточно конденсированного хроматина выявляются мелкие электроннопрозрачные участки, склонные к слиянию и формирующие картину «меха, изъеденного молью». Ядро (Я) расположено в очень крупной ЦК без четких контуров, где обнаруживаются рибосомы (Р), элементы эндоплазматического ретикулума (ЭС), пиноцитозные пузырьки, лизосомы (Л) и аномальные митохондрии (М) с расширенными и набухшими кристами. Акросома не определяется – *агенезия акросомы*. Наличие зернисто-фибрилярной головки, вакуолизация – светлые зоны, лишенная хроматина, сохранение «резидуального тела» (цитоплазматической капли) являются признаками *гипоолигокинезии*.

Процесс сперматогенеза, начиная от мейотического деления и до окончательного созревания сперматозоонов чрезвычайно сложный и подвержен многим регулирующим влияниям, прежде всего на межклеточном уровне. В этот процесс могут вмешиваться поломки, как на генетическом, так и на фено-

типическом уровне, что всегда и происходит. Эволюционно эта проблема решается за счет огромного количества созревающих половых клеток, каждая из которых в идеале могла бы дать начало новому организму. Однако для этого пригодна лишь небольшая часть из общего количества клеток, чего должно быть вполне достаточно. Литературные данные последних лет, посвященные изучению морфологии сперматозоонов у бесплодных мужчин, показывают, что электронная микроскопия является важным инструментом, позволяющим не только выявить нарушения на субклеточном уровне, но и понять их природу. Ультраструктурная патология мужских половых клеток может быть четырех видов, включающих в себя нарушения акросомального комплекса, мальформации ядра, митохондриального чехла и области аксонемы. Все эти структуры абсолютно необходимы для доставки сперматозоона к яйцеклетке, преодолению лучистого венца и процесса оплодотворения как такового. Описаны несколько форм нарушения вышеуказанных структур, которые можно выявить только с помощью электронной микроскопии. Хотя ПЭМ, изучающая ультратонкие срезы, имеет свои ограничения – в срез не могут попасть все структуры сперматозоона, а в разных срезах могут присутствовать элементы одной и той же клетки – она помогает выявить нарушения у сперматозоонов, которые выглядят нормальными при изучении в световом микроскопе.

У обследованных пациентов считали бесплодный брак результатом длительно протекающей субклинической урогенитальной инфекции. Ранее было установлено, что 30–40% мужчин страдают бессимптомной и малосимптомной формой хламидиоза, трихомониаза и половых бактериальных инфекций. Допустимо предположить, что при бессимптомной инфекции связь с бесплодием не столь очевидна, как при активной инфекции. Этот вопрос мало изучен. Резюмируя данные, полученные ранее при изучении репродуктивной функции у 215 мужчин с хронической смешанной урогенитальной

инфекцией, можно утверждать, что активно протекающая инфекция вызывает снижение репродуктивной способности у 33% мужчин и развитие мужского бесплодия у 7–10% больных. Нарушение репродуктивной функции мужчин при урогенитальных инфекциях коррелирует с длительностью, тяжестью проявлений заболевания и вовлечением в патологический процесс предстательной железы, семенных пузырьков и придатков яичек.

Представляется вероятным, что инфекция действует на тестикулярном уровне и на уровне придаточных половых желез, вызывая некротические изменения зрелых половых клеток, которые преобладают над явлениями апоптоза. Негативный эффект инфекции на мужскую фертильность может продолжаться и после удаления возбудителя из организма благодаря иммунопатологическим механизмам и хроническому воспалительному процессу. Это подтверждают корреляции между ультраструктурными изменениями половых клеток и биохимическими и молекулярными признаками воспаления. Морфологическим ультраструктурным признаком вялотекущего субклинического эпидидимита, является наличие в эякуляте ресничек, происходящих и эпителия придатков и семявыносящих протоков. «Молчаливые» эпидидимиты возникают в результате хронической персистентной половой инфекции, вызванной хламидиями, микоплазмами, трихомонадами и условно-патогенными бактериями. Эти возбудители выделяют из эякулята у 44–56% мужчин с бесплодием. Показано, что указанные микроорганизмы могут повреждать реснитчатый эпителий яичек и семявыносящих путей путем индукции выброса провоспалительных цитокинов, в частности, ФНО- $\alpha$ .

## ВЫВОДЫ

Таким образом, изучение ультраструктурных изменений эякулята у больных хроническим мочеполовым хламидиозом и трихомониазом с маркерами герпетической инфекции показало возрастание количества патологических форм сперматозоонов, выявляемых только на ультраструктурном уровне. Отмечены деформации головки, повреждения акросомы, набухание шейки и структурные изменения ядросодержащего компонента. На фоне участков конденсированного хроматина выявляются мелкие электроннопрозрачные участки, склонные к слиянию и формирующие картину «меха, изъеденного молью». Ядро расположено в крупной цитоплазматической капле без четких контуров, где обнаруживаются аномальные митохондрии с расширенными и набухшими кристами. Акросома не определяется – агенезия акросомы. Наличие зернисто-фибрилярной головки, вакуолизация – светлые зоны, лишённые хроматина, сохранение «резидуального тела» (цитоплазматической капли) являются морфологическими признаками тератоспермии на ультраструктурном уровне. Возможно, этими данными можно объяснить ряд случаев мужского бесплодия неясного генеза в результате субъективно бессимптомной невыявленной инфекции. Такая инфекция, вызванная хламидиями, трихомонадами, и другими возбудителями, передающимися половым путем, может привести к скрытым нарушениям сперматогенеза и нарушениям созревания сперматозоонов. В сочетании с женским трубно-перитонеальным бесплодием такие нарушения у мужчин вносят свой «вклад» в проблему бесплодного брака.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ващенко В.В. Етіологічне значення *Chlamydia trachomatis* при хронічному простатиті / В.В. Ващенко // Дерматологія та венерологія. – 2002. – № 3 (17). – С. 49–52.
2. Мавров Г.И. Взаимодействие *Chlamydia trachomatis* со сперматозоонами человека: электронномикроскопическое исследование / Г.И. Мавров // Мікробіологічний журнал. – 1995. – Т. 57, № 2. – С. 74–79.
3. Мавров И.И. Половые болезни: Рук-во для врачей, интернов, студентов / И.И. Мавров. – Х. : Факт, 2002. – 788 с.
4. Сексология и андрология / Н.И. Бойко, Ю.А. Борисенко, А.А. Быстров и др.; под ред. А.Ф. Возианова, И.И. Горпинченко. – К. : Арбис, 1997. – 880 с.
5. A single tube nucleic acid extraction, amplification and detection method using aluminum oxide / S. Dames, L.K. Bromley, M. Herrmann et al. // *J. Mol. Diag.* – 2006. – Vol. 8. – P. 16–21.
6. Assessment of hyperactivation, acrosome reaction and motility characteristics of spermatozoa from semen of men of proven fertility and unexplained infertility / J. Peedicayil, M. Deendayal, G. Sadasivan, S. Shivaji // *Andrologia.* – 1997. – Vol. 29, No. 4. – P. 209–218.
7. González-Jiménez M.A. Epididymal stereocilia in semen of infertile men: evidence of chronic epididymitis? / M.A. González-Jiménez, C.A. Villanueva-Díaz // *Andrologia.* – 2006. – Vol. 38, No. 1. – P. 26–30.
8. Guidelines for Sexually Transmitted Infections Surveillance. – Geneva : World Health Organization and Joint United Nations Programme on HIV/AIDS, 1999.
9. Necrosis in human spermatozoa. I. Ultrastructural features and FISH study in semen from patients with urogenital infections / G. Collodel, B. Baccetti, S. Capitani, E. Moretti // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* – 2005. – Vol. 37, 1. – P. 67–73.
10. Necrosis in human spermatozoa. II. Ultrastructural features and FISH study in semen from patients with recovered urogenital infections / E. Moretti, B. Baccetti, S. Capitani, G. Collodel // *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* – 2005. – Vol. 37, No. 1. – P. 93–98.
11. Notulae Seminologicae 5. Mathematical Evaluation of Interdependent Submicroscopic Sperm Alterations / B. Baccetti, G. Bernieri, A. Burrini et al. // *J. Androl.* – 1995. – Vol. 16, No. 4. – P. 356–371.
12. Purvis K. The impact of infection on sperm quality / K. Purvis, E. Christiansen // *J. Br. Fer. Soc.* – 1995. – Vol. 1. – P. 31–41.
13. Quantitative ultramorphological (QUM) analysis of human sperm: diagnosis and management of male infertility / B. Bartoov, F. Eltes, M. Reichart et al. // *Arch. Androl.* – 1999. – Vol. 42, No. 3. – P. 161–177.
14. Unexplained Infertility: Basic and Clinical Aspects / Ed. by G. Spera, L. Gnessi. – New York : Academic Press, 1989. – 246 p.
15. Yu J.J. Ultrastructural defects of acrosome in infertile men / J.J. Yu, Y.M. Xu // *Arch. Androl.* – 2004. – Vol. 50, No. 6. – P. 405–409.

**УЛЬТРАСТРУКТУРНІ  
ЗМІНИ СПЕРМАТОЗООНІВ  
ПРИ ІНФЕКЦІЇ,  
СПРИЧИНЕНОЇ *HERPES  
SIMPLEX, CHLAMYDIA  
TRACHOMATIS,  
TRICHOMONAS VAGINALIS***

**Г.І. Маєров,  
О.Є. Нагорний**

**Резюме.** Електронно-мікроскопічне вивчення сперми при герпесі, хламідіозі й трихомонозі показало зростання кількості патологічних форм сперматозоонів на ультраструктурному рівні. Мають місце деформації голівки, набрякання шийки й структурні зміни ядра - на тлі ділянок конденсованого хроматину виявляються електронно-прозорі ділянки, схильні до злиття. Ядро розташоване у великій цитоплазматичній краплі без чітких контурів, де виявляються аномальні мітохондрії з розширеними кристами. Акросома не визначається. Наявність зернисто-фібрилярної голівки, вакуолізація - світлі зони, позбавлені хроматину, збереження «резидуального тіла» (цитоплазматичної краплі) є морфологічними ознаками тератоспермії на ультраструктурному рівні.

**Ключові слова:** *Herpes simplex, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis*, чоловіча безплідність, сперматозоони, електронна мікроскопія, морфологія

**ULTRASTRUCTURAL  
CHANGES OF  
SPERMATOZOONES IN  
PATIENTS WITH *HERPES  
SIMPLEX, CHLAMYDIA  
TRACHOMATIS,  
TRICHOMONAS VAGINALIS*  
INFECTION**

**G.I. Mavrov,  
A.E. Nagornyj**

**Resume.** *Electronic microscopy of sperm of 19 males with unexpected infertility and markers of herpes, chlamydiosis, and trichomoniasis has shown the increase of quantity of pathological spermatozoones at ultrastructural level. Head deformations take place, nick inturgescence and nucleus structural changes - against fields of a condensate chromatin come to light electronically transparent fields, inclined to coalescence. The kernel is located in a large cytoplasmatic drop without accurate contours where are found abnormal mitochondria with dilated christs. The acrosome is not defined. Presence granular and fibrila heads, a vacuolization - the light regions deprived of a chromatin, conservation «residual bodies» (a cytoplasmatic drop) are morphological characters teratospermia at ultrastructural level.*

**Key words:** *Herpes simplex, Chlamydia trachomatis, Trichomonas vaginalis, male infertility, spermatozoones, electronic microscopy, morphology.*