

УДК 616.69-008.6

Кульченко Н. Г.

## ПОДСЧЕТ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ЯИЧКЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОХРАННОСТИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА

Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва

Морфологическая оценка сперматогенного эпителия и клеточного состава интерстиция яичка имеет большое клиническое значение в диагностике и лечении мужского бесплодия. Окрашивание гистологического препарата гематоксилином и эозином, являющаяся стандартом в рутинной медицинской практике, позволяет оценить нарушение сперматогенеза у бесплодных мужчин полуколичественным методом подсчета. Однако, данная методика не позволяет дифференцировать в тканях некоторые виды клеток, которые могут оказывать влияние на сперматогенез, такие как тучные, например. Окрашивание срезов яичка талуидиновым синим позволило выявить тучные клетки в среднем  $5,6 \pm 2,1$  в  $1 \text{ mm}^2$  (95%; ДИ 4,46–6,74) у мужчин с необструктивной азооспермией. Была обнаружена умеренная и обратная корреляция между количеством тучных клеток и степенью нарушения сперматогенеза ( $r = -0,48$ ) у наблюдавшейся когорты мужчин. Следовательно, дополнительное окрашивание гистологических препаратов актуально для идентификации и визуализации тучных клеток в тканях.

**Ключевые слова:** мужское бесплодие, тучные клетки, сперматогенез, азооспермия, талуидиновый синий.

Kulchenko N.G.

## COUNTING OF MAST CELLS IN THE TESTICLE TO DETERMINE THE SAFETY OF SPERMATOGENESIS

Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, Moscow

Morphological assessment of spermatogenic epithelium and testicular interstitial cells is of great clinical importance in the diagnosis and treatment of male infertility. Staining of the histological preparation with hematoxylin and eosin, which is the standard in routine medical practice, makes it possible to assess the violation of spermatogenesis in infertile men by a semi-quantitative counting method. However, this technique does not allow differentiation in tissues of certain types of cells that can affect spermatogenesis, such as mast cells, for example. Staining of testicular sections with taluidine blue revealed mast cells on average  $5.6 \pm 2.1$  in  $1 \text{ mm}^2$  (95%; CI 4.46–6.74) in men with non-obstructive azoospermia. We found a moderate and inverse correlation between the number of mast cells and the degree of impaired spermatogenesis ( $r = -0.48$ ) in the observed cohort of men. Therefore, additional staining of histological preparations is relevant for the identification and visualization of mast cells in tissues.

**Key words:** male infertility, mast cells, spermatogenesis, azoospermia, taluidine blue.

Мужское бесплодие – неспособность мужчины способствовать зачатию из-за факторов, влияющих на качество, количество или функцию сперматозоидов. Мужское бесплодие – распространенная проблема, которая встречается в 30–50% случаев в структуре бесплодного брака [2]. Отсутствие сперматозоидов в сперме (азооспермия) – наиболее тяжелая форма мужского бесплодия [4]. Отсутствие сперматозоидов в эякуляте, может быть вызвано обструктивными или необструктивными причинами [5]. Причем, широко распространенные причины мужского бесплодия: генетические и инфекционные, могут способствовать развитию разных видов азооспермии.

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) предлагают возможность иметь собственного ребенка для пар, сталкивающихся с бесплодием, в том числе и по мужскому фактору. Для этого мужчине выполняется биопсия яичка с целью извлечения зрелых половых клеток непосредственно из извитых семенных канальцев с последующим выполнением интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов (ИКСИ) [4]. По данным зарубежных авторов эффективность биопсии яичка при необструктивной азооспермии остается невысокой [3]. Часто супружеским парам приходится соглашаться на несколько циклов ВРТ для получения желаемого результата. Поэтому выявление дополнительных факторов патогенеза патоспермии и оценка степени сохранности сперматогенеза у мужчины имеет огромное медико-социальное значение.

### **Цель исследования**

На основании световой микроскопии биоптатов яичка определить произвести количественный подсчет тучных клеток и определить их степень влияния на сперматогенез.

### **Материал и методы исследования**

Это было ретроспективное исследование, в которое были включены 20 пациентов. У всех лиц мужского пола по данным спермограммы было выявлено отсутствие сперматозоидов в эякуляте и была зафиксирована необструктивная азооспермия. В данное исследование не были включены мужчины с обструктивной азооспермией, с генетическими нарушениями, тяжелой соматической патологией, старше 50 лет. Лабораторно-инструментальные исследования не выявили какие-либо нарушения в эякуляте, поэтому бесплодие у этих пациентов было расценено как идиопатическое. Все мужчины были включены в программу ВРТ, по плану которой выполнялась биопсия яичка с целью оценки сперматогенеза и получения сперматозоидов для оплодотворения яйцеклетки партнерши.

Полученные биоптаты фиксировались в 10% растворе формалина и подвергались стандартной гистологической проводке. Гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином и талуидиновым синим. С помощью световой микроскопии оценивалась степень нарушения сперматогенеза по шкале Johnson в модификации De Kretser и Holstein. Для детекции тучных клеток использовалась дополнительная окраска гистологических препаратов талуидиновым синим. Подсчет тучных клеток осуществлялся в 1 мм<sup>2</sup> интерстиция яичка.

Статистический анализ результатов проводился с помощью программы Statistica 8.0. Рассчитывались средние значения и среднеквадратичные отклонения  $M \pm \sigma$ . Взаимосвязь двух или нескольких случайных величин оценивалась с помощью корреляционной зависимости ( $r$ ). Если коэффициент корреляции был приближен к 1, то зависимость признаков считалась

высокой и положительной. Если коэффициент корреляции был приближен к -1, то зависимость признаков считалась высокой и отрицательной.

### Результаты и обсуждение

Полуколичественный анализ степени нарушения сперматогенеза показал, что у мужчин с необструктивной азооспермии почти в каждом втором случае были тяжелые нарушения сперматогенеза (2–3 балла), в каждом четвертом случае – 4-5 баллов. Распределение пациентов по степени нарушения сперматогенеза представлено на рисунке 1.

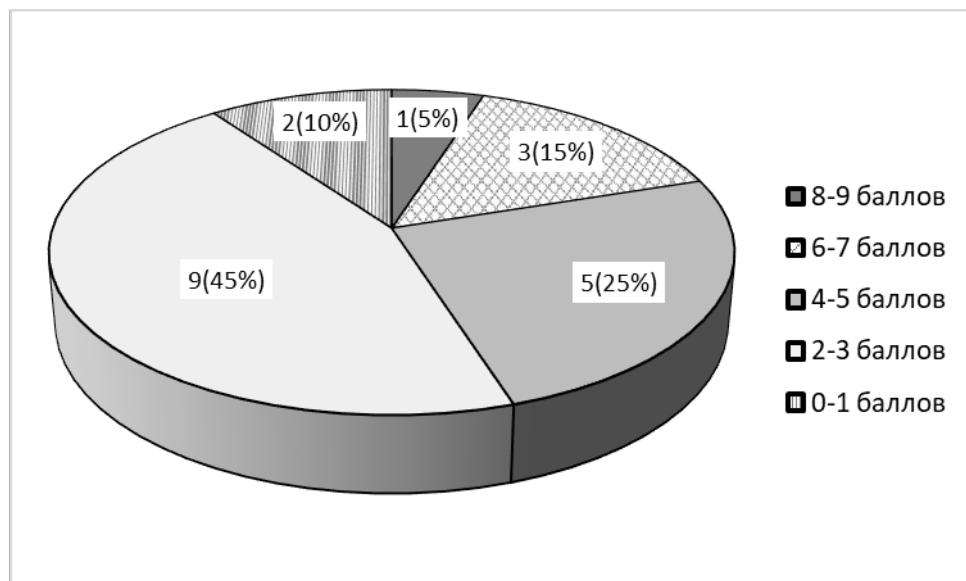


Рис. 1. Распределение пациентов по степени нарушения сперматогенеза по шкале Johnson в модификации De Kretser и Holstein.

Количество тучных клеток в яичке у мужчин с секреторной азооспермией при окраске талуидиновым синим в среднем было  $5,6 \pm 2,1$  в  $1 \text{ mm}^2$  (95%; ДИ 4,46–6,74) (рис. 2).

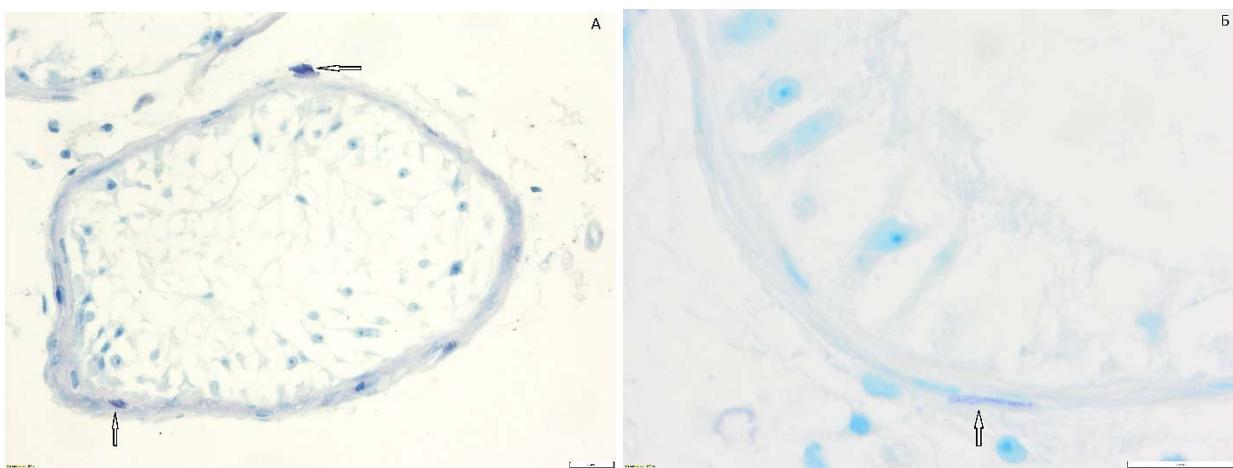


Рис. 2. Срез яичка пациента с секреторной азооспермией. Окраска препарата талуидиновым синим (А- x40, Б- x100). Степень нарушения сперматогенеза – 2 балла (синдром клеток Сертоли). Чёрные стрелки указывают на тучные клетки.

Результаты изменения количественного показателя тучных клеток в зависимости от степени нарушения сперматогенеза представлено на рисунке 2.

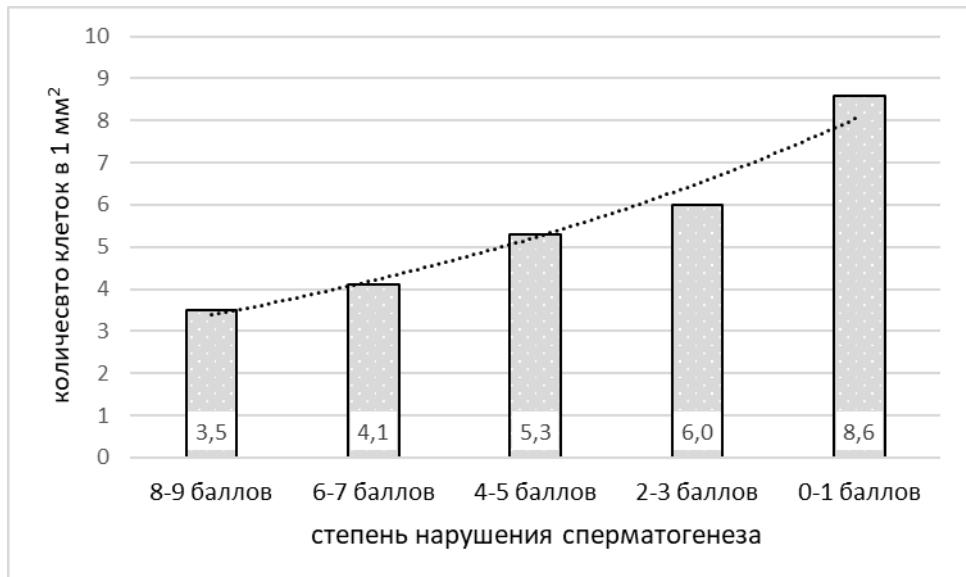


Рис. 2. Количественные показатели тучных клеток у пациентов с секреторной азооспермией.

Была обнаружена умеренная и обратная корреляция между количеством тучных и степенью нарушения сперматогенеза ( $r = -0,48$ ) у мужчин с необструктивной азооспермией. Коэффициент эластичности был больше 1, следовательно изменение количества тучных клеток существенно влияет на прогрессирование РПЖ. Коэффициент регрессии  $b = -0,57$ , следовательно увеличение количества тучных клеток на 1 единицу способствует ухудшению сперматогенеза на 0,6 балла.

Из всей когорты наблюдаемых пациентов биопсия яичка была успешной у 6(30%) человек, однако успешное оплодотворение яйцеклетки было в 5(25%) программах ВРТ. Остальным пациентам был рекомендован повторный цикл ВРТ после медикаментозной коррекции сперматогенеза.

Морфологическая оценка сперматогенного эпителия и клеточного состава интерстиция яичка имеет большое клиническое значение. Для поиска необходимых ответов на вопросы важно рациональное окрашивание гистологических препаратов. Различные красители обладают специфическим средством к различным клеточным или тканевым компонентам, что позволяет дифференцировать и идентифицировать структуры в образце ткани. Гематоксилин окрашивает ядра в сине-фиолетовый цвет. Эозин: окрашивает цитоплазму и внеклеточный матрикс в розовый цвет. Обычно используется сочетание гематоксилина с эозином для различения клеточных структур. Однако, такой вид окрашивания не всегда позволяет дифференцировать специализированные структуры клеток. Поэтому для окрашивания гранул тучных клеток и детекции самих клеток используют

талуидиновый синий. Гранулы тучных клеток окрашиваются метахроматически, что означает, что они кажутся фиолетовыми на синем фоне. Для детекции фенотипа тучных клеток используют иммуногистохимическое окрашивание [1]. Антитела, специфичные к маркерам тучных клеток (например, триптаза, химаза), позволяют идентифицировать и количественно оценить различные популяции тучных клеток. Выбор метода окрашивания гистологического препарата часто зависит от конкретных требований исследования, желаемого контраста и специфичности для визуализации тучных клеток.

### **Заключение и выводы**

Дополнительное окрашивание гистологических препаратов актуально для идентификации и визуализации тучных клеток в тканях. Окрашивание срезов яичка талуидиновым синим позволяет выявить умеренную и обратную корреляцию между количеством тучных и степенью нарушения сперматогенеза. Полученные оценки уравнения регрессии позволяют использовать тучные клетки для оценки тяжести сперматогенеза. Дальнейшее изучение этого вопроса актуально, так как тучные клетки могут быть триггером в формировании патоспермии за счет высокой способности к миграции в соединительной ткани, ремоделирования внеклеточного матрикса.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Атякишин Д.А., Морозов С.Л., Длин В.В., Байко С.В. Роль тучных клеток в формировании тубулоинтерстициального фиброза в результате хронического почечного повреждения: клинический случай. Педиатрия. Восточная Европа. 2023. Т. 11. № 2. С. 153-174.
2. Комаров А.С., Наумов Н.П., Щеплев П.А., Столетов Я.А., Конышев А.В., Базунов Д.С., Бунак С.А., Гагай К.В., Фаниев М.В., Сулейманов С.И. Изолированное варикоцеле справа у пациента с *situs inversus totalis*: клинический случай. Андрология и генитальная хирургия. 2023. Т. 24. № 1. С. 157–161.
3. Achermann APP, Pereira TA, Esteves SC. Microdissection testicular sperm extraction (micro-TESE) in men with infertility due to nonobstructive azoospermia: summary of current literature. Int Urol Nephrol. 2021 Nov;53(11):2193-2210. doi: 10.1007/s11255-021-02979-4.
4. Minhas S, Bettocchi C, Boeri L, Capogrosso P, Carvalho J, Cilesiz NC, Coccia A, Corona G, Dimitropoulos K, Gül M, Hatzichristodoulou G, Jones TH, Kadioglu A, Martínez Salamanca JI, Milenkovic U, Modgil V, Russo GI, Serefoglu EC, Tharakan T, Verze P, Salonia A; EAU Working Group on Male Sexual and Reproductive Health. European Association of Urology Guidelines on Male Sexual and Reproductive Health: 2021 Update on Male Infertility. Eur Urol. 2021 Nov;80(5):603-620. doi: 10.1016/j.eururo.2021.08.014.
5. Niederberger C. Male Infertility. J Urol. 2022 Sep;208(3):718-720. doi: 10.1097/JU.0000000000002809.

### ***Сведения об авторах статьи:***

**Кульченко Нина Геннадьевна** – к.м.н., в.н.с., ФГАОУ ВО Российской университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, г. Москва, e-mail: kle-kni@mail.ru