

# УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОДДЕРЖИВАЮЩИХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ И ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ ЭНДОКРИНОЦИТОВ СЕМЕННИКОВ КРЫС ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ТРИБЕСТАНА НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВАЗОКОНСТРИКТОРА<sup>1</sup>

Бречка Н. М.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины», г. Харьков  
natalia\_iper@mail.ru

По данным статистических исследований, в настоящее время в мире около 10–15% супружеских пар страдают бесплодием, что обусловлено множеством факторов, таких как поздняя беременность, снижение фертильности женщины и других. В настоящее время большое внимание уделяется и мужскому фактору бесплодия [1, 2], наиболее частыми причинами которого являются варикоцеле, воспалительные процессы половой системы, гормональные нарушения, крипторхизм. В половине случаев нарушение фертильности связано с дисфункциональными расстройствами сперматогенеза. В значительном числе случаев установить причину мужского бесплодия не удастся. На сегодня не существует общепризнанных методов медикаментозного лечения идиопатической формы мужского бесплодия, достаточно часто его терапия носит эмпирический характер [3]. Поэтому вопрос изучения механизмов развития патологии мужской репродуктивной системы и, в связи

с этим, назначения адекватной патогенетической терапии все также остается открытым.

Как известно, одним из структурных элементов семенников млекопитающих являются клетки Сертоли — соматические клетки, расположенные в извитых канальцах и выполняющие функцию гемато-тестикулярного барьера вокруг развивающихся мужских гамет. Также, клетки Сертоли под влиянием фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) продуцируют гормон ингибин, угнетающий пролиферацию сперматогониев, усиливающий синтез тестостерона и формирование сперматозоидов из сперматогониев. Клетки Лейдига семенников под влиянием лютеинизирующего гормона (ЛГ) вырабатывают андростендион, дегидроэпиандростерон и тестостерон, являющийся необходимым фактором для стимуляции сперматогенеза [4]. Поэтому для регулирования сложного процесса сперматогенеза необходимо комплексное взаимодействие между клетка-

<sup>1</sup>Собственные исследования выполнены автором работы в рамках НИР отделения патологии половых желез ГУ «Института проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины» «Оптимизация диагностики и терапии нарушений репродуктивного здоровья эндокринного генеза у лиц молодого возраста» (государственный регистрационный № 0111U000177).

Электронномикроскопические исследования выполнены совместно с заведующим лабораторией патоморфологии и экспериментальной хирургии ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины» канд. биол. наук В. П. Невзоровым согласно договору о творческом сотрудничестве.

Организацией, финансирующей работу, является НАМН Украины.

Автор гарантирует отсутствие конфликта интересов и собственной финансовой заинтересованности при выполнении работы.

ми Сертоли и Лейдига, играющими ключевую роль [5, 6].

В этой связи особый интерес представляют исследования негативного влияния различных повреждающих факторов на функцию семенников. В частности, к факторам, нарушающим метаболизм суспензиоцитов и интерстициальных эндокриноцитов семенников крыс, относится серотонина гидрохлорид. Как показали наши предыдущие экспериментальные исследования [7], под влиянием серотонина гидрохлорида (в дозе 5 мг/кг) замедляется синтетическая и репаративная активность внутриклеточных процессов, наблюдается фрагментация мембран эндоплазматической сети, уменьшение числа рибосом, полисом и секреторных гранул, увеличение числа вторичных лизосом, а также редукция пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи.

Для улучшения качества репродуктивного здоровья мужчин ведется поиск препаратов с новыми механизмами гонадопротекторного действия. В последнее время довольно широко используют препараты из растительного сырья. К таким препаратам

относится Трибестан, в состав которого входят экстракт лекарственного растения якорцы стелющиеся (*Tribulus terrestris*), содержащий стероидные сапонины фурастанового типа. Установлено, что этот препарат восстанавливает клетки Лейдига, стимулирует сперматогенез, увеличивает количество спермы, повышает подвижность сперматозоидов. Это один из препаратов природного происхождения, зарегистрированный в Украине, в показаниях к применению которого предусмотрено лечение первичного и вторичного гипогонадизма, нарушенного сперматогенеза, а именно — олигоспермии и астеноспермии [8]. Однако на сегодня отсутствуют данные относительно его влияния Трибестана на ультраструктуру семенников при их первичном поражении.

В связи с изложенным, целью нашей работы явилось исследование в эксперименте субмикроскопической архитектоники клеток Сертоли и Лейдига, подвергшихся деструктивному воздействию мощного вазоконстриктора серотонина гидрохлорида, и установление возможности коррекции этих нарушений препаратом Трибестан.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

Животных выводили из эксперимента путем декапитации на 21 сутки после начала эксперимента в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001), согласующимися с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) [10].

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани семенника подвергали 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 (Украина) изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР (Украина) при ускоряющем напряжении 75 кВ.

Контролем служили семенники интактных животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В семенниках интактных крыс при электронно-микроскопическом исследовании выявлена удовлетворительная сохранность внутриклеточных мембран и органелл, что свидетельствует об адекватной методике гистологической обработки тканей. Все исследуемые компоненты клеток соответствовали современным представлениям о субмикроскопической организации клеток Сертоли и Лейдига [11, 12]. Деструкций мембранных компонентов клеток не обнаружено.

Нарушения ультрамикроскопической организации клеток Сертоли и Лейдига крыс, подвергнутых токсическому воздействию мощного вазоконстриктора — серотонина гидрохлорида детально изложены в ранее опубликованной работе [7].

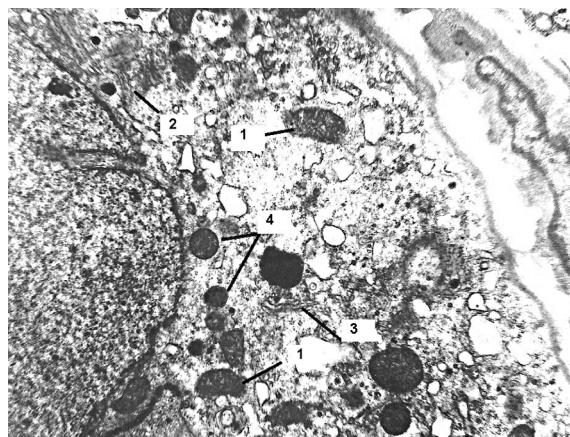
Ядра поддерживающих эпителиоцитов в группе подопытных животных, получавших Трибестан на фоне введения серотонина гидрохлорида, имели неправильную форму. Их ядерная мембрана приобретала четко контурированную структуру и высокую степень осмиофилии. Перинуклеарные пространства не расширены. В цитоплазме присутствовали многочисленные округлой формы митохондрии с электронно-плотным матриксом и большим количеством крист.

В клетках Сертоли хорошо развита агранулярная эндоплазматическая сеть. Ее цистерны имели разнообразную форму и размеры. Цитоплазма имела среднюю электронную плотность и содержала большое количество рибосом и полисом. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи приобретал типичное для этих клеток строение.

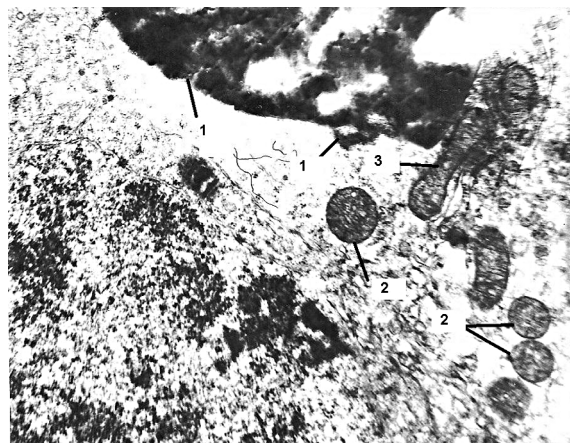
В цитоплазме отдельных клеток Сертоли обнаруживались включения липидов и фрагменты фагоцитированных цитоплазматических структур сперматоцитов (рис. 1а). Цитоплазматическая мембрана поддерживающих эпителиоцитов не имела очагов разрушения.

Наряду с этим в отдельных клетках Сертоли обнаруживались как дистрофические, так и деструктивные нарушения органелл (рис. 1б). В них наблюдались очаговые разрушения ядерной мембраны, наружных

мембран и крист митохондрий, уменьшение количества свободно лежащих в цитоплазме рибосом и полисом. В гиалоплазме нередко обнаруживались очень крупные включения липидов и вторичные лизосомы, в структуре которых присутствовали конгломераты дегенеративно измененных органелл и мембранных структур сперматозоидов.



а



б

Рис. 1. Ультраструктура поддерживающих эпителиоцитов семенников крыс, получавших Трибестан на фоне серотонина гидрохлорида.

а — хорошо развитые ультраструктуры: 1) митохондрии, 2) аппарат Гольджи, 3) эндоплазматическая сеть, 4) включения липидов в цитоплазме.  $\times 32000$ .

б — 1) очаговое разрушение ядерной мембраны, 2) крупные включения липидов в цитоплазме, 3) митохондрия в стадии деления.  $\times 37000$ .

Ядра клеток Лейдига в семенниках крыс, получавших Трибестан, имели округлую форму и гладкую ядерную мембрану. Деструкций ядерной мембраны не выявлено. В цитоплазме интерстициальных эндокриноцитов выявлялись в большом количестве

митохондрии с трубчатыми кристами. Наружные мембраны приобретали типичное строение. Матрикс митохондрий имел высокую электронную плотность и мелкозернистую структуру. Довольно часто обнаруживались делящиеся формы митохондрий (рис. 2а).

В цитоплазме значительного количества интерстициальных эндокриноцитов присутствовали крупные митохондрии с многочисленными кристами. Матрикс митохондрий имел среднюю электронную плотность и мелкозернистую структуру. Вблизи локализации митохондрий в цитоплазме обнаруживались скопления липидных включений (рис. 2б).

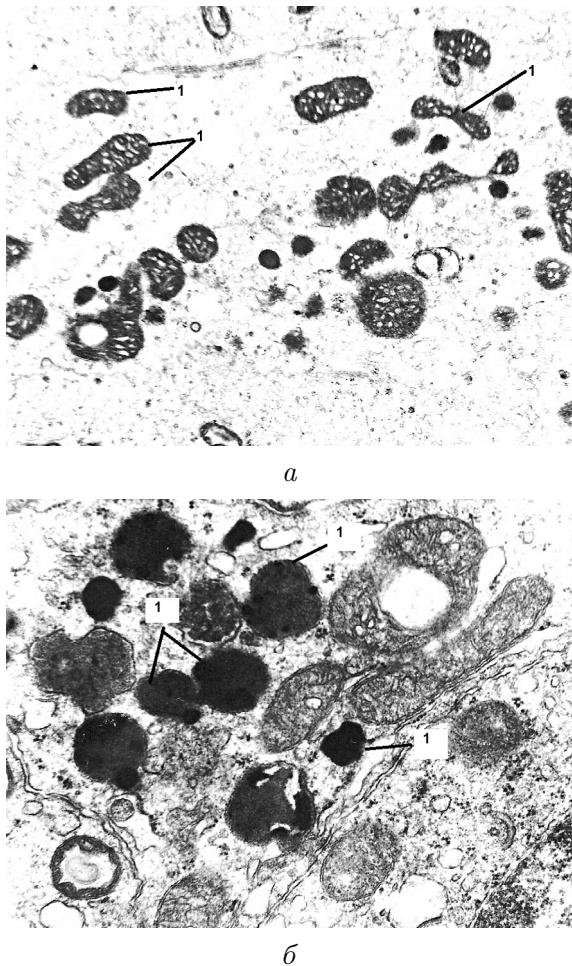


Рис. 2. Ультраструктура интерстициальных клеток семенников крыс, получавших Трибестан на фоне серотонина гидрохлорида.

а — 1) делящиеся митохондрии в цитоплазме.  $\times 31\,000$ .  
б — 1) скопление липидных гранул в цитоплазме.  $\times 38\,000$ .

Агранулярный эндоплазматический ретикулум представлен множеством мелких

электронно-прозрачных вакуолей. В цитоплазме выявляется множество свободных рибосом, полисом и секреторных гранул.

Следует отметить, что не все клетки Лейдига под воздействием Трибестана на фоне серотонина гидрохлорида восстанавливают типичную субмикроскопическую архитектуру.

Сохранялись интерстициальные эндокриноциты, ультраструктура которых оставалась дистрофически и деструктивно изменена (около 30%). В цитоплазме находились деструктивно измененные митохондрии, мембраны агранулярной эндоплазматической сети и редуцированный пластинчатый комплекс Гольджи, а также вторичные лизосомы и включения липидов.

Как описано в нашей предыдущей работе [7], ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига семенников крыс при воздействии серотонина гидрохлорида подвергается дистрофическим и деструктивным изменениям. Практически для всех органелл этих клеток характерны очаговые деструкции мембранных структур. Наиболее чувствительными к негативному влиянию серотонина гидрохлорида являются митохондрии. Под влиянием серотонина гидрохлорида активируются катаболические процессы, на что указывает появление в цитоплазме клеток Сертоли и Лейдига вторичных лизосом и включений липидов. Ранее нами также было установлено положительное влияние препарата Трибестан на показатели функциональной активности репродуктивной системы, в частности показатели спермограммы, нарушенные в результате повреждающего действия серотонина гидрохлорида [13].

Согласно результатам настоящего исследования, в семенниках крыс, получавших Трибестан на фоне повреждающего действия серотонина гидрохлорида, наблюдаются существенные положительные перестройки. В клетках Сертоли уменьшается степень отека цитоплазмы и ядра. Матрикс ядра приобретает среднюю электронную плотность. Количество деконденсированного хроматина увеличивается. Деструкции наружных мембран и крист митохондрий и других внутриклеточных мембран-

ных структур отсутствуют. Существенно увеличивается количество рибосом и полисом в цитоплазме. Ультраструктурная орга-

низация клеток Лейдига практически полностью восстанавливается.

## ВЫВОДЫ

1. В семенниках крыс, получавших Трибестан на фоне повреждающего действия серотонина гидрохлорида, наблюдаются существенные положительные перестройки. В клетках Сертоли уменьшается степень отека цитоплазмы и ядра, деструкции митохондрий и других мембранных структур отсут-

ствуют. Увеличивается количество рибосом и полисом в цитоплазме.

2. У крыс, получавших Трибестан на фоне повреждающего действия серотонина гидрохлорида, практически восстанавливается ультраструктурная организация клеток Лейдига.

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Bykov VL. *Problemy Reprodukcii* 2000; 1:6-13.
2. Gasparov AS, Nazarenko TA. Reproductivnoe zdorov'e. Besplodie kak mediko-social'naja problema, *Moskva*, 2000:56 p.
3. Gamidov SI, Iremashvili VV, Thagapsoeva RA. *Farmateka* 2009; 9:12-17.
4. Korjakin MV, Akopjan AS. *Problemy Reprodukcii* 2000; 5:48-53.
5. Loran OB, Segal AS, Pushkar' Dju, et al. *Urologija* 2001; 4:39-42.
6. Pshenichnikova TJa. Besplodie v brake, *Moskva*, 1991:318 p.
7. Brechka NM, Nevzorov VP, Bondarenko VA, et al. *Probl Endokryn Patologii'* 2012; 2:73-79.
8. Gorpinchenko II, Gurzhenko AJu. *Zdorov'e Muzhchiny* 2008; 8:89-94.
9. Butenko IG, Lar'janovs'ka JuB. *Eksperym ta Klinich Medycyna* 2000; 3: 18-21.
10. *Endokrynologija* 2003; 8(1):142-145.
11. Danilova LV. Ul'trastrukturnye issledovanija spermatogeneza, *Moskva*, 1978:250 p.
12. Dedov VI. *Citologija* 1980; 22(10):1153-1157.
13. Brechka NM, Bondarenko VO, Malova NG, et al. *Eksperym ta Klinich Medycyna* 2011; 1(50):52-56.

## УЛЬТРАСТРУКТУРА ПІДТРИМУЮЧИХ ЕПІТЕЛІОЦИТІВ ТА ІНТЕРСТИЦІАЛЬНИХ ЕНДОКРИНОЦИТІВ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ТРІБЕСТАНУ НА ТЛІ ВПЛИВУ ВАЗОКОНСТРИКТОРУ

Бречка Н. М.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків  
natalia\_iper@mail.ru

Представлено експериментальні дані про порушення ультраструктурної організації підтримуючих епітеліоцитів (клітин Сертолі) та інтерстиціальних ендокриноцитів (клітин Ляйдіга) сім'яників щурів, що зазнали токсичного впливу серотоніну гідрохлориду, який спричиняє мітохондріальну дисфункцію і активує катаболічні внутрішньоклітинні процеси; за глибиною та ступенем виразності порушення органел лежать в межах фізіологічної компенсації і є зворотними. Виявлено розвиток суттєвих позитивних перебудов в ультраструктурі клітин сім'яників щурів, які отримували лікарський препарат рослинного походження Трибестан на тлі пошкоджуючої дії серотоніну гідрохлориду. В клітинах Сертолі зменшується ступінь набряку цитоплазми і ядра; деструкції мітохондрій та інших мембранных структур відсутні. Збільшується кількість рибосом і полісом в цитоплазмі. Відновлюється ультраструктура клітин Ляйдіга.

К л ю ч о в і с л о в а : ультраструктура клітин Сертолі та Ляйдіга, мітохондріальна дисфункція, серотоніну гідрохлорид, трибестан.

**УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОДДЕРЖИВАЮЩИХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ  
И ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ ЭНДОКРИНОЦИТОВ СЕМЕННИКОВ КРЫС  
ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ТРИБЕСТАНА НА ФОНЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ  
ВАЗОКОНСТРИКТОРА**

**Бречка Н. М.**

*ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины»,  
г. Харьков  
natalia\_ipep@mail.ru*

Представлены экспериментальные данные о нарушении ультраструктурной организации поддерживающих эпителиоцитов (клеток Сертоли) и интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига) семенников крыс, подвергшихся токсическому воздействию серотонина гидрохлорида, который вызывает митохондриальную дисфункцию и активирует катаболические внутриклеточные процессы; по глубине и степени выраженности нарушения органелл лежат в пределах физиологической компенсации и являются обратимыми. Обнаружено развитие существенных положительных перестроек в ультраструктуре клеток семенников крыс, получавших лекарственный препарат растительного происхождения Трибестан на фоне повреждающего действия серотонина гидрохлорида. В клетках Сертоли уменьшается степень отека цитоплазмы и ядра; деструкции митохондрий и других мембранных структур отсутствуют. Увеличивается количество рибосом и полисом в цитоплазме. Восстанавливается ультраструктура клеток Лейдига при введении Трибестана на фоне повреждающего действия серотонина гидрохлорида.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** ультраструктура клеток Сертоли и Лейдига, митохондриальная дисфункция, серотонин гидрохлорид, трибестан.

**ULTRASTRUCTURE OF SERTOLI AND LEYDIG CELLS IN THE RAT  
TESTIS AFTER USE OF TRIBESTAN ON THE BACKGROUND  
OF VASOCONSTRICTOR EXPOSURE**

**N. M. Brechka**

*SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv  
natalia\_ipep@mail.ru*

It was presented the experimental data about ultrastructural organization of Sertoli cells and Leydig cells of the testes of rats exposed to the toxic effects of serotonin hydrochloride, which causes mitochondrial dysfunction and activates catabolic intracellular processes; the depth and severity of these organelles violations exist within the physiological compensation and are reversible. It was found development of significant positive reparation of the cells ultrastructure of the rats testes treated with herbal medicines Tribestan on the background damaging effect on serotonin hydrochloride. In Sertoli cells decreases the degree of the cytoplasm and nucleus edema; destruction of mitochondria and other membrane structures are absent. It was increased the number of ribosomes and polysomes in the cytoplasm. At Tribestan administration on the background damaging effect of serotonin hydrochloride the ultrastructure of Leydig cells were reparated.

**К e y w o r d s:** Sertoli cells, Leydig cells, ultrastructure, mitochondrial dysfunction, serotonin hydrochloride, Tribestan.