

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК КАВЕРНОЗНЫХ ТЕЛ ПОЛОВОГО ЧЛЕНА ПРИ ЭРЕКТИЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Привалихина А.В., Шевлякова О.С., Ельникова В.Е., Спицын П.С., Гервальд В.Я., Пашков А.Ю., Гегвальд Д.В.

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», г. Барнаул, e-mail: vitalgerdt14@yandex.ru

В основе развития эректильной дисфункции (ЭД) лежит снижение процентного содержания гладкомышечных клеток в кавернозных телах полового члена и развитие фиброза, который является одним из морфологических ее проявлений. Ряд исследований показали, что на ранних стадиях заболевания, еще за долго до появления основных нарушений эрекции определяют дефицит различных факторов, вырабатываемых эндотелиальными клетками кавернозных тел. Поэтому целью исследования стало изучение кавернозных тел полового члена у мужчин с ЭД (соотношение гладкомышечных клеток, волокон коллагена при меняющемся уровне тестостерона). Материалом для исследования послужили биоптаты кавернозных тел полового члена 31 одного мужчины с ЭД. Применяли гистологический и гистохимические методы исследования (окрашивали пикрофуксином, азотнокислым серебром по Daskal Y.), определяли уровень тестостерона крови. Исследование области ядрышков организаторов эндотелиальных клеток кавернозных тел полового члена показало, что при ЭД отмечается снижение их морфо-функциональной активности при снижении уровня тестостерона крови, а также повышение морфо-функциональной активности фибробластов. При этом у мужчин с ЭД развивается фиброз кавернозных тел. Так при ЭД отмечается снижение содержания гладкомышечных клеток (ЭД – $38,90 \pm 2,94\%$, контроль – $44,61 \pm 1,37\%$, $p=0,0001$) при нарастании содержания коллагеновых волокон (ЭД – $25,85 \pm 1,82\%$, контрольная группа $20,20 \pm 1,44\%$, $p=0,0001$). При этом число ядрышков организаторов, их суммарная площадь в фибробластах увеличивалось при ЭД и снижалось в эндотелиальных клетках. Было также отмечено увеличение в 1,5 раза фибробластов проявляющих наибольшую морфо-функциональную активность (количество гранул серебра в ядрышке более 1 при ЭД составило 35%, в контроле 22%), и снижение в 1,75 раза субпопуляции активных эндотелиальных клеток (при ЭД более 1 гранулы серебра в эндотелиальных клетках – 40%, в контроле – 70%).

Ключевые слова: фибробласты, эндотелиальные клетки, тестостерон, половой член

MORPHOFUNCTIONAL ACTIVITY OF PENIS CORPUS CAVERNOSA CELLS IN PATIENTS WITH ERECTILE DYSFUNCTION

Privalihina A.V., Shevljakova O.S., Elnikova V.E., Spicyn P.S., Gervald V.J., Pashkov A.J., Gegvald D.V.

Altay state medical university, Barnaul, e-mail: vitalgerdt14@yandex.ru

At the heart of the development of erectile dysfunction (ED) is a decrease of the percentage of smooth muscle cells in the corpus cavernosa of the penis and the development of fibrosis, which is one of its morphological manifestations. Several studies have shown that in the early stages of the disease, even long before the appearance of the main erectile dysfunction of various factors determining the deficit produced by endothelial cells of the cavernous tissue. Therefore, the aim of the research was to study the corpora cavernosa of the penis in men with ED (ratio of smooth muscle cells, collagen fibers at varying levels of testosterone). The object of our work was the biopsy materials of 31 men with erectile dysfunction (ED). The methods to have been used during research were histological and histochemical (picrofuchsin dyeing and nitrate silver dyeing by Daskal Y.), the definition of testosterone level in blood. The research of nucleolus organizer regions of endothelial cells of penis corpus cavernosa has shown the decreasing of their morphofunctional activity in case of erectile dysfunction and decreased testosterone level in blood and also increasing of fibroblasts morphofunctional activity. Thus men with erectile dysfunction had the fibrosis of corpus cavernosa. So when ED is marked reduction of smooth muscle cells (ED - $38,90 \pm 2,94\%$, control - $44,61 \pm 1,37\%$, $p = 0.0001$) with an increase in the content of collagen fibers (ED - $25,85 \pm 1,82\%$, the control group $20,20 \pm 1,44\%$, $p = 0.0001$). The number of nucleolar organizers, their total area in fibroblasts increased with erectile dysfunction and decreased endothelial cells. It was also observed an increase of 1.5 times fibroblasts exhibiting the greatest morpho-functional activity (number of silver granules in the nucleolus, ER than 1 was 35%, 22% in the control) and 1.75-fold decrease in the activity of endothelial cell subpopulation (at ED more silver granules 1 in endothelial cells – 40% in the control group - 70%).

Keywords: fibroblast, endotheliocyte, testosterone, penis.

Эректильная дисфункция (ЭД) – постоянная неспособность достигнуть и/или поддержать эрекцию, достаточную для удовлетворения сексуальной функции, и является общей проблемой среди мужчин во всем мире. Хотя это и не опасное для жизни состояние, его нельзя считать легким, так как это может отрицательно влиять на межличностные отношения и негативно повлиять на мужское и женское благополучие и качество жизни [9].

Распространенность ЭД среди мужчин всех возрастных групп в среднем достигает 33% и напрямую зависит от возраста и сопутствующих заболеваний. У мужчин в возрасте от 40 до 50 лет почти 50 % испытывают проблемы с эрекцией и имеют различной степени выраженности ЭД, в возрасте 50-69 лет – 48-57 % [1]. Например, распространенность ЭД в США составляет более 30 млн. человек [6]. Прогноз распространения данного заболевания: к 2025 году число заболевших в мире составит 322 млн. человек. [10].

В основе развития ЭД лежит снижение процентного содержания гладкомышечных клеток в пещеристой ткани полового члена [1] и развитие фиброза, который является одним из морфологических проявлений ЭД. Но как правило, если имеются склеротические изменения, то процесс заболеваний уже зашел слишком далеко. Сегодняшние публикации показывают, что еще за долго до органических (порой уже необратимых) изменений в половом у пациентов определяют дефицит различных факторов, вырабатываемых эндотелиальными клетками пещеристой ткани. В данном случае все большую популярность приобретают данные при многих сосудистых заболеваниях, в том числе и при ЭД, данные о развивающейся эндотелиальной дисфункции как начального звена при формировании нарушения эректильной функции [5, 7].

Поэтому целью нашего исследования стало изучение изменений кавернозных тел полового члена у мужчин с эректильной дисфункцией при меняющемся уровне общего тестостерона крови.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили биоптаты кавернозных тел полового члена 31 мужчины с эректильной дисфункцией в возрасте от 34 до 74 лет (средний возраст 54 ± 11 лет). Продолжительность болезни пациентов от 2 до 25 лет (в среднем 6 ± 1 лет). В качестве контрольной группы исследовали фрагменты ткани полового члена от 20 мужчин в возрасте до 40 лет (средний возраст 29 ± 6 лет). Материал забирали не позднее 4 часов после смерти и фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина забуференного по Лили.

Исключающие критерии из исследования: сахарный диабет, гипертоническая болезнь, атеросклероз внутренней подвздошной артерии, алкоголизм, аномалии развития половых органов, гипоспадия.

Лабораторными методами определяли содержание в крови уровень общего тестостерона (норма – 12,1-38,3 нмоль/л).

Для морфологического исследования все приготовленные стеклопрепараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон и азотнокислым серебром по Daskal Y. (1980) [8] в нашей модификации [3]. Подсчитывали количество гранул серебра на одно ядро в клетках полового члена (гладкие миоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки) и определяли площадь ядрышка. В каждом случае исследовали до 50 ядер на увеличении микроскопа в 1000 раз (объектив x100, 1.25, oil, окуляр 10), с использованием иммерсионной системы.

Мы использовали активность области ядрышковых организаторов (ОЯОР) как наиболее показательный параметр морфо-функциональной активности клетки [2]. При этом в ядрышках видны гранулы серебра, число и суммарная площадь которых часто используется для характеристики состояния ядрышка [4].

Морфометрическое исследование проводили с использованием системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Lieca DNM проходящего света с подсоединенной цифровой камерой Lieca EC3, персонального компьютера на базе процессора Pentium 4 с тактовой частотой 3,2 ГГц и оперативной памятью 1 ГБ и программы UTHSCSA Image Tool 3.0 (разработанной в University of the Texas Health Science Center of San Antonio, Texas, USA, 2007 и свободно доступной в Интернете). Статистические расчеты проводили автоматизировано в статистическом пакете прикладных программ Stat Soft STATISTICA, 6.0. Предварительно определяли характер распределения данных: соответствие или не соответствие полученных данных нормальному распределению. Для проверки на нормальность распределения применяли следующий статистический критерий: W-тест Шапиро-Уилкса для малых выборок ($p \leq 0,05$, то гипотеза о нормальности распределения отклоняется) и тест Колмогорова-Смирнова для больших выборок. Вычисляли значение средних величин и стандартное отклонение и модальное значение величин. Если данные соответствовали нормальному распределению данных, применяли параметрический критерий для сравнения двух выборок – t-критерий Стьюдента для независимых выборок. При отсутствии нормального распределения данных применяли непараметрические критерии для сравнения двух независимых выборок – U-критерий Манна-Уитни и критерий Вальда-Вольфовица. Значимость между средними величинами и независимыми переменными считали статистически достоверной, если значение «р» было менее или равно 0,05 – 95% уровень безошибочного суждения. Степень корреляции оценивали с использованием непараметрического метода – рангового коэффициента

корреляции Спирмена (r), а для часто повторяющихся данных (например, числовые значения гранул серебра в ядрышках) использовали корреляцию гамма.

Результаты исследования

Наше исследование показало, что при ЭД отмечается снижение содержания гладкомышечных клеток в кавернозных телах полового члена (ЭД – $38,90 \pm 2,94\%$, контроль – $44,61 \pm 1,37\%$, $p=0,0001$) с их дистрофическими изменениями и пикнозом ядер при нарастании содержания коллагеновых волокон (ЭД – $25,85 \pm 1,82\%$, контрольная группа $20,20 \pm 1,44\%$, $p=0,0001$). У 37% в исследуемом материале отмечали появление очаговых фиброзных изменений в кавернозных телах. При этом число ОЯОР, их суммарная площадь (таблица) при ЭД в фибробластах увеличивалось и снижалось в эндотелиальных клетках кавернозных тел. Было также отмечено увеличение в 1,5 раза количество фибробластов проявляющих наибольшую морфо-функциональную активность (количество гранул в ядрышке более 1 при ЭД составило 35%, а в контроле 22% от общего числа клеток), и снижение в 1,75 раза субпопуляции активных эндотелиальных клеток (при ЭД более 1 гранулы эндотелиальные клетки – 40% клеток от общего их числа, в контроле – 70%).

ОЯОР в фибробластах и эндотелиальных клетках кавернозных тел при ЭД

Показатели		Контрольная группа				ЭД			
		фибробласты		эндотелиоциты		фибробласты		эндотелиоциты	
		п	%	п	%	п	%	п	%
Количество ядрышек на 1 ядро	1	278	92,7	322	88,7	868	96	905	91,1
	2	22	7,3	37	10,2	36	4	86	8,7
	3	–	–	4	1,1	–	–	2	0,2
Количество гранул на 1 ядро	1	234	78	110	30,3	585	64,7	593	59,7
	2	66	22	162	44,6	270	29,9	278	28
	3	–	–	48	13,2	47	5,2	64	6,4
	4	–	–	37	10,2	2	0,2	54	5,4
	5	–	–	5	1,4	–	–	3	0,3
	6	–	–	1	0,3	–	–	2	0,2
Среднее количество гранул на 1 ядро		$1,22 \pm 0,41^*$ n=300		$2,09 \pm 1,00^*$ n=363		$1,41 \pm 0,61^*$ n=904 p=0,007		$1,59 \pm 0,88^*$ n=993 p=0,005	
Средняя суммарная площадь ОЯОР, мкм ²		$1,22 \pm 0,33^*$ n=300		$2,16 \pm 0,96^*$ n=363		$1,49 \pm 0,54^*$ n=904 p=0,0000001		$1,46 \pm 0,52^*$ n=622 p=0,001	

Примечание: значения показателей представлено в виде среднее значение величин \pm стандартное отклонение; n – количество измерений.

При определении содержания уровня общего тестостерона в крови отмечено его снижение до низшей границы нормы: модальное значение – 13,4 нмоль/л. Корреляционный анализ показал прямые зависимости между уровнем общего тестостерона крови и

количеством активных субклонов фибробластов и эндотелиальных клеток в кавернозных телах полового члена ($r = -0,73$, $p = 0,00001$; $r = 0,4$, $p = 0,03$ соответственно); а также прямую связь между возрастом пациентов и процентным содержанием коллагеновых волокон в кавернозных телах полового члена ($r = 0,40$, $p = 0,00001$).

Заключение

Таким образом, снижение уровня общего тестостерона крови при ЭД может сопровождаться увеличением числа ОЯОР в фибробластах и приводить к склеротическим изменениям в кавернозных телах полового члена. Снижение числа ОЯОР в эндотелиальных клетках позволяет говорить о снижении морфо-функциональной активности эндотелия, что может быть неким морфологическим выражением эндотелиальной дисфункции. Изучение изменений морфо-функциональной активности клеток кавернозных тел полового члена при ЭД во взаимосвязи с изменениями компонентов соединительнотканного матрикса на фоне снижения общего уровня тестостерона может нам помочь в понимании морфогенеза данного заболевания.

Список литературы

1. Гервальд В.Я. Патоморфологический анализ и патогенетические особенности органической эректильной дисфункции и болезни Пейрони: автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.Я. Гервальд. – Новосибирск, 2011. – 21 с.
2. Криворучко А.Ю. Активность областей ядрышковых организаторов в трофобласте при воздействии гипоксии // Морфология. – 2007. – т. 132, № 4. – С. 64-67.
3. Модификация гистохимического метода выявления ядрышковых организаторов на гистологических срезах / Бобров И.П., Авдалян А.М., Лазарев А.Ф. [и др.] // Архив патологии. – 2010. – № 3. – с. 35-37.
4. Штейн Г.И. Изменения морфометрических параметров окрашенных серебром ядрышек гепатоцитов крыс при циррозе печени и в процессе ее реабилитации / Г.И. Штейн, М.В. Кудрявцева, Б.Н. Кудрявцев // Цитология. – 1999. – Т. 41, № 7. – с. 574-579.
5. Aversa A. Early endothelial dysfunction as a marker of vasculogenic erectile dysfunction in young habitual cannabis users // Inter. J. Impot. Res. – 2008. – V. 20. – P. 566–573.
6. Combined oral therapy with sildenafil and doxazosin for the treatment of non-organic erectile dysfunction refractory to sildenafil monotherapy / A. F. De Rose, M. Giglio, P. Traverso [et al.] // Inter. J. Impot. Res. – 2002. – V. 14. – P. 50-53.
7. Early endothelial dysfunction as a marker of vasculogenic erectile dysfunction in young habitual cannabis users / A. Aversa, F. Rossi, D. Francomano [et al.] // Inter. J. Impot. Res. – 2008. – V. 20.

– P. 566–573.

8. Daskal Y. Evidence from studies on segregated nucleoli that nuclear silver stained proteins C23 and B23 are in fibrillar components / Y. Daskal, K. Smetana, H. Buch // *Exp. Cell Res.* – 1980. – V. 127. – P. 285-291.

9. Surveillance of cardiovascular risk factors for outpatients in different erectile dysfunction severity / S-T Chang, C-M Chu, J-T Hsu [et al.] // *Inter. J. Impot. Res.* – 2009. – V. 21. – P. 116-121.

10. Wespes E. Smooth muscle pathology and erectile dysfunction // *Inter. J. Impot. Res.* – 2002. – V. 14 (1). – P. 17-21.

Рецензенты:

Высоцкий Ю.А., д.м.н., профессор кафедры анатомии человека, Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул;

Талалаев С.В., д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул.