

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РЯЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П.ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

**Федотов
Александр Викторович**

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЯИЧЕК ПОСЛЕ ТЯЖЕЛОЙ
ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**

14.03.02 – Патологическая анатомия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель –
доктор медицинских наук, профессор
Александр Федорович АСТРАХАНЦЕВ

Рязань – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Патоморфологические изменения головного мозга при черепно-мозговой травме	11
1.2. Изменения гипоталамуса и гипофиза при черепно-мозговой травме.....	12
1.3. Ось гипоталамус-гипофиз-яички.....	15
1.4. Морфологические изменения яичек при черепно-мозговой травме.....	16
1.5. Морфометрия мужских половых желез.....	20
1.6. Маркёры иммунофенотипирования структур половых желез в норме и при патологии.....	23
1.7. Заключение.....	26
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	35
3.1. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ на месте происшествия.....	35
3.2. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ через 1-3 суток.....	50
3.3. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ через 6-9 суток.....	65
3.4. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ через 15 суток и более.....	82
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	101
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	119
ВЫВОДЫ	120
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	122
ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	124
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Значительная распространенность черепно-мозговой травмы (ЧМТ), огромный ущерб здоровью населения и экономике, в целом определяют медицинское и социальное значение этой проблемы. По данным Федеральной службы государственной статистики (Росстат), травмы, в том числе и ЧМТ, в Российской Федерации, как показатель заболеваемости за последние 17 лет, занимают второе место, и регистрируется свыше 1300 случаев на 100000 человек населения, уступая лишь болезням органов дыхания. В США каждый год с различными видами ЧМТ госпитализируется свыше 400 человек на 100000 человек населения (CDC, 2003). В течение одного года в странах Европы на 100000 человек, 694 поступает в больницы с диагнозом ЧМТ (Brazinova A. et al., 2018). Черепно-мозговая травма достаточно часто приводит к смерти или инвалидности (van Baalen B. et al., 2003). В связи с этим, изучение морфологических изменений во внутренних органах, возникающих в результате ЧМТ, является весьма актуальным.

Известно, что при черепно-мозговой травме страдают практически все внутренние органы и ткани. Так довольно подробно изучены морфологические изменения, возникающие при черепно-мозговой травме в различных отделах головного мозга - гипоталамусе, гипофизе, органах сердечно-сосудистой системы (Русаков В.В., 2013). Значительным изменениям при черепно-мозговой травме подвергаются железы внутренней секреции, в том числе и половые железы.

Об отрицательном влиянии черепно-мозговой травмы на мужские половые железы известно давно. Однако, среди разнообразных висцеральных нарушений, развивающихся при черепно-мозговой травме, поражение яичек занимает особое место. Это обусловлено с одной стороны хорошо известным в клинике фактом развития половой дисфункции у лиц перенесших черепно-мозговую травму. И хотя приводимые данные о частоте развития половых

расстройств у лиц, перенесших черепно-мозговую травму, чрезвычайно вариabельны и составляют, по данным различных авторов, от 2 до 60%, большинство исследователей считает, что не менее трети пострадавших страдает разнообразными половыми расстройствами (Schneider H. et al., 2007).

С другой стороны, интерес к этой проблеме вызван тем, что половые расстройства, развивающиеся как следствие черепно-мозговой травмы, сами становятся фактором вызывающим стойкие патологические изменения в центральной нервной системе, различных внутренних органах эндокринных желез, существенно снижающими качество жизни лиц перенесших черепно-мозговую травму (Карашев Б.К., 2013). Нарушение сперматогенеза у лиц, перенесших черепно-мозговую травму, может явиться одной из причин снижения рождаемости.

Степень разработанности темы

Несмотря на очевидную актуальность проблемы влияния черепно-мозговой травмы на половые железы мужчин, этот вопрос изучен недостаточно: специальных морфологических работ, посвященных изучению репродуктивной функции у пациентов перенесших черепно-мозговую травму, или нарушений данной функции развивающихся в остром периоде черепно-мозговой травмы крайне мало (Rees P. et al., 2007; Карашева Б.Г., 2013; Dyer K., 2013), четкие объективные критерии степени выраженности этих нарушений отсутствуют. В связи с этим, актуальной задачей является изучение патоморфологических изменений в яичках в различные сроки острого периода тяжелой черепно-мозговой травмы, а также разработка критериев степени выраженности этих изменений.

Цель и задачи исследования

Охарактеризовать патоморфологические изменения в яичках у лиц, погибших от черепно-мозговой травмы в различные сроки после тяжелой черепно-мозговой травмы.

Для реализации поставленной цели необходимо было решать следующие задачи:

1. Изучить степень изменений весовых, объемных параметров основных структурно-функциональных компонентов яичек, в том числе компонентов стромы и сосудистой сети, в различные сроки после черепно-мозговой травмы.

2. Определить структурно-функциональные компоненты яичек, изменения которых наиболее выражены при черепно-мозговой травме. Выявить характер изменений эндокринного, соединительнотканного компонента яичек и количественные изменения различных типов сперматогенных клеток в различные сроки после черепно-мозговой травмы.

3. Оценить результаты иммуногистохимического исследования сперматогенных и соматических клеток яичек по маркерам пролиферации (PCNA, Ki-67, PhosphohistoneH3), факторам дифференцировки (CD117), рецепторного статуса sustentоцитов (AR, Inhibin B) в различные сроки острого периода черепно-мозговой травмы.

4. Установить наличие взаимосвязи между степенью выраженности обнаруженных патоморфологических изменений и длительностью течения черепно-мозговой травмы.

5. Определить наиболее достоверные морфологические критерии оценки степени выраженности морфологических изменений яичек, в различные сроки острого периода черепно-мозговой травмы.

Научная новизна работы

В работе исследованы патоморфологические изменения, развивающиеся в яичках в различные сроки острого периода тяжелой черепно-мозговой травмы. Установлено, что в различные сроки острого периода черепно-мозговой травмы развиваются изменения канальцевого аппарата, стромы и эндокринных структур яичек. Наибольшим изменениям, среди всех изученных морфо-

функциональных компонентов яичек, подвергается эпителио-сперматогеенный слой.

Впервые на основе многофакторного морфометрического анализа разработанного «цитологического профиля сперматогенеза» дана характеристика количественных изменений сперматогеенных клеток в различные сроки длительности течения тяжелой черепно-мозговой травмы. Установлены наиболее ранние признаки повреждения эпителио-сперматогеенного слоя и изучены количественные изменения сперматогеенных клеток в остром периоде черепно-мозговой травмы.

Впервые установлено, что наиболее резистентным к повреждению типом сперматогеенных клеток являются сперматогонии A_T , чем можно объяснить транзиторный характер бесплодия у пациентов, перенесших черепно-мозговую травму. В исследовании представлена целостная картина изменений некоторых показателей иммуногистохимического исследования эпителио-сперматогеенного слоя, стенки извитых семенных канальцев, сосудистого русла, интерстициальной соединительной ткани и эндокринного аппарата мужских половых желез в зависимости от длительности черепно-мозговой травмы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные сведения расширяют научные представления о патологии репродуктивной системы мужчин при черепно-мозговой травме и ориентируют на возможность активной коррекции транзиторного бесплодия травматической этиологии. На основе полученных количественных данных разработаны морфометрические критерии, которые позволяют дать оценку морфологическому состоянию яичек в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы, а также могут быть использованы при диагностике патологических состояний различной этиологии репродуктивной системы мужчин.

Основные положения, выносимые на защиту

В результате проведенного исследования на защиту выносятся следующие положения:

1. Черепно-мозговая травма вызывает нарушения всех структурных компонентов яичек. Наибольшим изменениям при черепно-мозговой травме подвергается эпителио-сперматогенный слой, в нем уменьшается общее количество сперматогенных клеток, их отношение к sustentоцитам и происходит уменьшение площади поперечного сечения извитых семенных канальцев.
2. Начальным проявлением посттравматического нарушения сперматогенеза являются деструктивные изменения сперматид.
3. В остром периоде черепно-мозговой травмы, наступает дезорганизация типичных клеточных ассоциаций сперматогенеза, нарушающая нормальный цикл их развития. Относительно резистентными к посттравматическому повреждению среди сперматогенных клеток являются сперматогонии А_T.
4. Изменения инкреторного аппарата яичек в остром периоде черепно-мозговой травмы, носят характер постепенно нарастающей атрофии интерстициальных эндокриноцитов.

Степень достоверности и апробация результатов

В работе использован уникальный секционный материал: были изучены 45 половых желез мужчин среднего возраста, погибших от черепно-мозговой травмы на месте происшествия и в различные сроки после черепно-мозговой травмы. Во всех исследованных случаях, по данным медицинской документации и морфологического исследования, отсутствовали признаки острых и хронических воспалительных заболеваний, инфекционных заболеваний, эндокринной патологии, хронических интоксикаций, острой алкогольной или наркотической интоксикации, гипертонической болезни, грыжесечения, в анамнезе отсутствовали венерические заболевания, а проявления атеросклероза были минимальными. При решении поставленных задач, автором ис-

пользован комплекс методов исследования: патогистологических, морфометрических и иммуногистохимических. Полученные в ходе исследования числовые данные, подвергнуты статистической обработке с использованием программы «Statistica 9.0» с соблюдением рекомендаций по биологическим и медицинским исследованиям. Перед статистической обработкой проводилась проверка вариационных рядов на нормальность распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Корреляционный анализ проводился с использованием метода Пирсона.

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на IV Всероссийском съезде патологоанатомов (Белгород, 2013); Всероссийской конференции с международным участием «Современные подходы в клинкоморфологической диагностике и лечении заболеваний человека» (Санкт-Петербург, 2013); Научно-практической конференции молодых ученых судебных медиков и патологоанатомов Центрального федерального округа (Москва, 2014); Научно-практической конференции урологов (Рязань, 2016); V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 2017); Всероссийской конференции молодых специалистов «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии» (Рязань 2017); на межкафедральной конференции на кафедре гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики в ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» (Рязань, 2019).

Методология и методы исследования

Заключались в системном подходе и комплексном анализе полученных данных морфологических исследований. Проводился комплексный анализ научных трудов отечественных и зарубежных авторов.

При исследовании мужских половых желез проводилось определение массы и объема яичек. Стереологические параметры исследовались на 3 уровнях – гистотопографическом, тканевом и цитологическом. На цитологи-

ческом уровне в каждом наблюдении определялся «цитологический профиль сперматогенеза». Для иммуногистохимического исследования использовались 6 коммерческих моно и поликлональных антител фирм Dako (Дания) и Cell Marque (США).

Личный вклад автора

Заключался в выборе направления исследования, постановки цели и задач, в их клинико-морфологической реализации. В сборе секционного материала. Применении методики компьютерного подсчета структур яичка, иммуногистохимического анализа, статистической обработке полученных данных, выборе и описание иллюстративного материала.

Публикации результатов работы

Основное содержание диссертации отражено в 7 опубликованных научных работах соискателя, в том числе в 3 статьях в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ для публикации результатов докторских и кандидатских диссертаций, а также получен 1 патент на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 174 источника отечественных (118) и зарубежных (56) авторов. Материалы диссертации изложены на 155 страницах машинописного текста и иллюстрированы 50 фотографиями, 3 таблицами и приложением (10 таблиц).

Внедрение результатов диссертации в практику

Результаты исследований используются при диагностике идиопатических форма мужского бесплодия в отделении урологии и трансплантации органов ГБУ РО «Областная клиническая больница», клинике «Мать и дитя» и

в патологоанатомическом отделении НУЗ ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко, ОАО «РЖД», при чтении лекций и проведении практических занятий на кафедре гистологии, патологической анатомии и медицинской генетики ФГБОУ ВО ГБУ РО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.03.02 – Патологическая анатомия.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Патоморфологические изменения головного мозга при черепно-мозговой травме

Повреждение головного мозга при ЧМТ представляет собой сложный, многокомпонентный процесс. Существует множество теорий патогенеза развития ЧМТ: вибрационная молекулярная теория сотрясения, теория ликворного удара, теория передачи силовых волн, теория противоударных повреждений, вызванных деформацией черепа, теория деформации, теория отсечения мозга в месте, противоположном воздействию сил, теория инерционного внутричерепного смещения мозга, теория кавитационного повреждения мозга, ротационная теория, теория градиента давления, теория ударных волн. Приведенный перечень теорий демонстрирует сложность механизмов развития ЧМТ. И поскольку ни одна из теорий не дает объяснения, была сформулирована интегральная теория повреждения головного мозга при ЧМТ (Попов В.Л., 1988, Пашинян Г.А., 1994, Касумова С.Ю., 1998). По виду повреждения, ЧМТ разделяют на очаговую, характеризующуюся преимущественно ударно-противоударной травмой с локальными повреждениями мозгового вещества различной степени; диффузную, характеризующуюся травмой ускорения-замедления с преходящей асинапсией, первичными и вторичными разрывами аксонов в семиовальном центре; сочетанную, в которой присутствуют повреждения первого и второго видов. По тяжести ЧМТ разделяют на три степени: легкую, средней тяжести и тяжелую. С клинической точки зрения, данное разделение основывается на значении шкалы комы Глазго, где 13-15 баллов оценивается как легкая, 9-12 баллов среднетяжелая, а 3-8 баллов как тяжелая ЧМТ. С точки зрения повреждений вещества головного мозга, сотрясение и ушиб мозга легкой степени, относятся к легкой ЧМТ, ушиб мозга средней степени, подострое сдавление мозга, к среднетяжелой ЧМТ, ушиб мозга тяжелой степени, диффузное аксональное повреждение и острое сдавление мозга к тяжелой ЧМТ. В течении ЧМТ выделяют три основных перио-

да: 1) острый, 2) промежуточный, 3) отдаленный. Временные промежутки указанных периодов варьируют в зависимости от клинической формы черепно-мозговой травмы и составляют в остром периоде до 10 недель, в промежуточном от 2 до 6 месяцев, в отдаленном – до 2 лет (Лихтерман Л.Б., 2015, Потапов А.А., 2016).

1.2. Изменения гипоталамуса и гипофиза при черепно-мозговой травме

В исследованиях, посвященных изучению гипоталамуса при черепно-мозговой травме, авторами отмечалось, что в гипоталамусе редко обнаруживаются контузионные очаги, а их обнаружение связывалось с непосредственным механическим воздействием (размозжением, некроз, кровоизлияние). По данным Хижняковой К.И. в остром периоде ЧМТ в нейросекреторных ядрах возникают циркуляторные нарушения: гиперемия, стазы, дистония сосудов большое количество диапедезных кровоизлияний. Через 2 часа после травмы появлялись гемолиз, небольшие скопления лейкоцитов, очажки клеточного опустошения. Кровоизлияния сравнительно часто локализовались в области паравентрикулярных ядер, вблизи стенки бокового желудочка. Значительное их количество, обусловлено анатомическими особенностями васкуляризации ядер. Первичные травматические геморрагии имели точечные и мелкоочаговые размеры. В первые часы после травмы появлялись полиморфноядерные лейкоциты, количество которых значительно увеличивается через 11-18 часов. В первые часы после травмы функциональная активность клеток гипоталамуса резко снижается или остается умеренной. Через 18 часов после ЧМТ функциональная активность нейросекреторных элементов гипоталамуса значительно возрастает, о чем свидетельствуют увеличение размеров клеток и их ядер, а также уменьшение гомориположительного вещества в нейрогипофизе. Через сутки после травма, возникали стазы, лейкодиапедез, тромбоз, значительно выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек. Нейроны имели нечеткие контуры, из-

за расплавления цитоплазмы и приобретали вид «клеток-теней». Начальные стадии тяжелых изменений выявлялись в клетках супраоптического и паравентрикулярного ядер, уже через 1 сутки после травмы в виде хроматолиза и пикноза ядер. Реактивные изменения в нейронах наблюдались в те же сроки, что и тяжелые изменения нервных клеток.

Впервые на нарушение функции гипофиза при ЧМТ указал в 1918 году (Cyrax E., 1918). В гипофизе травматические повреждения характеризуются возникновением кровоизлияний в различных отделах: ножке, капсуле, паренхиме передней и задней долей. Частота этих повреждений обусловлена механизмом и степенью ЧМТ. По данным К.И. Хижняковой процентное соотношение аденоцитов в первые часы травмы составило: базофильных $11,0 \pm 1,6\%$, эозинофильных $38,8 \pm 2,14\%$, хромофобных $50,2 \pm 1,8\%$. На долю вакуолизированных базофилов приходится $7,8 \pm 0,35\%$ от общего числа клеток (Хижнякова К.И., 1983). Средний объем ядра аденоцитов равен $77,4 \pm 5,0$ мкм³. Однако определение среднего объема ядра для каждого типа секреторных клеток данным автором не производилось, хотя эти клетки различаются как в структурном, так и в функциональном отношении. Через 30-60 минут после травмы в ножке и капсуле аденогипофиза и нейрогипофиза появлялись очаговые кровоизлияния. Масса и размеры железы несколько увеличивались. Содержание рибонуклеопротеидов и мукополисахаридов значительно возрастало, затем снижалось. Процентное соотношение клеток не изменялось, но увеличивалось число вакуолизированных базофильных клеток. Через 2-7 часов нарастало число базофилов. Ядра клеток уменьшались в объеме, часть их имела пузырьковидное строение. Позже возникал коллоидный отек стромы. Спустя 22-36 часов после травмы размеры и масса гипофиза значительно возрастали; капсула и строма несколько утолщались и разволокнялись. Число базофильных аденоцитов увеличивалось до 30,5%, а эозинофильных - уменьшалось и составляло 27,85%. Значительно возрастало количество вакуолизированных базофилов – до 73% от общего их числа. Зернистость их цитоплазмы значительно уменьшалась. Ядра имели округ-

лую форму, гиперхромные, некоторые из них пузырьковидные, с одним или несколькими ядрышками. Многие базофилы пикнотизированы. В задней доле гипофиза отмечено небольшое количество нейросекреторных гранул и значительное количество базофильных аденоцитов. Перечисленные выше морфологические признаки расценены автором в качестве показателей истощения функциональной активности органа. В.Е. Локтев установил, что кровоизлияния в ножку возникают только при боковых ударах по голове, а кровоизлияния в капсулу при тяжелой травме, сопровождающейся переломом костей черепа и повреждением вещества мозга (Локтев В.Е., 1977).

Некрозы ткани железы обычно развиваются через несколько суток после получения травмы. Избирательное поражение передней доли объясняется особенностями ее кровоснабжения, осуществляющегося по ножке гипофиза, которая может испытывать как прямое повреждающее воздействие при переломе турецкого седла, так и опосредованное воздействие в результате посттравматического отека и дислокации головного мозга.

Также некоторыми авторами проводились исследования по определению функционального состояния различных клеток аденогипофиза при черепно-мозговой травме. При исследовании гипофиза, отмечали наличие небольших кровоизлияний, наиболее часто локализовавшихся в капсуле передней доли. Кроме этого, обнаруживали неравномерное кровенаполнение синусоидных капилляров и эритростазы. Деструктивные изменения секреторных клеток обнаруживались уже через 3-4 часа после травмы и заключались в сморщивании аденоцитов с явлениями кариопикноза и вакуолизации цитоплазмы базофильных тропоцитов. Отмечалось достоверное снижение количества базофильных и эозинофильных тропоцитов, при этом количество хромофобных клеток увеличивалось. Автором данные изменения расценены как – одномоментный быстрый, «аварийный», посттравматический выброс тропных гормонов базофильными и эозинофильными аденоцитами. Проведенным исследованием установлено снижение функциональной активности базофильных тропоцитов, что расценено авторами как признак не-

достаточной выработки всего ряда тропных гормонов, синтезируемых этими клетками, что в свою очередь указывало на утрату аденогипофизом регулирующего воздействия на соответствующие железы при ЧМТ (Солохин Е.В. 2001; Прошина Ю.В. 2007).

1.3. Ось гипоталамус-гипофиз-яички.

Важнейшим механизмом центральной регуляции синтеза тестостерона, активности сперматогенеза и сигналинга тестостерона в тканях, является система гормональных взаимодействий между гипоталамусом, гипофизом и интерстициальными эндокриноцитами и сустентоцитами в яичках, называемая осью “гипоталамус-гипофиз-яички” (Кремер У.Д. и др. 2008; Ubuka T. et al., 2014). Общая схема этой системы состоит из следующих элементов: Секреторные нейроны аркуатного и преоптического ядер гипоталамуса синтезируют гонадотропин-рилизинговый гормон, или гонадолиберин, пептидный гормон, который транспортируется по аксонам этих нейронов в переднюю долю гипофиза. Гонадолиберин стимулирует синтез и секрецию гипофизом фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. Лютеинизирующий гормон основной регулятор функции интерстициальных эндокриноцитов и в первую очередь процессов стероидогенеза и секреции гормонов. Фолликулостимулирующий гормон регулирует функцию сустентоцитов, включающуюся прежде всего в поддержании гемато-тестикулярного барьера и синтезе белков, поддерживающих сперматогенные клетки (McCabe, et al., 2016). Секреция лютеинизирующего гормона активирует быстрое усиление продукции тестостерона, внешним проявлением этого процесса является вирилизация, секреция фолликулостимулирующего гормона стимулирует процесс сперматогенеза, в результате чего сперма становится фертильной (Majzoub, Sabanegh, 2016).

Секреция гонадолиберина и гонадотропинов контролируется сложной обратной связью со стороны яичек. Стимулирование сустентоцитов приводит не только к синтезу факторов, поддерживающих сперматогенез, но и к синте-

зу и секреции веществ, дополнительно активирующих продукцию тестостерона в интерстициальных эндокриноцитах, так называемых факторов роста. Тестостерон также является и негативным регулятором синтеза лютеинизирующего гормона в гипоталамусе, подавляя его синтез, тем самым лишая гипоталамус стимулирующей поддержки. Также, в результате химических преобразований в интерстициальных эндокриноцитах и сустентоцитах, тестостерон превращается в эстрадиол - главный негативный регулятор синтеза фолликулостимулирующего гормона (Ramaswamy, et al., 2014). Регуляция андрогенами осуществляется через рассмотренный выше механизм с рецепторами стероидных гормонов, которые экспрессируются преимущественно в сустентоцитах (Loukil L.H., 2005). Дополнительным негативным регулятором фолликулостимулирующего гормона является ингибин В (Piadou P.K., 2015).

Сложное устройство этой гормональной регуляторной системы позволяет очень точно настраивать ее в соответствии с текущими условиями среды и закладывает большой потенциал пластичности, позволяющий переносить негативные воздействия.

Однако достаточно сильное нарушение любого из этапов данной системы приводит к ее сбою и перестройке, в результате чего синтез стероидов и сперматогенез нарушатся. Интерстициальные эндокриноциты и сустентоциты теряют гормональную поддержку гонадотропинами и их функциональная активность снижается. Синтез тестостерона замедляется и затем прекращается, а сперматогенез останавливается. Если воздействие достаточно продолжительное и сильное, то наступает гибель клеток и разрушение эпителио-сперматогенного слоя.

1.4. Морфологические изменения яичек при черепно-мозговой травме

У пациентов с черепно-мозговой травмой нарушения функции половых желез носят центральный характер и имеют клинические признаки гипофизарной недостаточности нейроэндокринного или вегетососудистого характе-

ра (Schneider H. et al., 2007). Как известно передняя доля гипофиза синтезирует целый ряд пептидных гормонов: адренокортикотропный гормон, тиреотропный, лютеинизирующий, фолликулостимулирующий, лактотропный и соматотропный.

Гипофизарная секреция, в свою очередь, регулируется гипоталамическим выделением релизинг факторов с одной стороны, а также с секрецией нейрогипофизарных гормонов с другой. Гипофизарная дисфункция ведет к развитию сложных заболеваний. При ЧМТ эндокринная дисфункция наблюдается от 15% до 68% случаев. Повреждения передней доли гипофиза регистрируются в 27,5% случаев при различных видах ЧМТ. При этом, после данной травмы чаще всего встречается недостаточность лютеинизирующего гормона, фолликулостимулирующего и гормона роста. Биопсии половых желез у больных с подобного рода нарушениями гипофиза демонстрируют морфологические признаки вторичного гипогонадизма (Хаит Н.З., 1993; Aloni R., 1998; Bellamkonda E., 2014; Древаль А.В., 2019). При этом средний диаметр извитых семенных канальцев уменьшен и составляет в среднем 187 мкм. Большинство извитых семенных канальцев имеет правильную округлую форму, однако, у 42% больных часть канальцев деформирована.

Эпителио-сперматогенный слой у больных представлен всеми видами сперматогенных клеток, однако в некоторых канальцах сперматогенез не полностью завершен. Наблюдается «торможение» сперматогенеза на стадии формирования сперматид, которые находятся в состоянии некробиоза и десквамируются в просвет извитого семенного канальца, заполняя его. Доля десквамированных сперматид составляет до 50% от количества всех сперматогенных клеток. Десквамированные сперматиды находятся вне связи с sustentоцитами, что указывает на нарушение метаболической взаимосвязи между компонентами эпителиосперматогенного слоя и исключает возможность правильного завершения спермиогенеза. При этом, часть канальцев расширена, лишена просвета и наряду со сперматидами содержит дифферен-

цирующие сперматогенные клетки. В части этих клеточных элементов отмечается пикноз, фрагментация ядер, вакуолизация цитоплазмы.

В отдельных полях зрения отмечаются многоядерные клеточные структуры. Подобные нарушения оцениваются как «семенной застой» и, по видимому, связаны с нарушением сократительной функции стенки извитых семенных канальцев. Наряду с вышеописанным, в подобных семенных канальцах отмечается также дисконкомплексация и диспозиция сперматогенных клеток эпителиосперматогенного слоя, в результате которой сперматиды располагаются непосредственно на базальной мембране, в то время как сперматоциты и даже сперматогонии располагаются в центре канальца (Хаит Н.З., 1993).

Вместе с этим, в цитоплазме сперматогоний отмечаются включения гранул гликогена, а также снижение количества рибонуклеопротеина, что, по мнению авторов, указывает о нарушении обменных процессов в этих клеточных элементах. В канальцах с дезорганизацией эпителиосперматогенного слоя цитоплазма сустентоцитов демонстрирует снижение реакции на гликоген. При этом, гликоген в виде мелких скоплений имеет неравномерное расположение в различных сустентоцитов в пределах одного поперечного среза семенного канальца.

Хаотичное расположение гранул гликогена указывает на нарушение трофической функции этих клеточных элементов. В извитых семенных канальцах 15% больных этой группы площадь поперечного сечения канальцев незначительно уменьшена. Эпителио-сперматогенный слой в подобных канальцах представлен либо только сустентоцитами (атрофия IV степени по классификации K.R. Schinz, B. Slotopolsky, 1924), либо сустентоцитами и сперматогониями (атрофия III степени). Сперматоциты, а также сперматиды встречаются в отдельных канальцах и находятся в состоянии некробиоза. Количество включений гликогена в цитоплазме сустентоцитов снижено, в то время как в цитоплазме сперматогенных клеток гликоген обнаруживается, что, по мнению автора, указывает на глубокие обменные нарушения в спер-

матогенных элементах. В стенке извитых семенных канальцев обнаруживается повышенная извилистость базальной мембраны.

Наряду с этим наблюдается накопление в базальной мембране Хейл-позитивных структур, что в совокупности указывает на начало склеротических процессов в соединительно-тканых структурах стенки канальца. Объем интерстициальной соединительной ткани (ИСТ) во всех наблюдениях первой группы был несколько увеличен. Интерстициальная соединительная ткань, составляющая основу итерстиции половых желез, разрыхлена. Количество интерстициальных эндокриноцитов (ИЭ) в среднем на один межка-нальцевый промежуток (сегмент) половых желез в различных наблюдениях от 0,1 до 6,9, составляя в среднем – 1,3, т.е. меньше, чем в норме. Размеры отдельных ИЭ от 6 до 9 мкм в диаметре. В 42% случаев ИЭ имеют чаще веретенообразную форму, реже полигональной формы, напоминая фибробласты. В цитоплазме некоторых ИЭ обнаруживаются кристаллы Рейнике. Согласно классификации подобные клеточные элементы соответствуют типу «А» (Schiffen R.C., 1956). В 8% наблюдений ИЭ средних размеров полигональной формы с зернистой цитоплазмой и немногочисленными кристаллами Рейнике – преимущественно по своей морфоструктуре соответствовали типу «Б».

Практически во всех наблюдениях отмечается наличие дегенеративно измененных ИЭ с пикнотическими и деформированными ядрами. В 30% наблюдений большинство исследованных ИЭ по особенностям морфологического строения и признакам дегенеративного характера были отнесены к типу «Д». В 15% наблюдений в интерстиции половых желез определяются ИЭ небольших размеров, вытянутой формы с пигментными включениями в цитоплазме – тип «Е». Во всех наблюдениях этой группы больных, цитоплазма ИЭ была лишена суданофильных включений, в то время как в норме, по мнению некоторых исследователе, жировые суданофильные включения являются постоянным компонентом специфичным для этого типа клеточных элементов ИСТ (Buchlon H., 1957).

В то же время, в цитоплазме ИЭ описываемых наблюдений обнаруживаются включения гликогена, которые в норме отсутствуют.

Вышеизложенные данные позволили автору исследования прийти к заключению о том, что у больных исследованной группы, ИЭ демонстрируют признаки морфо-функциональной недостаточности, весьма характерные для гипогонадизма гипоталамо-гипофизарного генеза. Клинико-морфологические сопоставления у больной первой группы в возрасте от 22 до 38 лет позволили определить, что среди этиологических факторов, возможно оказавшихся причиной гипоталамического синдрома преобладала ЧМТ.

1.5. Морфометрия мужских половых желез

Большой вклад в изучение морфологии мужских половых желез и причин мужского бесплодия, внесли отечественные специалисты (Райцина С.С., 1985; Курило Л.Ф., 1989). Не смотря на достигнутые успехи в диагностике нарушений репродуктивной функции мужчин у трети пациентов, обследуемых по поводу бесплодия, установить конкретную причину этой патологии не удастся (Аполихин О.И., 2010). Для окончательной верификации нозологии, её вариантов и степени поражения, при азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени различной этиологии выполняют морфологическое исследование ткани яичка. Анализ гистологических препаратов включает в себя оценку:

- гистологических изменений в каждом отдельно взятом семенном канальце путем отдельного подсчета количества имеющихся клеток (сперматогоний, сперматоцитов, округлых и вытянутых сперматид, sustentоцитов);
- состояния собственной пластинки (базальной мембраны);
- состояния и состава интерстициальной ткани.

Морфологический анализ различных типов сперматогенных клеток семенных канальцев человека позволяет выделить ряд вариантов нарушения сперматогенеза. Так, если в семенных канальцах уменьшено число вытяну-

тых сперматид или наблюдается неполный клеточный состав, то речь идет о «гипосперматогенезе».

Остановку сперматогенеза, характеризующуюся наличием во всех канальцах ранних округлых сперматид, первичных сперматоцитов или сперматогоний, обозначают термином «остановка созревания». Подобные изменения были обнаружены в 12,5% исследованных наблюдений.

При этом у 9 больных установлена блокада на уровне развития первичных сперматоцитов (Дубова Е.А., 2012). Проведенное морфологическое изучение 284 биоптатов яичек, полученных от 80 мужчин в возрасте от 23 до 55 лет, позволило установить у 24 пациентов (24-55 лет) обструктивную, и у 56 (23—54 лет) - необструктивную форму азооспермии с разными видами нарушений сперматогенеза (Дубова Е.А. и др., 2012). Важным этапом микроскопического изучения биоптата яичка является количественная оценка степени нарушений сперматогенеза. Впервые такая балльная система для оценки качества сперматогенеза была предложена в 1970 г. S. Johnsen и модифицирована De Kretser и A. Holstein (Дубова Е.А. и др., 2012). Согласно этой системе, на гистологических препаратах оценивается каждый извитой семенной каналец, которому присваивается определенный балл. Такая система наиболее значима для пациентов с олигозооспермией. Однако при необструктивной азооспермии балльная оценка указывает лишь только на среднее число канальцев с измененным количеством сперматогенных клеток, и не позволяет регистрировать аномальные сперматогенные клетки: вытянутые или гигантские а также многоядерные сперматиды. В этой связи, по мнению некоторых авторов наиболее приемлемой является балльная шкала оценки, предложенная в 1998 г. M. Bergmann и S. Kliesch, по которой на гистологических препаратах подсчитывают долю (в процентах) канальцев, содержащих вытянутые сперматиды (Дубова Е.А. и др., 2012).

На основании полученных значений (процента) определяют степень выраженности атрофии эпителия семенных канальцев яичка. Если вытянутые сперматиды выявляются в 75% канальцев и более, то речь идет о нормальном

сперматогенезе. При выявлении сперматид в 10-74% канальцев говорят о смешанной атрофии эпителия семенных канальцев. Если менее 10% канальцев содержат вытянутые сперматиды, то диагностируют выраженную атрофию яичка.

Известен способ диагностики гипосперматогенеза и атрофии сперматогенных клеток яичка путем проведения морфометрического анализа биоптата путем определения индекса сперматогенеза, являющийся отношением числа всех сперматогенных клеток к числу sustentocитов (клеток Сертоли) в 30 поперечных срезах извитых семенных канальцев (Астраханцев А.Ф., Соловьев А.А., 2001). Он включает в себя: 1. биопсию яичка (по показаниям). 2. морфометрическое изучение биоптата, включающее в себя подсчет sustentocитов на 30 поперечных срезах семенных канальцев гистологического препарата. В тех же канальцах производят подсчет общего количества сперматогенных клеток. 3. индекс сперматогенеза рассчитывают как соотношение sustentocиты/клетки сперматогенеза. Оценка результата производится по таким признакам как: снижение индекса сперматогенеза до 10-90%, снижение индекса сперматогенеза более 90%, при этом в 1 случае диагностируется гипосперматогенез, во 2 случае диагностируют атрофию сперматогенных клеток яичка. Индекс сперматогенеза был успешно использован при морфологической диагностике нарушений сперматогенеза при атеросклерозе (Крупнов Н.М., 2002), паховой грыже (Зотов И.В., 2002; Кириллов Ю.Б. и др., 2006), остром паротитном орхите у взрослых (Соловьев А.А., 2002), варикоцеле (Стрелков А.Н., 2003).

Полное отсутствие сперматогенных клеток во всех имеющихся на препарате канальцев и наличие в них sustentocитов, является основанием для постановки диагноза «синдром только клеток Сертоли».

При отсутствии сперматогенных клеток и sustentocитов, в сочетании с утолщением базальной мембраны канальцев вследствие отложения в ней аморфного материала, используется термин «гиалинизация канальцев» или «тени канальцев» (Holstein A.F., 1988).

Аномалии ядер в виде многоядерных сперматид указывают на нарушения спермиогенеза и сперматогоний или дефекты мейоза, проявляющиеся в виде мегалосперматоцитов (Johannisson R., 2003).

Важным морфологическим критерием является форма ядер сустентоцитов. Некоторыми авторами отмечается, что если ядра сустентоцитов имеют округлую или овальную форму, то они должны расцениваться как «незрелые» (по-видимому – малодифференцированные). «Зрелые» (более дифференцированные) имеют неровные очертания ядер с глубокими инвагинациями, то такие клетки должны расцениваться как незрелые.

Более четко незрелые препубертатные сустентоциты выявляются иммуногистохимическими методами по экспрессии в них антимюллера гормона и очень низкой пролиферативной активности (Brehm R., 2006).

При описании межканальцевой ткани следует также оценивать состояние микроциркуляторного русла и соотношение клеток Лейдига, фибробластов, макрофагов. Утолщение интимы и склероз наружной оболочки кровеносных сосудов свидетельствуют об атеросклерозе и могут сочетаться с олигозооспермией. Повреждения и дегенерация интерстициальных эндокриноцитов также часто сопутствуют нарушениям сперматогенеза. В то же время, у больных с необструктивной азооспермией выявлена диффузная или очаговая гиперплазия интерстициальных эндокриноцитов в интерстициальной ткани, которая, по опубликованным ранее данным, является одной из причин нарушения уровня гормонов (Bergmann M., 2006).

1.6. Маркёры иммунофенотипирования структур половых желез в норме и при патологии

Методы выявления антигенов, специфичных различным фазам клеточного цикла в настоящее время являются самыми распространенными. В качестве маркеров пролиферации сперматогенных клеток наиболее часто используются: PCNA, Ki-67, HNP – фосфогистон (Dabbs D.J., 2010).

PCNA. Экспрессия PCNA определяется в фазы G1, S, G2 (G0) клеточного цикла и коррелирует с Ki-67, однако, более точное соответствие с бромдеоксиуридином (маркером S-фазы клеточного цикла) демонстрирует Ki-67 (Gupta G.S., 2006).

Ki-67. Экспрессия Ki-67 наступает во время фазы G1, затем в течение клеточного цикла нарастает и резко уменьшается после митоза. В некоторых экспериментальных иммуногистохимических (ИГХ) исследованиях отмечена положительная экспрессия Ki-67 в ядрах сперматогоний А и В гистологических типов в фазе G1 (Canadian Neighbor Pharmacy, 2014). Экспрессия Ki-67 отсутствовала в лептотенных и зиготенных сперматоцитах, но обнаруживалась в пахитенных сперматоцитах (Wrobel K.H., 1996).

ННР – фосфогистон. Phosphohistone H3 является новым ИГХ-маркером для определения митозов, однако имеется ограниченная информация о его прогностической ценности, в частности, при изучении злокачественных новообразований (Gerring Z. et al., 2015). Количество работ по исследованию активности этого маркера в гистопатологии мужских половых желез крайне малочисленно (Dabbs D.J., 2010).

Рецепторы к андрогенам (AR). При ИГХ исследовании AR было обнаружено, что AR в мужской половой железе расположены исключительно в соматических клетках и их экспрессия выше при синдроме «только клетки Сертоли», чем в нормальном яичке и в половой железе с нарушением сперматогенеза (Loukil L.H., 2005). Наряду с этим было обнаружено, что интенсивность ИГХ реакции существенно различна в биоптатах у различных пациентов.

Inhibin. Ингибин В – гликопротеин, который синтезируется в sustentоцитах извитых семенных канальцев мужчин представляет собой гликопротеин принадлежащий к суперсемейству трансформирующего фактора роста β (TGF- β) (Piadou P.K., 2015). Он также ингибирует синтез фолликулостимулирующего гормона.

Белок Bcl-2, кодирующийся геном Bcl-2 (B-cell lymphoma gene-2) был открыт в 1984 году при изучении хромосомной транслокации t, которая часто встречается при неходжкинских фолликулярных лимфомах (Furuchi T., 2004). Он локализуется во внутриклеточных мембранах, а основная его функция – регуляция апоптоза (The BioGenex Molecular Pathology Catalog, 2014 – 2015). Его открытие и дальнейшее изучение позволило предположить, что нарушение экспрессии этого гена увеличивает продолжительность жизни клеток без влияния на их пролиферацию. Блокада апоптоза под действием Bcl-2 может наступить в любую фазу клеточного цикла (Kasai S., 2003; Furuchi T., 2004), однако механизм, с помощью которого белок блокирует апоптоз, до сих пор не раскрыт. Fas/FasL системы и белки семейства Bcl-2 участвуют в регуляции апоптоза половых клеток (Kasai S., 2003).

При иммуногистохимических реакциях на Bcl-2 было показано, что апоптоз отмечается в первичных сперматоцитах и сперматиде и в единичных сперматогониях (Loveland K.L., 1998; Oldereid N.B., 2001; Kasai S., 2003; Furuchi T., 2004; Haidl G., 2011; Yan W., 2013).

Большое количество исследований сперматогенеза у животных и в меньшей степени у человека, доказывают, что Bcl-2 ингибирует гибель сперматогоний (Sugiyama N., 2001). Однако, достоверных данных об антиапоптотической активности Bcl-2 в половых клетках и в первую очередь в сперматогониях, в современных исследованиях недостаточно.

CD117. Интерстициальные клетки расположенные в мышечной стенке желудочно-кишечного тракта были изучены Рамоном И. Кахалем в желудочно-кишечном тракте (The BioGenex Molecular Pathology Catalog, 2014 – 2015). Подобные клетки были описаны в органах мочевой системы (Michael A., 2003). Было отмечено, что в верхнем отделе мочевой системы эти клетки участвуют в перистальтическом движении гладкомышечных клеток (Strohmeier T., 1995). Позднее было установлено, что подобные клеткам Кахалы клеточные элементы обнаруживаются в мочеточнике и мочевом пузыре (Prabhu S.M., 2006), семявыносящем протоке и мочеточнике у крыс, мочевом

пузыре и предстательной железе морских свинок. У человека они описаны в почечной лоханке, мочеточнике, мочевом пузыре, уретре (Петров С.В., 2012; Exintaris B., 2002; Solari V., 2003; Prabhu S.M., 2006; Piaseczna-Piotrowska A.M., 2011). CD117 положительные клеточные элементы были также обнаружены в интерстиции половых желез у больных карциномой предстательной железы (Rodríguez H., 2008). Особый интерес представляет обнаружение особенностей распределения подобных клеткам Кахаля клеток в половых железах у больных с гипосперматогенезом, синдромом тестикулярной атрофии и синдромом «только клетки Сертоли» (Eray H., 2017). Исследование CD117 положительных клеток в половых железах у больных с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) не проводилось.

1.7. Заключение

Механизмы образования ЧМТ, патоморфология изменений структур головного мозга, клиническое течение травматического процесса достаточно подробно изучены различными авторами. Также проводились исследования о влиянии черепно-мозговой травмы на внутренние органы и ткани организма, в том числе и половые железы. Установлены факты развития половой дисфункции у лиц перенесших ЧМТ. Однако, несмотря на актуальность проблемы влияния ЧМТ на половые железы мужчин, этот вопрос недостаточно изучен. Анализируя литературные данные, можно сделать заключение, что патоморфологические изменения, возникающие в яичках при ЧМТ, нуждаются в уточнении и возможной систематизации. Кроме того мало данных о выраженности морфологических изменений яичек и активности иммуногистохимического маркирования сперматогенных и соматических клеток яичек в различные сроки острого периода ЧМТ.

В связи с вышеизложенным, изучение патоморфологических изменений яичек при ЧМТ позволят в дальнейшем определить направление изучения патогенеза нарушений мужской репродуктивной системы и разработке адекватных подходов лечения, а также проведение возможной профилактики.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе при помощи общепринятых гистологических, морфометрических и иммуногистохимического методов были исследованы 45 мужских половых желез, у умерших в различные сроки от тяжелой черепно-мозговой травмы. Исследуемые наблюдения были отобраны из секционного материала прокуратуры ГБУ РО «Бюро судебно-медицинской экспертизы».

Формирование возрастных групп в работе проведено в соответствии с международной классификации возрастных периодов жизни человека (Милюков В.Е., Жарикова Т.С., 2015). Группу сравнения и контроля составили половые железы мужчин в возрасте от 22 лет до 59 лет, 19 секционных наблюдений практически здоровых мужчин, умерших от черепно-мозговой травмы на месте происшествия и у которых, по данным медицинской документации и морфологического исследования, отсутствовали признаки острых и хронических воспалительных заболеваний, инфекционных заболеваний, эндокринной патологии, хронических интоксикаций, острой алкогольной или наркотической интоксикации, гипертонической болезни, грыжесечения, в анамнезе отсутствовали венерические заболевания, а проявления атеросклероза были минимальными: не превышали 6,25% площади поражения аорты в брюшном отделе (Автандилов Г.Г., 1990).

Кроме того, исследованы половые железы мужчин той же возрастной группы, умерших от разных видов черепно-мозговой травмы тяжелой степени тяжести, в различные временные промежутки после ее получения. Распределение исследованного материала по возрастным периодам и временным промежуткам после получения травмы в таблице 1. Все 26 наблюдений, были тщательно отобраны из 130 летальных случаев, причиной смерти которых, по анамнестическим, клиническим, патоморфологическим (предварительное гистологическое исследование головного мозга и половых желез) или данным СМЭ послужила ЧМТ в различных ее видах тяжелой степени тяжести. Во всех отобранных для работы случаях, по данным медицинской документации

и морфологического исследования, отсутствовали признаки острых и хронических воспалительных заболеваний, инфекционных заболеваний, эндокринной патологии, хронических интоксикаций, острой алкогольной или наркотической интоксикации, гипертонической болезни, грыжесечения, в анамнезе отсутствовали венерические заболевания, а проявления атеросклероза были минимальными: не превышали 6,25% площади поражения аорты в брюшном отделе. Все случаи разделены на четыре группы, группа сравнения и контроля – погибшие на месте происшествия (n - 19) и в зависимости от длительности течения ЧМТ, группа погибших через 1-3 суток после ЧМТ (n - 9), через 6-9 суток после ЧМТ (n - 10) и через 15 суток и более после ЧМТ (n - 7).

Половые железы, извлеченные из окружающих тканей через 5 - 6 часов с момента наступления смерти (но не позднее 10 часов), а для иммуногистохимического исследования - не позднее 3 часов, освобождались от влагиалищной оболочки, придатка и подвергались отдельному взвешиванию. Определение объема (V) половых желез производилось по количеству вытесненной жидкости, путем погружения органов с неповрежденной белочной оболочкой в мерный цилиндр с водой.

Таблица 1 – Групповая характеристика исследованного секционного материала: половые железы

N п./п	Возраст	Количество исследованных случаев				
		Погибшие сразу после получения ЧМТ (контроль)	Погибшие через 1-3 суток после ЧМТ	Погибшие через 6-9 суток после ЧМТ	Погибшие через 15 суток и более после ЧМТ	Всего
1.	22-35 лет	12	6	7	1	26
2.	36-59 лет	7	3	3	6	19
Итого		19	9	10	7	45

После определения объема органа, половые железы рассекались по длинной оси и фиксировались в жидкости Буэна и 10% нейтральном формалине (рН 7,0±0,2). Коэффициент усадки тканей (f_3) при фиксации в жидкости Буэна составил 1,06 и был вычислен, после определения объема фиксированного органа (V_f) по формуле $f_3 = V / V_f$.

После фиксации из половых желез иссекались, параллельно длинной оси органа, тотальные срезы толщиной от 0,4 до 0,5 см. Наряду с этим, при помощи специального ножа из различных отделов органа иссекались кусочки тканей размерами 1×1×0,3 см. Коэффициент усадки тканей (f_{3_1}) при дегидратации и заливке в парафин составил - 1,37 и был вычислен по отношению линейного размера обрабатываемого кусочка ткани (l) до дегидратации к линейному размеру (l_1) после дегидратации и заливки, согласно следующей формуле $f_{3_1} = l / l_1$. Тотальные срезы изготавливались толщиной 10 - 12 мкм, срезы меньшего размера - толщиной 4 мкм.

Для окраски гистологических срезов применялись следующие унифицированные гистологические методы исследования: 1. окраска гематоксилином и эозином; 2. окраска толуидиновым синим; 3. по методу Маллори

Фрагменты ткани половых желез после обезвоживания в гистопроцессоре карусельного типа STP120 (ThermoScientific Microm) заливались в парафин в модульной системе заливки TES-99 (Medite). Гистологические срезы толщиной 4 мкм изготавливались на ротационном микротоме HM340E (Microm), окрашивались гематоксилином и эозином в автомате для окрашивания срезов HMS 70 (ThermoScientific Microm). Гистологические и ИГХ-срезы подвергались анализу на микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss), фотосъемка осуществлялась камерой AxioCam (Zeiss) с последующей обработкой изображений в программе AxioVision, version 4.7 (Zeiss).

Оценка морфологического состояния всех изучаемых компонентов яичка проводилась на основе комплексного стереологического исследования

методом точечного счета, при помощи инструментов программы "ВИДЕОТЕСТ - МОРФОЛОГИЯ 5.0". Линейные измерения производились так же в среде программы "ВИДЕОТЕСТ - МОРФОЛОГИЯ 5.0" (Саяпина И.Ю., Целуйко С.С., Доровских В.А., 2010).

Измерение стереологических параметров проводилось на 3 различных уровнях исследования.

На первом (гистотопографическом) уровне проводили исследование тотальных срезов половых желез. При этом морфометрически оценивали 4 основные структурные компонента, составляющие орган: 1) белочная оболочка; 2) сеть яичка; 3) семенные канальцы 4) интерстициальная соединительная ткань (ИСТ) и определяли объемные фракции этих структурных компонентов.

На втором (тканевом) уровне исследования при общем увеличении оптической системы микроскопа $\times 100$ производилось определение объемных фракций: 1) извитых семенных канальцев; 2) ИСТ.

На третьем (цитологическом) уровне исследования при общем увеличении оптической системы микроскопа $\times 400$ в ИСТ определялись объемные фракции: 1) интерстициальных эндокриноцитов; 2) кровеносных капилляров.

При определении объемных фракций исследуемых структур, необходимое, для получения достоверных данных, количество измерений проводили согласно рекомендациям. Полученные относительные величины объемных фракций переводили в абсолютные по формуле: $V_A = V \times V_v$, где V - объем органа, V_v - объемная фракция изучаемого структурного компонента, принимая во внимание уровень исследования и поправочные коэффициенты f_3 , f_{3_1} , на усадку тканей при фиксации и дегидратации.

На цитологическом уровне исследования, изучению подвергались строго поперечные срезы извитых семенных канальцев (30 канальцев в каждом случае), которые выбирались в случайных полях зрения. В каждом поперечном срезе производилось определение площади поперечного сечения извитых семенных канальцев и определение толщины их стенки.

Проводимые в работе исследования сперматогенеза основаны на современных представлениях о цикличности развития мужских половых клеток. При этом под циклом развития сперматогенной ткани следует понимать полную серию морфологических изменений, наблюдающихся между появлением двух одинаковых сочетаний клеток сперматогенной ткани в одном участке семенного канальца. Часть цикла, характеризующаяся определенным сочетанием сперматогенных клеток и определенным этапом развития сперматид, носит название стадии цикла сперматогенной ткани. Различные типы сперматогенных клеток идентифицировались по месту расположения в той или иной клеточной ассоциации по классификации Y. Clermont (Rupert P. Amann, 2008) и хорошо изученным цитологическим параметрам ядер клеточных элементов: диаметр ядра, характер распределение хроматина и хромосом. В каждом секционном наблюдении определяли «цитологический профиль сперматогенеза», по методу А.Ф. Астраханцева, М.П. Мазуровой, А.В. Федотова, В.Г. Папкина (Патент на изобретение RU 2665162 С1). При морфометрическом исследовании на поперечном срезе извитого семенного канальца или его сегмента производили определение типа каждой из 6 клеточных ассоциаций. В клеточную ассоциацию I типа входят: сперматогонии A_T (темные), A_B (бледные), типа Б, пахитенные сперматоциты, ранние сперматиды C_A и C_D . В ассоциацию II типа входят те же клеточные элементы, что и в ассоциации I типа, но характер расположения поздних сперматид C_D существенно отличен: они располагаются в самых поверхностных отделах эпителио-сперматогенного слоя. В клеточную ассоциацию III типа входят: сперматогонии A_T , A_B , прелептотенные и пахитенные сперматоциты, а также сперматиды B_0 с округлыми ядрами. В клеточную ассоциацию IV типа входят: сперматогонии A_T и A_B , лептотенные и пахитенные сперматоциты, а так же сперматиды B_0 имеющие элонгированные ядра. В клеточную ассоциацию V типа входят: сперматогонии A_T и A_B , лептотенные и пахитенные сперматоциты, а так же поздние сперматиды C_c . В клеточную ассоциацию VI типа входят: сперматогонии A_T A_B , зиготенные сперматоциты, диплотенные сперма-

тоциты, сперматоциты 2 порядка и сперматиды С_С) согласно классификации Y. Clermont. Затем производили определение количества сустентоцитов, входящих в данную ассоциацию. В этом же поперечном срезе извитого семенного канальца или его сегменте производят подсчет каждого типа сперматогенных клеток, входящих в данную ассоциацию. Рассчитывают соотношение каждого типа сперматогенных клеток к сустентоцитам. Полный цитологический профиль сперматогенеза получали в результате накопления результатов для каждой из 6 типов ассоциаций в 5 полях зрения. Результаты оценивали по таким признакам, как: снижение соотношения поздних и ранних сперматид к сустентоцитам (нарушение стадии формирования); снижение соотношения вторичных сперматоцитов к сустентоцитам (нарушение стадии созревания); снижение соотношения различных типов первичных сперматоцитов к сустентоцитам (нарушение стадии роста); снижение соотношения различных типов сперматогоний к сустентоцитам (нарушение стадии размножения).

При исследовании микроциркуляторного русла, использовали параметр «объемной фракции» капилляров в ИСТ, который определяли в 10 случайных полях зрения.

Для ИГХ-исследования использовались 6 коммерческих моно и поликлональных антител фирм Dako (Дания) и Cell Marque (США) (таблица 2).

Таблица 2 – Антитела, использованные для ИГХ реакций

Антитело	Клон	Характер окрасивания	Условия демаскировки	Титр	Фирма производитель
PCNA	EPR3821	ядерное	pH6	1:100	Gene Tex
Ki-67	MIB-1	ядерное	pH6	1:150-1:300	Dako
PhosphohistoneH3	polyclonal	ядерное	pH6	1:300	Cell Marque
AR	AR441	ядерное	pH9	1-60-1:75	Dako
Inhibin L	R1	цитоплазматическое	pH9	RTU	Dako
CD117	polyclonal	Цитоплазматическое /мембранное	pH9	1:400-1:600	Dako

Срезы для ИГХ-исследования изготавливались толщиной 4 мкм, наносились на высокоадгезивные стекла, высушивались в течение 2 ч при

температуре 58°C, затем 18 часов при температуре 37°C. Восстановление антигенной активности проводилось в водяной бане WB-4MS (BioSan) в растворах Target Retrieval Solution pH 9 (Dako) и Target Retrieval Solution pH 6 (Dako). Дальнейшие операции с препаратами проводились во влажной камере Slide Master (BioOptica). Инактивация эндогенной пероксидазной активности осуществлялась с помощью инкубирования с блокирующим раствором (Dako) в течение 15 мин. Проводилась инкубация с первичными антителами при температуре 4-8°C в течение 18 часов. Далее следовала инкубация с вторичными антителами системы детекции REAL EnVision Detection System, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse (Dako) в течение 30 мин при комнатной температуре, с последующей двукратной инкубацией с диаминбензидином в хромогенном растворе в течение 3 мин при комнатной температуре. После каждого этапа обработки антителами срезы промывались в фосфатном солевом буфере (Cell Marque). На последнем этапе препараты докрашивали гематоксилином Майера (Dako) и заключали в синтетическую смолу (Shandon-Mount). Для каждого маркера выполнялись контрольные исследования, для исключения псевдопозитивных и псевдонегативных результатов. В качестве внутреннего контроля для маркеров PCNA, Ki67 и PNH3 использовали гистологический срез миндалина. Для AR – в качестве контроля использовали тканевой срез предстательной железы. Для Inhibin – в качестве контроля использовали срез яичка без патологических изменений. Для контроля маркера CD117 использовалась интенсивность окрашивания тканевых базофилов, в исследуемом гистологическом срезе. Интенсивность экспрессии маркеров оценивали качественно: слабое окрашивание, умеренное окрашивание и выраженное окрашивание.

Все числовые данные в настоящем исследовании обработаны методами альтернативной и вариационной статистики при помощи «Statistica 9.0» с соблюдением рекомендаций биологических и медицинских исследований на персональном компьютере. Перед статистической обработкой проводилась проверка вариационных рядов на нормальность распределения при помощи

критерия Колмогорова-Смирнова. Рассчитывались следующие показатели: M - средняя арифметическая, m - средняя квадратическая ошибка. Достоверность различий (t) сравниваемых величин вычислялась по формуле: $t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{m_1^2 + m_2^2}{n}}}$ с последующим применением показателя вероятности (P) (по таблице Фишера-Стьюдента). Корреляционная связь между показателями, определялась методом критерия корреляции Пирсона: коэффициент корреляции - r . Ошибка коэффициента корреляции (mr) вычислялась по формуле: $mr_{xy} = \frac{\sqrt{1-r^2}}{n-2}$. Оценка достоверности коэффициента корреляции (t) вычислялась по формуле: $t = \frac{r}{mr}$ с последующим применением показателя вероятности (P) (по таблице Фишера - Стьюдента). Силу корреляционной связи определяли по шкале Чеддока, от 0 до 0,3 – очень слабая, от 0,3 до 0,5 – слабая, от 0,5 до 0,7 – средняя, от 0,7 до 0,9 – высокая, от 0,9 до 1 – очень высокая (Гланц С., 1999).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ на месте происшествия

Материалом для этого раздела послужило гистологическое, морфометрическое и ИГХ исследование яичек от 19 практически здоровых лиц, в возрасте от 22 до 59 лет, погибших мгновенно от ЧМТ на месте происшествия (группа сравнения и контроля).

Причиной смерти во всех вышеуказанных случаях, явилась ЧМТ в различных ее видах. В 11 случаях была представлена закрытой, непроникающей черепно-мозговой травмой в виде: повреждений мягких тканей головы, линейных переломов костей свода и основания черепа, кровоизлияний под оболочки головного мозга и в желудочки мозга, множественными очагами ушиба и размозжения ткани головного мозга. В 6 случаях была представлена открытой, проникающей черепно-мозговой травмой в виде: значительных повреждений мягких тканей головы, многооскольчатыми переломами костей черепа, множественными очагами ушиба и размозжения ткани головного мозга. В 2 случаях была представлена огнестрельным ранением головы со значительным разрушением мягких тканей и костей головы и частичной утратой вещества головного мозга. При химико-токсикологическом исследовании крови и мочи погибших, этанол и его суррогаты, наркотические и психотропные вещества не обнаружены.

При макроскопическом исследовании яички имеют эластичную консистенцию; покрыты тонкой бледно-голубого цвета белочной оболочкой. Паренхима железы на разрезе имеет желтовато-розовый цвет. В области средостения обнаруживаются тяжистые прослойки соединительной ткани.

Масса яичек имеет некоторые индивидуальные колебания, составляет в среднем $45,37 \pm 3,02$ г (таблица 2 приложения). Морфометрическое изучение тотальных срезов яичек позволяет на гистотопографическом уровне выде-

лить три основных структурных компонента составляющих орган: белочную оболочку, сеть железы и компонент «канальцы + строма».

Белочная оболочка

У здоровых лиц белочная оболочка тонкая, покрыта мезотелием, содержит значительное количество фибробластов, гистиоцитов, тучных клеток. Во внутреннем слое отдельных полей зрения определяются единичные glandулоциты. Волокнистые структуры (коллагеновые, эластические волокна) тонкие, располагаются более рыхло во внутреннем слое и более компактно в наружном слое оболочки. Абсолютный объем белочной оболочки составляет в среднем $2,41 \pm 0,17 \text{ см}^3$ (таблица 2 приложения).

Сеть половой железы

Канальцы сети яичка имеют довольно широкий просвет, в котором определяются поздние сперматиды типа Д (С_д). Внутренняя стенка канальцев сети представлена sustentоцитами цилиндрической формы. Ядра sustentоцитов как правило овальной формы и своей длинной осью ориентированы перпендикулярно базальной мембране. Цитоплазма sustentоцитов сети бледная, содержит мелкую зернистость, а также немногочисленные вакуоли. Соединительная ткань сети половой железы содержит фибробласты, единичные тучные клетки, а также коллагеновые и эластические волокна. Абсолютный объем сети в контрольной группе составляет в среднем $1,47 \pm 0,07 \text{ см}^3$ (таблица 2 приложения). В нескольких случаях отмечалось некоторое уменьшение высоты sustentоцитов, а также накопление в их цитоплазме липофусцина. А в соединительной ткани сети некоторое увеличение числа более толстых коллагеновых волокон.

Извитые семенные канальцы

Стенка извитых семенных канальцев в группе сравнения и контроля содержит преимущественно тонкие коллагеновые волокна, эластические и ретикулиновые волокна, между которыми располагаются миоидные клеточные элементы. В некоторых наблюдениях, отмечается уменьшение толщины стенки канальца, за счет уплотнения грубых коллагеновых волокон. Средняя

толщина стенки канальцев составляет $8,88 \pm 0,14$ мкм. Абсолютный объем параметра канальцев, в группе сравнения и контроля составляет в среднем $22,18 \pm 1,55$ см³ (таблица 2 приложения). Не происходит также существенных изменений и площади поперечного сечения канальцев (таблица 2 приложения). Как это уже было отмечено ранее, ЭС слой яичек состоит из 6 типичных клеточных ассоциаций. Анализируя ЭС слой извитых семенных канальцев необходимо отметить, что гомогенные клеточные ассоциации встречаются у человека редко, чаще обнаруживаются т.н. гетерогенные ассоциации, т.е. на поперечном срезе семенного канальца обнаруживаются сразу 2 или даже 3 различных ассоциации, границы между которыми иногда хорошо различимы, а иногда обнаруживаются с трудом.

Клеточная ассоциация I типа состоит из: сперматогоний типа А-темные (А_Т), А-бледные (А_Б), сперматогонии типа Б (Б), пахитенных сперматоцитов (Пах_{СПТЦ}), а также ранних сперматид типа (С_А) и поздних сперматид типа Д (С_Д) (рисунок 1).

Сперматогонии А_Т располагаются в самых глубоких отделах ЭС слоя – на базальной мембране канальца. Они имеют округлое или овальное ядро, имеющее в диаметре около 6 мкм, которое содержит сильно окрашенный пылевидный хроматин. В центре ядра имеется вакуолеподобная полость, содержащая бледный сероватый материал. Некоторые вакуолеподобные полости видны вблизи кариолеммы. Часто можно наблюдать расположение сперматогоний типа А_Т в виде цепочки клеток вдоль базальной мембраны канальца.

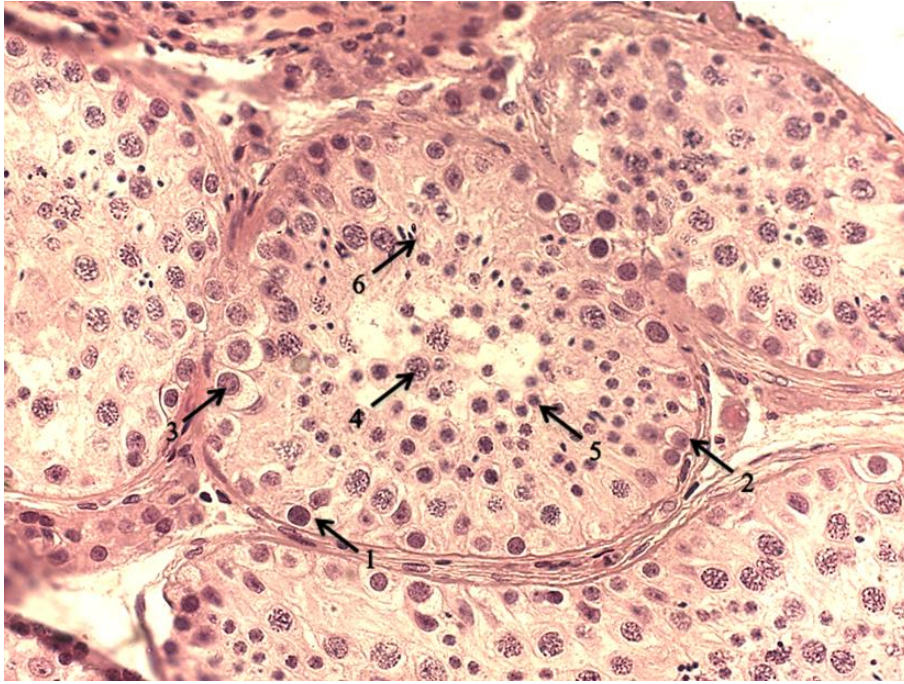


Рисунок 1 – Клеточная ассоциация I типа. 1- сперматогония A_T , 2- сперматогония A_B , 3-сперматогония Б, 4-пахитенный сперматоцит, 5-сперматида типа А, 6-сперматиды типа Д. Возраст 25 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Взвешенная средняя соотношения сперматогоний A_T к sustentоцитам в I типе клеточной ассоциации в группе в группе сравнения и контроля составляет $0,22 \pm 0,02$ (таблица 7 приложения). Сперматогонии A_B – также располагаются на базальной мембране канальца цепочкой парами или строго изолированно от всех остальных типов сперматогенных клеток. В ядрах сперматогоний этого типа, имеющих в диаметре $6,8 \text{ мкм}$, содержится бледный слабо окрашивающийся хроматин в виде мелких гранул и одно или несколько ядрышек, локализующихся вблизи кариолеммы. Взвешенная средняя соотношения сперматогоний A_B к sustentоцитам в I типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $0,55 \pm 0,09$ (таблица 7 приложения). Сперматогонии типа Б также располагаются на базальной мембране канальцев. В округлых ядрах сперматогоний типа Б, имеющих в диаметре 7 мкм , обнаруживается хроматин в виде мелких глыбок, равномерно распределенных по объему ядра. Наряду с этим в ядре видны довольно крупные глыбки хроматина, образующие хроматиновые массы, которые часто можно видеть

вблизи кариолеммы. Ядрышко локализуется, как правило, в центре ядра. Взвешенная средняя соотношения сперматогоний Б к сустентоцитам в I типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $0,39 \pm 0,03$ (таблица 7 приложения). Пахитенные сперматоциты относятся к сперматоцитам I порядка. Они имеют довольно крупное, округлое ядро, в котором определяются сильно спирализованные, утолщенные хромосомы, равномерно распределенные по всему объему ядра. Ядро окружено ободком эозинфильной цитоплазмы. Взвешенная средняя соотношения Пах_{СПТЦ} к сустентоцитам в I типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $1,43 \pm 0,12$ (таблица 7 приложения). Сперматиды типа С_А являются самыми ранними сперматидами. Они располагаются в поверхностном отделе ЭС слоя. Сперматиды этого типа имеют округлое, сферическое довольно крупное (по сравнению с другими сперматидами) ядро со слабо окрашивающимся мелко гранулированным хроматином. Ядро располагается в центре клетки и окружено довольно широким ободком цитоплазмы. Взвешенная средняя соотношения сперматид типа С_А к сустентоцитам в I типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $2,23 \pm 0,32$ (таблица 7 приложения).

Сперматиды типа С_Д в клеточной ассоциации I типа располагаются в ЭС слое, как бы «вклиниваясь» в углубления цитоплазмы сустентоцитов. Они имеют ядро грушевидной формы (в фронтальной плоскости ядро имеет вид лопаточки), которое в переднем отделе более интенсивно окрашивается гематоксилином. Хроматин в ядре сильно конденсирован. В супрануклеарной зоне располагается довольно крупная акросомическая вакуоль. Хвостовой отдел сперматиды тонкий, вполне сформирован. По периферии ядра располагается довольно хорошо различимая, сильно окрашивающаяся резидуальная цитоплазма, которая утрачивается к концу сперматогенеза. Взвешенная средняя соотношения сперматид типа С_Д к сустентоцитам в I типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $2,17 \pm 0,18$ (таблица 7 приложения).

Клеточная ассоциация II типа также состоит из сперматогоний типа А-темные (A_T), А-бледные (A_B), сперматогонии типа Б (B), пахитенных сперматоцитов ($Пах_{СПТЦ}$), ранних сперматид типа (C_A), а также поздних сперматид типа Д (C_D). Основное отличие от клеточной ассоциации I типа заключается в том, что поздние C_D располагаются в самых поверхностных отделах ЭС слоя (рисунок 2) формируя характерный поясок, в котором видны т.н. резидуальные тельца.

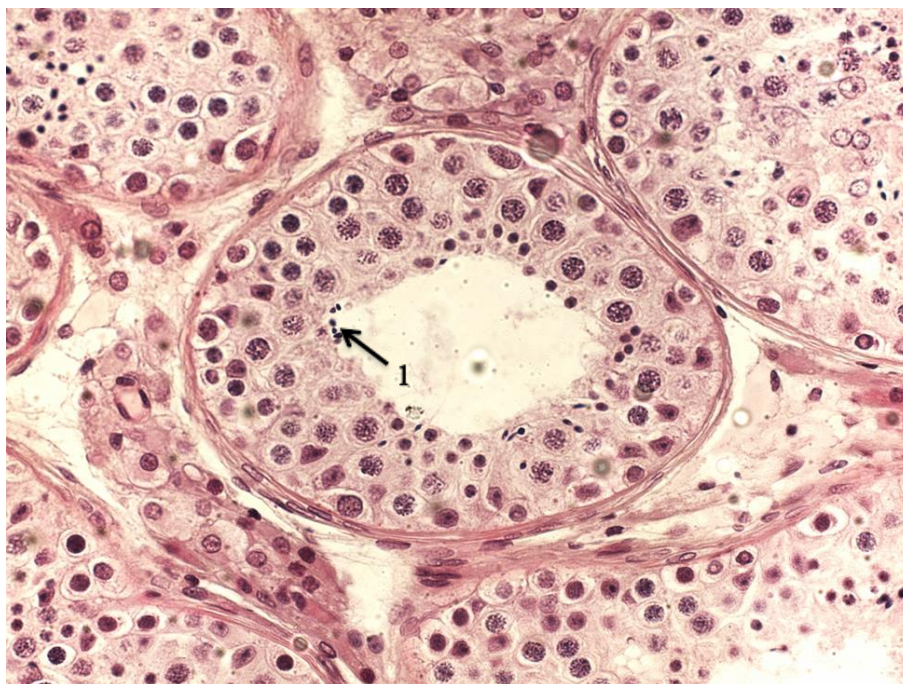


Рисунок 2 – Клеточная ассоциация II типа. 1. Поверхностное расположение поздних сперматид типа C_D . Возраст 25 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Взвешенные средние соотношения вышеуказанных клеточных элементов к sustentоцитам в клеточной ассоциации II типа практически не отличаются от аналогичных показателей клеточной ассоциации I типа (таблица 7 приложения).

Клеточная ассоциация III типа состоит из: сперматогоний типа А-темные (A_T), А-бледные (A_B), $Пах_{СПТЦ}$, прелептотенных ($Прел_{СПТЦ}$) сперматоцитов, а также ранних сперматид типа (B_O), имеющих округлые ядра (Рисунок 3). $Прел_{СПТЦ}$ располагаются в глубоких отделах ЭС слоя между $Пах_{СПТЦ}$ с одной стороны и сперматогониями – с другой. В округлых ядрах $Прел_{СПТЦ}$,

имеющих в диаметре 6 мкм, определяется хорошо окрашивающиеся глыбки хроматина, равномерно распределяющиеся по всему объему ядра. Сперматиды типа B_0 , входящие в ассоциацию этого типа имеют сферические бледно окрашенные ядра. Взвешенная средняя соотношения Прел_{СППЦ} к sustentоцитам в III типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $0,36 \pm 0,02$ (таблица 7 приложения).

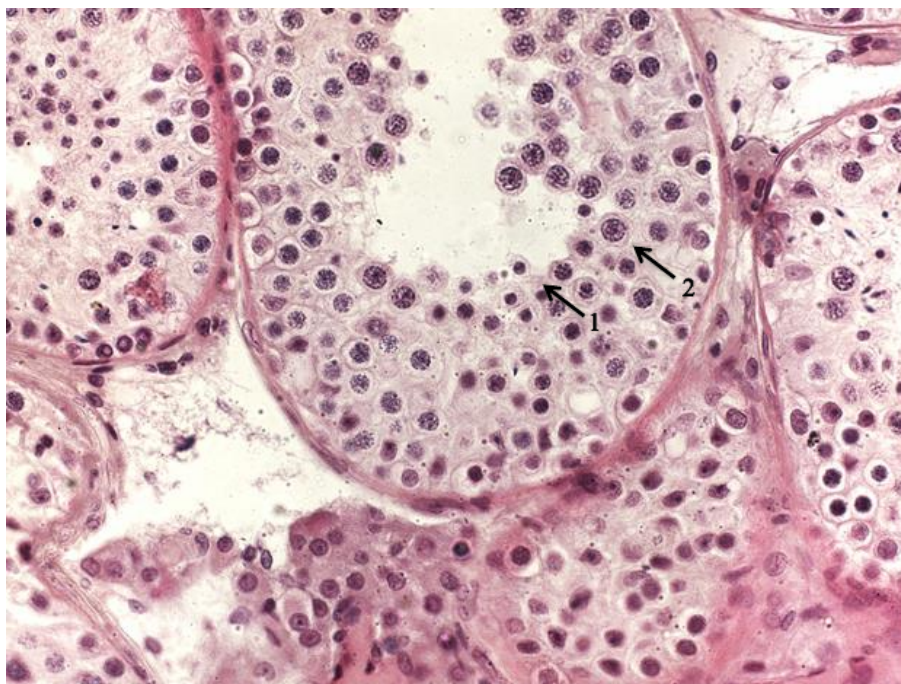


Рисунок 3 – Клеточная ассоциация III типа. 1. Поверхностное расположение сперматид типа B_0 с округлыми ядрами. 2. Прел_{СППЦ}. Возраст 25 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Клеточная ассоциация IV типа состоит из: сперматогоний типа А-темные (A_T), А-бледные (A_B), Пах_{СППЦ}, лептотенных сперматоцитов (Лепт_{СППЦ}), а также ранних сперматид типа (B_0), имеющих овальные ядра (рисунок 4).

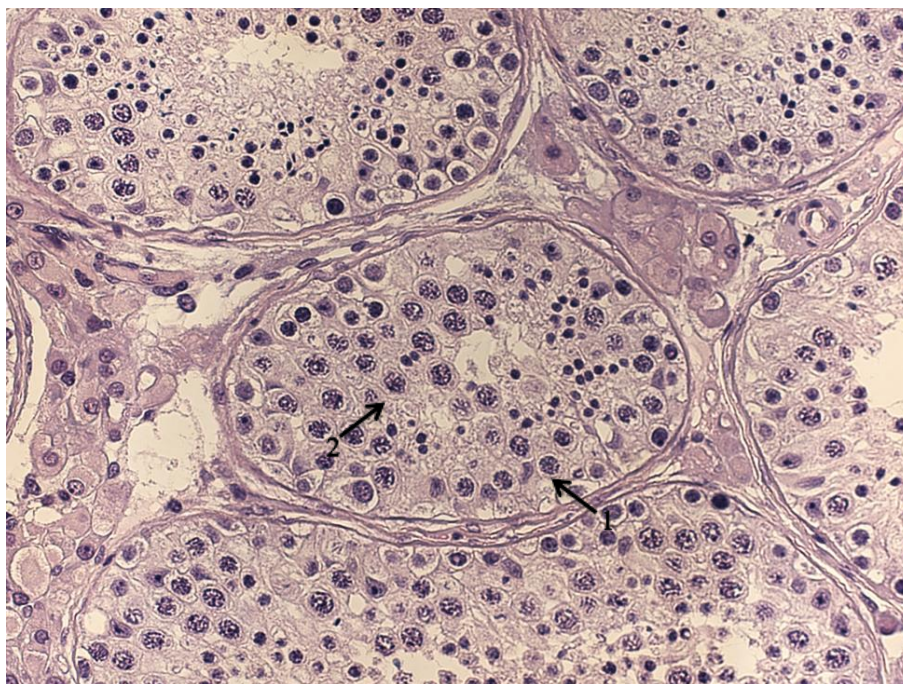


Рисунок 4 – Клеточная ассоциация IV типа. 1. Лепт_{СПТЦ}. 2. Поверхностное расположение сперматид типа B₀ с овальными ядрами. Возраст 25 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение × 400

Лепт_{СПТЦ} располагаются в ЭС слое между Пах_{СПТЦ} с одной стороны и сперматогониями с другой. В ядрах Лепт_{СПТЦ} обнаруживаются тонкие нежные нити хроматина, которые формируют структуру напоминающую букет. Нередко можно видеть хромосомные нити, образующие вблизи кариолеммы петлеобразные структуры. Сперматиды типа B₀, входящие в ассоциацию этого типа имеют удлиненное ядро с мелкогранулированным хроматином, которое окрашивается более интенсивно, по сравнению с более ранними сперматидами типа А. Взвешенная средняя соотношения Лепт_{СПТЦ} к sustentоцитам в IV типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $0,45 \pm 0,06$ (таблица 7 приложения).

Клеточная ассоциация V типа состоит из: сперматогоний типа А-темные (А_Т), А-бледные (А_Б), Пах_{СПТЦ}, Лепт_{СПТЦ}, а также сперматид типа С_С (рисунок 5).

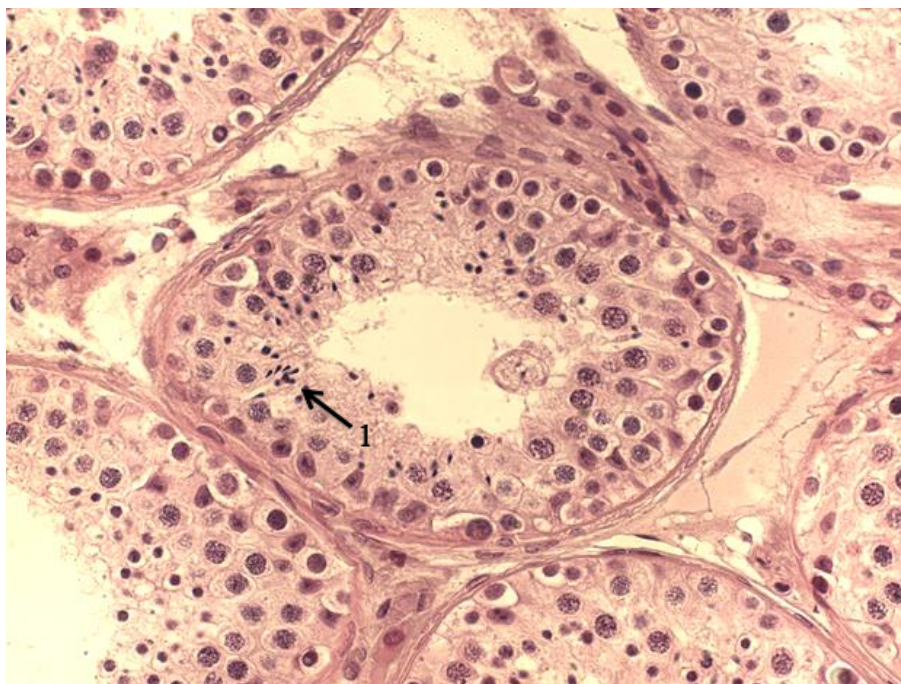


Рисунок 5 – Клеточная ассоциация V типа (гомогенная). 1. Сперматиды типа С_С в глубине ЭС слоя. Возраст 25 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение × 400

Сперматиды типа С_С, входящие в ассоциацию этого типа глубоко внедрены в ЭС слой. Они имеют удлиненное каплеобразное ядро с менее конденсированными (по сравнению с сперматидами типа Д) глыбками хроматина. Заостренный каудальный отдел сперматид С_С ориентирован к просвету канальца, краниальный закругленный – обращен к базальной мембране. В супрануклеарной зоне располагается небольшая акросомическая вакуоль. Хвостовой отдел в стадии формирования. Взвешенная средняя соотношения С_С к sustentоцитам в V типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $3,3 \pm 0,33$ (таблица 7 приложения).

Клеточная ассоциация VI типа состоит из: сперматогоний типа А_Т, А_Б, зиготенных сперматоцитов (Зиг_{СПЦ}), диплотенных сперматоцитов (Дипл_{СПЦ}), сперматоцитов II порядка (СпII), фигур митотического деления, а также сперматид С_С (рисунок 6).

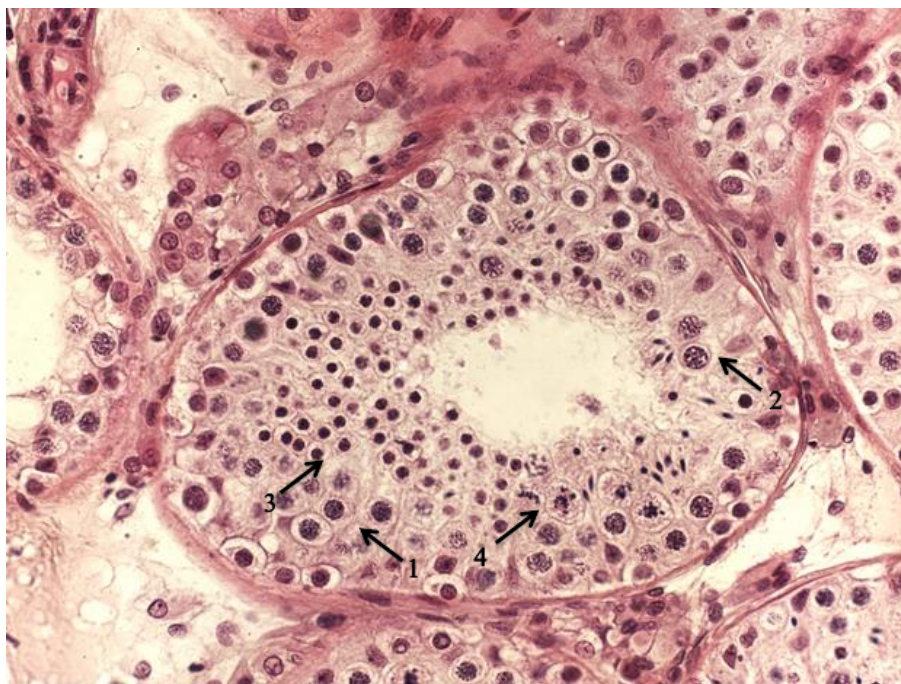


Рисунок 6 – Клеточная ассоциация VI типа. 1. Зиготенные сперматоциты (ЗигСПТЦ), 2. Диплотенные сперматоциты (ДиплСПТЦ), 3. Сперматоциты II порядка (СпII), 4. Фигуры митотического деления. Возраст 25 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

ЗигСПТЦ располагаются в глубоких слоях ЭС слоя между СпII и ДиплСПТЦ с одной стороны и сперматогониями с другой. В ядрах ЗигСПТЦ определяются довольно грубые нити хромосом, которые плотно прилегают друг к другу боковыми поверхностями или даже взаимно перекручиваются. По периферии ядра ЗигСПТЦ обнаруживается эозинофильная цитоплазма. Взвешенная средняя соотношения ЗигСПТЦ к sustentоцитам в VI типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $0,55 \pm 0,05$ (таблица 7 приложения).

ДиплСПТЦ самые крупные среди зародышевых клеток. Ядра ДиплСПТЦ хорошо дифференцируются вследствие того, что хромосомы к концу периода роста в первичных сперматоцитах становятся самыми короткими, толстыми, интенсивно окрашивающимися и продольно расщепляются в бивалентах, образуя тетрады. В конечном итоге это придает ДиплСПТЦ весьма характерный вид. Взвешенная средняя соотношения ДиплСПТЦ к sustentоцитам в VI типе

клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $1,19 \pm 0,16$ (таблица 7 приложения).

СпII в ЭС слое располагаются между Зиг_{СППЦ} с одной стороны и С_С с другой. Они имеют округлое ядро, которое в интерфазе содержит гомогенные, бледно окрашивающиеся массы хроматина, и широкий ободок слабо базофильной цитоплазмы. Взвешенная средняя соотношения СпII к сустентоцитам в VI типе клеточной ассоциации в группе сравнения и контроля составляет $1,16 \pm 0,28$ (таблица 7 приложения).

Важным составляющим клеточным компонентом ЭС слоя являются опорно-трофические структуры – сустентоциты. Эти клеточные элементы имеют форму близкую к треугольной и соединяются между собой отростками. Ядра угловатой формы, расположены в расширенной нижней части цитоплазмы, прилежащей к базальной мембране. Заостренные апикальные отделы клеток вытянуты в просвет извитых канальцев. На гистологических препаратах границы сустентоцитов определяются с большим трудом вследствие многочисленных зародышевых клеток, которые маскируют цитоплазму сустентоцитов и зоны соединения этих клеточных элементов между собой. Взвешенная средняя числа сустентоцитов на поперечный срез канальца составляет $16,6 \pm 0,65$, является довольно стабильным показателем во всех типах клеточных ассоциаций группы сравнения и контроля.

Межканальцевая ИСТ

Межканальцевая ИСТ, составляющая строму яичек содержит разнообразные соединительнотканые клеточные элементы, характерные для рыхлой неоформленной соединительной ткани. Тонкие, нежные коллагеновые волокна хорошо выражены в междольковых прослойках соединительной ткани, где они располагаются более компактно и упорядочено. Между извитыми канальцами волокнистых структур значительно меньше и располагаются они более рыхло. Взвешенная средняя абсолютного объема межканальцевой ИСТ яичек в группе сравнения и контроля составляет $19,3 \pm 1,26 \text{ см}^3$ (таблица 2 приложения). Особенностью клеточного состава ИСТ мужских половых же-

лез является наличие в ней интерстициальных эндокриноцитов, обладающих андрогенпродуцирующей способностью. Эти клетки в строме яичек группы контроля располагаются по периферии кровеносных капилляров или изолированно. Они имеют округлую, овальную или полигональную форму, обильную эозинофильную цитоплазму. Ядро округлой формы с мелкими глыбками хроматина. Взвешенная средняя абсолютного объема ИЭ межканальцевой ИСТ яичек в группе сравнения и контроля составляет $2,19 \pm 0,14 \text{ см}^3$ (таблица 2 приложения).

Иммуногистохимическое исследование

ИГХ исследование с антителами к PCNA в группе сравнения и контроля, обнаруживает положительное окрашивание в ядрах большинства сперматогоний, прелептотенных, лептотенных, зиготенных, пахитенных, диплотенных сперматоцитов, а также в части сперматоцитов второго порядка (рисунок 7). Окрашивание отсутствует в сперматидах.

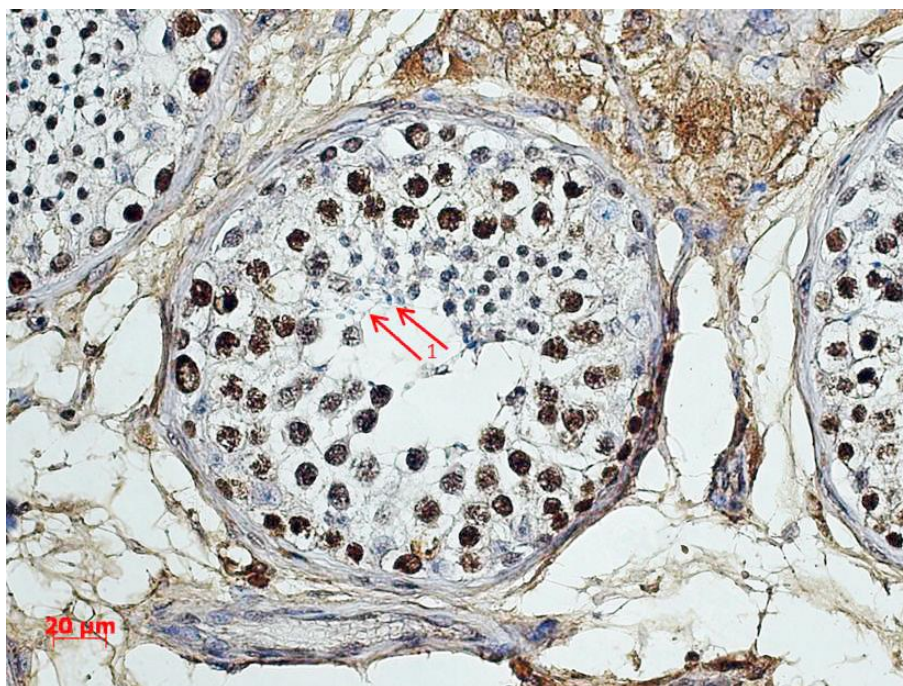


Рисунок 7 – ИГХ реакция с антителами к PCNA. Окрашивание ядер сперматогенных клеток всех типов за исключением сперматид. 1 - Неокрашенные сперматиды. Возраст 25 лет. Увеличение $\times 400$

ИГХ исследование с антителами к Ki-67 в группе контроле выявляет положительное окрашивание в сперматогониях всех трех типов: А_Т, А_Б, Б, свидетельствующее о митотической активности преимущественно на 2,3 и 5 стадиях цикла (рисунок 8). В клеточной ассоциации V типа окрашенные в коричневый цвет сперматогонии демонстрируют свое вступление в митотический цикл. Они немногочисленны и равномерно распределены по базальной мембране канальца.

РНК3 экспрессируется в делящихся сперматогониях, сперматоцитах второго порядка, что особенно отчетливо различимо в клеточной ассоциации 6 типа (рисунок 9).

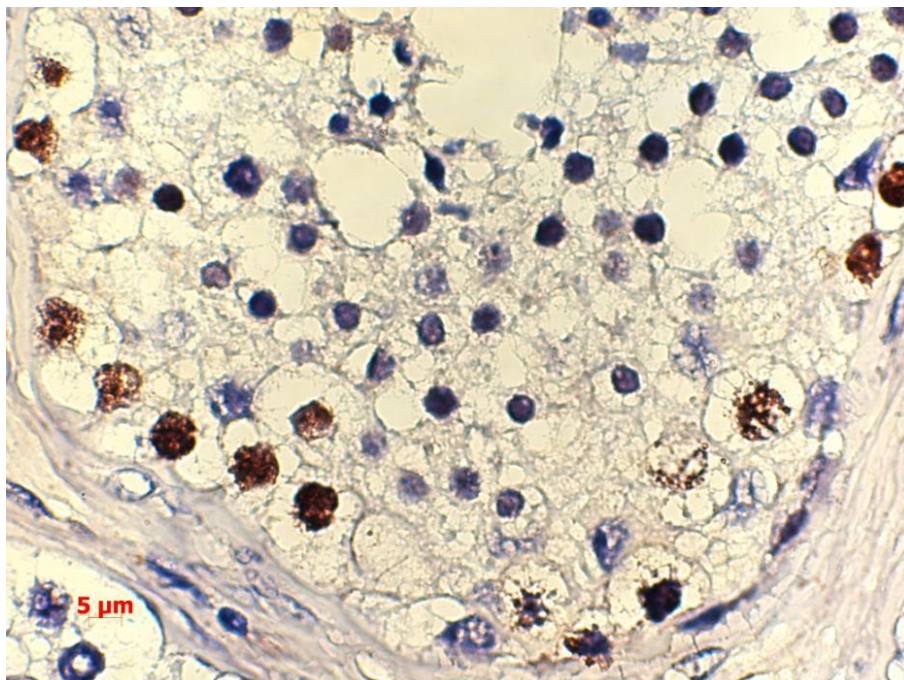


Рисунок 8 – ИГХ реакция с антителами к Ki-67. Окрашивание ядер сперматогоний в клеточной ассоциации III типа. Возраст 25 лет. Увеличение $\times 1000$

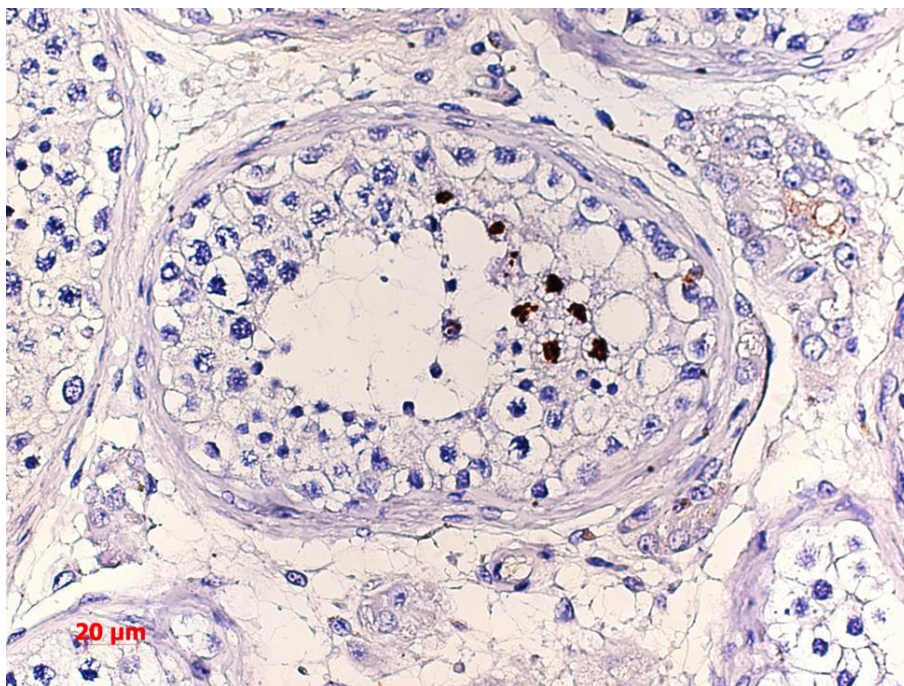


Рисунок 9 – ИГХ реакция с антителами к РННЗ. Окрашивание митотически делящихся клеток в мейозе, клеточной ассоциации VI типа. Возраст 25 лет. Увеличение $\times 400$

Экспрессия AR обнаруживается в цитоплазме интерстициальных эндокриноцитов в виде пылевидной зернистости, а также в ядрах sustentоцитов ЭС слоя (рисунок 10), и отсутствует в ядрах сперматогенных клеток.

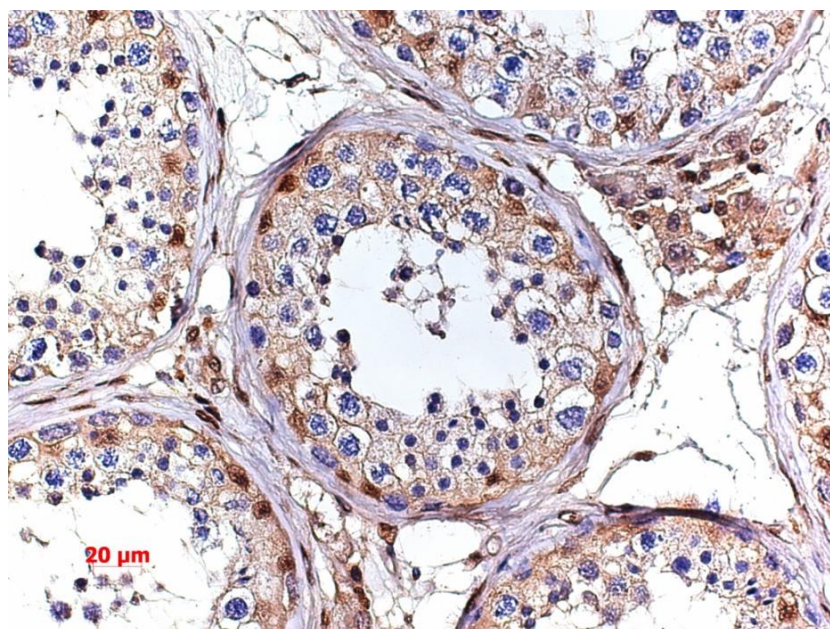


Рисунок 10 – ИГХ реакция с антителами AR. Положительная реакция в ядрах sustentоцитов в клеточной ассоциации IV типа. Возраст 25 лет. Увеличение $\times 400$

Наиболее выраженная экспрессия ингибина определяется в цитоплазме интерстициальных эндокриноцитов. Слабая экспрессия ингибина определяется в цитоплазме единичных sustentоцитов и отсутствует в сперматогенных клетках.

При исследовании экспрессии CD117, окрашенные клетки в яичках, лиц погибших в результате ЧМТ на месте происшествия, обнаруживались как в эпителио-сперматогенном слое извитых семенных канальцев, в их стенке, так и в интерстиции. В эпителио-сперматогенном слое среди сперматогоний были выявлены группы клеток с положительным мембранным окрашиванием. Окрашивание отмечалось в сперматогониях А_Т и А_Б (рисунок 11).



Рисунок 11 – ИГХ реакция с антителами к CD117. ЭС слой в извитых семенных канальцах мужчины 25 лет. Очаговая мембранная экспрессия CD 117 в сперматогониях А_Т (1) и А_Б (2) и в ИСТ (3). Увеличение × 400

3.2. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ через 1-3 суток

Материалом для этого раздела послужило гистологическое, морфометрическое и ИГХ исследование яичек от 9 практически здоровых лиц, в возрасте от 18 до 50 лет, погибших в стационаре через 1-3 суток после ЧМТ. Среднее значение возраста в данной группе составляло $34,6 \pm 3,4$ года.

Сроки госпитализации, перед наступлением смерти от ЧМТ в вышеуказанных случаях составляли: 3 случая – 1 сутки, 3 случая – 2 суток, 3 случая – 3 суток. Во всех случаях лечение пострадавших проводилось в соответствии со стандартами специализированной медицинской помощи при внутричерепной травме. Повреждения головного мозга в перечисленных случаях были представлены: в 2 случаях - ушибами головного мозга в лобных долях и правой височной доле, субарахноидальными кровоизлияниями в проекции указанных долей, субдуральными гематомами справа объемами 110 мл и 150 мл; в 3 случаях – линейными переломами костей свода и основания черепа, ушибами головного мозга в затылочной доле, диффузными, пластинчатыми субарахноидальными кровоизлияниями, теменно-затылочными субдуральными гематомами объемами от 100 мл до 130 мл; в 1 случае – ушибом головного мозга в левой височной и левой теменной долях, левосторонними, пластинчатыми субарахноидальными кровоизлияниями, левосторонней субдуральной гематомой объемом 70 мл; в 3 случаях - ушибами головного мозга в лобных долях, субарахноидальными кровоизлияниями в проекции лобных долей, правосторонними субдуральными гематомами объемами от 50 мл до 130 мл. Во всех указанных случаях, область турецкого седла была интактной. При химико-токсикологическом исследовании крови и мочи погибших, этанол и его суррогаты, наркотические и психотропные вещества не обнаружены.

При макроскопическом исследовании, яички несколько дрябловатой консистенции; покрыты тонкой бледно-серого цвета белочной оболочкой. Паренхима яичек на разрезе желтовато-розового цвета. Масса яичек, у лиц

погибших через 1-3 суток после ЧМТ, достоверно снижена на 18% в сравнении с данным показателем группы контроля и составляет $37,07 \pm 2,84$ г (таблица 2 приложения).

Белочная оболочка

Белочная оболочка разрыхлена, отечна. Количество клеточных элементов: фибробластов, гистиоцитов и тучных клеток в ней незначительно увеличено. Коллагеновые волокна разрыхлены, граница между внутренним и наружным слоями плохо различима. Абсолютный объем белочной оболочки у мужчин данной группы, составляет в среднем $3,76 \pm 0,45$ см³ (таблица 2 приложения) и на 56% больше аналогичного показателя группы сравнения и контроля.

Сеть половой железы

Канальцы сети яичек несколько расширены по сравнению с контролем. В просвете множественные сперматогенные клетки: поздние сперматиды С_д, ранние сперматиды, сперматоциты. В отдельных полях зрения эти клеточные элементы располагаются в виде пластов. Суспендоциты канальцев сети преимущественно цилиндрические, однако, некоторые из них кубической формы и имеют овальные ядра. Цитоплазма суспендоцитов бледная, с мелкими включениями липофусцина. Количество вакуолей в ней увеличено. Фибробласты соединительной ткани набухшие, коллагеновые волокна значительно утолщены, разволокнены, расслоены. Абсолютный объем сети составляет $2,96 \pm 0,39$ см³ (таблица 2 приложения), что на 50,3% превышает показатели абсолютного объема сети контрольной группы. Выявленное, резкое увеличение абсолютного объема сети яичек, по-видимому, связанное с увеличением в их просвете числа различных типов сперматогенных клеток, вызванное процессом десквамации участков ЭС слоя и может являться реакцией на травматический стресс.

Извитые семенные канальцы

Просвет извитых семенных канальцев незначительно расширен. Клеточные и волокнистые структуры стенки извитых семенных канальцев, ком-

пактны. Средняя толщина стенки канальцев у лиц, погибших от ЧМТ через 1-3 суток, составляет $8,3 \pm 0,19$ мкм и достоверно меньше на 7%, аналогичного показателя контрольной группы лиц (таблица 2 приложения). При этом, площадь поперечного сечения канальцев, в данной группе составляет $43,12 \pm 1,67$ мкм² и на 12% больше этого показателя контрольной группы (таблица 2 приложения). Обнаруженные изменения вероятно являются следствием нарушений сократительной способности и тонуса гладкомышечных элементов стенки канальцев, обеспечивающих перистальтику т.н. «волну сперматогенеза», направленную из периферических отделов органа к зоне средостения.

Абсолютный объем канальцев, в данной группе составляет $16,81 \pm 1,12$ см³ и достоверно снижен на 24% относительно аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения), что может быть связано с уменьшением клеточного состава ЭС слоя в связи с процессами деквамации его поверхностных слоев.

При исследовании «цитологического профиля сперматогенеза» в клеточных ассоциациях всех шести типов, выявлены достоверные количественные изменения их клеточного состава.

Клеточная ассоциация I типа. Взвешенные средние соотношения A_T , A_B к sustentоцитам в данной группе составляют соответственно $0,18 \pm 0,02$ а также $0,52 \pm 0,02$ и достоверно не отличаются от аналогичных показателей группы сравнения и контроля (таблица 8 приложения). Сперматогонии типа Б располагаются на базальной мембране, изолированно друг от друга. Количество сперматогоний типа Б, составляет $4,45 \pm 0,33$, что достоверно меньше на 38% количества сперматогоний типа Б в контрольной группе (рисунок 12).

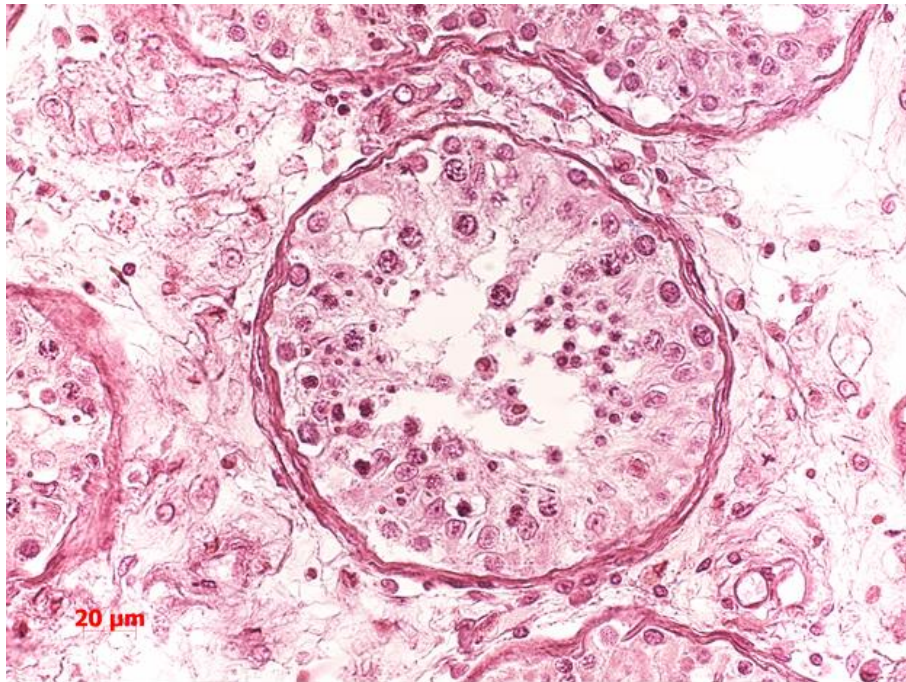


Рисунок 12 – Клеточная ассоциация I типа, снижение количества сперматогоний Б и сперматид С_А. Возраст 38 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение × 400

Соотношение сперматогоний типа Б к sustentоцитам, также достоверно снижено на 37% и составляет $0,25 \pm 0,01$ относительно данного показателя контрольной группы (таблица 8 приложения). Выявленные количественные изменения, могут быть следствием торможения дифференцировки сперматогоний А_Б в сперматогонии типа Б.

Пахитенные сперматоциты в ЭС слое располагаются небольшими группами. Взвешенное среднее соотношения пахитенных сперматоцитов к sustentоцитам составляет $1,15 \pm 0,16$ и достоверно не отличается от аналогичного показателя контрольной группы (таблица 8 приложения).

Сперматиды типа С_А располагаются в верхних отделах ЭС слоя, некоторые из них десквамированы в просвет канальца (рисунок 12). Взвешенное среднее соотношения сперматид С_А к sustentоцитам в группе лиц погибших от ЧМТ через 1-3 суток, составляет $1,28 \pm 0,21$ и достоверно уменьшено на 43% по сравнению с показателем контрольной группы (таблица 8 приложения).

Сперматиды типа C_d располагаются в ЭС слое в углублениях цитоплазмы сустентоцитов. Взвешенное среднее соотношения сперматид C_d к сустентоцитам составляет $1,74 \pm 0,19$ и достоверно не отличается от данного показателя контрольной группы (таблица 8 приложения).

Клеточная ассоциация II типа. В данной клеточной ассоциации отмечено снижение количества сперматогоний A_T . Взвешенное среднее соотношение A_T к сустентоцитам составляет $0,18 \pm 0,01$, что на 30% ниже значения этого показателя контрольной группы. Данное снижение может являться результатом активации процессов дифференцировки сперматогоний A_T в сперматогонии A_B , направленной на поддержание популяции последних. Вероятно, именно этим можно объяснить незначительное повышение взвешенного среднего соотношения A_B к сустентоцитам, которое составляет в данной группе $0,64 \pm 0,04$ и на 15% больше аналогичного показателя в контрольной группе (таблица 8 приложения).

Взвешенное среднее соотношение сперматогоний типа Б к сустентоцитам, так же как и в клеточной ассоциации I типа, демонстрирует достоверное снижение своего значения на 20% относительно группы контроля и составляет $0,27 \pm 0,02$ (таблица 8 приложения)

Пахитенные сперматоциты располагаются в средних и верхних отделах ЭС слоя, большими группами. Между их скоплениями обнаруживаются единичные вакуоли (рисунок 13).

Взвешенное среднее соотношение пахитенных сперматоцитов к сустентоцитам, так же как и соотношение сперматид C_A к сустентоцитам, достоверно не отличается от показателей группы сравнения и контроля и составляет $1,26 \pm 0,13$ и $1,87 \pm 0,37$ соответственно (таблица 8 приложения).

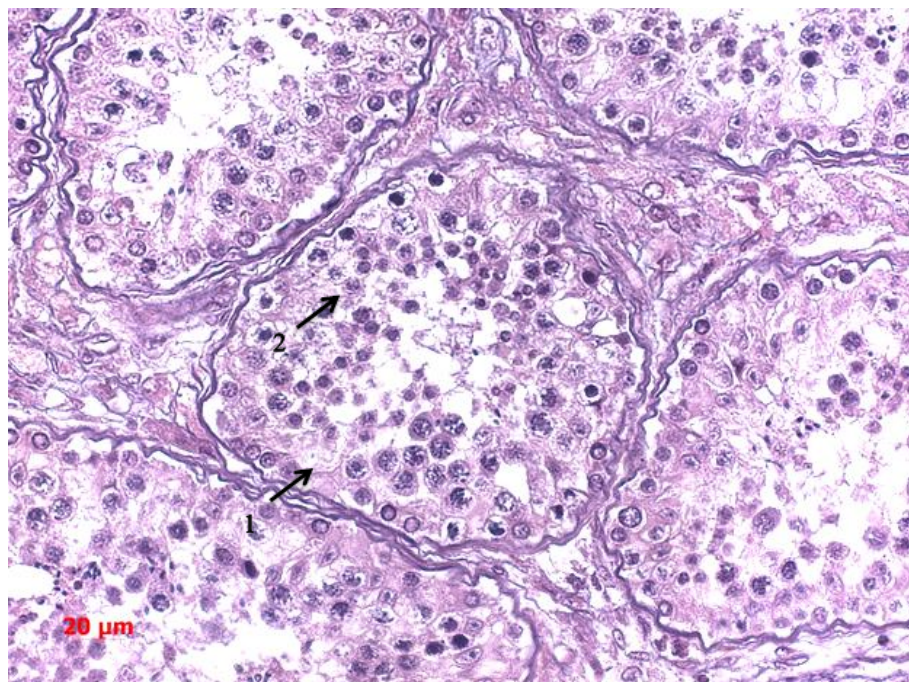


Рисунок 13 – Клеточная ассоциация II типа. 1 - Групповое расположение пахитенных сперматоцитов. 2 - Десквамированные сперматиды С_д. Возраст 22 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Поздние сперматиды С_д располагаются в самых верхних отделах ЭС слоя, большая часть из них десквамирована в просвет канальца (Рисунок 13). Взвешенное среднее соотношение сперматид С_д к sustentocитам составляет $0,92 \pm 0,14$, что на 34% меньше значения данного показателя в группе контроля.

Клеточная ассоциация III типа. При анализе данной ассоциации, отмечается снижение количества сперматогоний А_т, взвешенное среднее составляет $2,84 \pm 0,46$ что на 32% достоверно меньше количества сперматогоний А_т, в группе контроля. Также существенно снижено соотношение сперматогоний типа А_т к sustentocитам: $0,16 \pm 0,02$, что на 42% меньше аналогичного показателя группы контроля. Причиной указанного снижения, может явиться нарушение дифференцировки сперматогони типа А_т в А_б. Количество и соотношение к sustentocитам сперматогоний А_б, прелептотенных и пахитенных сперматоцитов, в данной ассоциации, достоверно не отличается от показателей группы контроля и составляет соответственно $0,65 \pm 0,03$, $0,39 \pm 0,04$ и $1,15 \pm 0,14$ (таблица 8 приложения). Так же следует отметить, что на данной

стадии цикла, наблюдается увеличение количества и размеров вакуолей в ЭС слое. Вместе с этим, отмечена десквамация сперматид B_0 в просвет канальца (рисунок 14), а также снижение их количества, которое составляет $34,41 \pm 4,8$, что на 33% меньше данного показателя группы контроля. Взвешенное среднее соотношения сперматид B_0 к sustentocитам составляет $2,03 \pm 0,29$, что на 36% меньше аналогичного показателя контрольной группы (таблица 8 приложения).

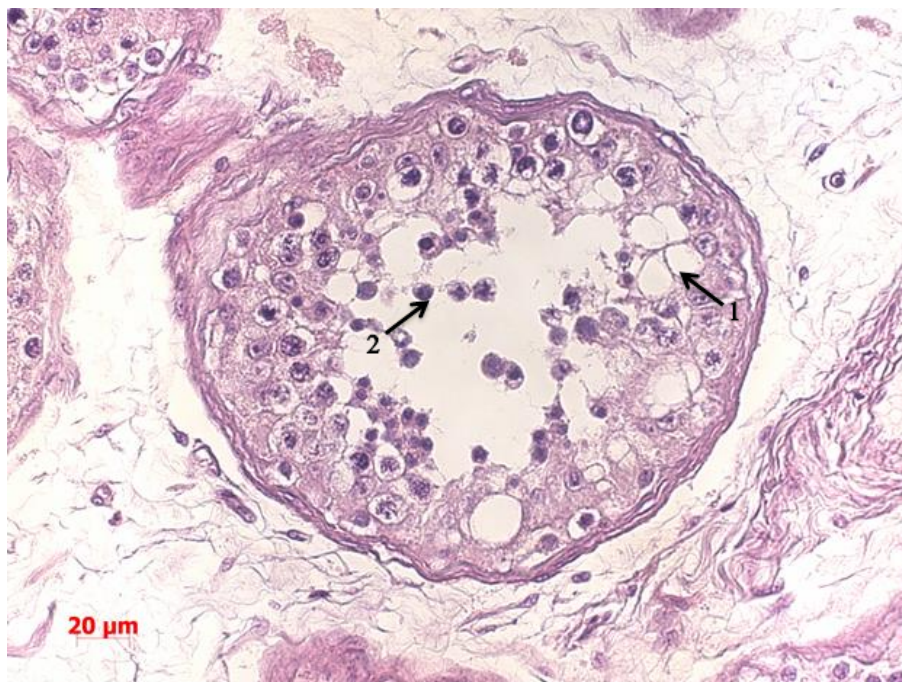


Рисунок 14 – Клеточная ассоциация III типа. 1. Вакуоли в толще ЭС слоя 2. Десквамация сперматид B_0 . Возраст 38 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Клеточная ассоциация IV типа. Сперматогонии A_T , сперматогонии A_B , лептотенные и пахитенные сперматоциты, в данной клеточной ассоциации, не претерпевают каких либо значимых качественных и количественных изменений, взвешенное среднее соотношения этих клеток к sustentocитам, составляет $0,16 \pm 0,02$; $0,64 \pm 0,06$; $0,46 \pm 0,11$ и $1,09 \pm 0,1$ соответственно, что достоверно не отличается от аналогичных показателей группы сравнения и контроля (таблица 8 приложения).

Ранние сперматиды B_0 располагаются пластами, среди них определяются группы лизированных сперматид, в которых контуры ядра и цитолемы

расплывчаты. В отдельных полях зрения, отмечается наличие единичных поздних сперматид C_D (рисунок 15).



Рисунок 15 – Клеточная ассоциация IV типа. 1. Лизированные сперматиды B_0 . 2. Расположение сперматид типа B_0 пластами. Возраст 24 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Взвешенное среднее соотношения сперматид B_0 к sustentоцитам, составляет $1,73 \pm 0,17$, что на 47% достоверно ниже данного показателя группы контроля (таблица 8 приложения). Данное снижение количества сперматид B_0 , может указывать на выраженные десквамативные процессы в ЭС слое этой клеточной ассоциации.

Клеточная ассоциация V типа. В данной клеточной ассоциации наблюдаются значительные изменения клеточного состава ЭС слоя. Количество сперматогоний A_T снижено на 37% и взвешенное среднее составляет $2,52 \pm 0,4$, при этом взвешенное среднее соотношения к sustentоцитам составило $0,14 \pm 0,02$, что на 53% ниже соответствующего показателя группы контроля (таблица 8 приложения). В некоторых полях зрения наблюдается экстрапозиция сперматогонии A_T в верхние отделы пласта ЭС слоя (рисунок 16).



Рисунок 16 – Клеточная ассоциация V типа. 1- Экстрапозиция сперматогоний A_T . 2- Зона выпадения сперматогенных клеток. Возраст 22 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Сперматогонии A_B не претерпевают значимых количественных изменений, взвешенное среднее соотношения к sustentоцитам составляет $0,68 \pm 0,04$ и достоверно не отличается от показателей нормы.

Взвешенное среднее соотношения лептотенных сперматоцитов к sustentоцитам, достоверно снижено на 26% и составляет $0,35 \pm 0,01$. Количество и соотношение к sustentоцитам, пахитенных сперматоцитов, достоверно не отличается от показателей группы контроля и составляет $18,78 \pm 2,88$ и $1,03 \pm 0,12$ соответственно (таблица 8 приложения).

В толще ЭС слоя обнаруживается значительное количество вакуолей. В отдельных полях зрения, отмечаются сегментарные зоны выпадения сперматогенных клеток, занимающих до 12% площади поперечного среза канальца – очаговый синдром «только клетки Сертоли» (рисунок 16). Сперматиды C_C располагаются небольшими скоплениями в верхних отделах ЭС слоя, взвешенное среднее соотношения к sustentоцитам, составляет $2,28 \pm 0,1$ и на 31% меньше аналогичного показателя группы контроля (таблица 8 приложения).

Клеточная ассоциация VI типа. В некоторых полях зрения в данной ассоциации наблюдается картина множественных вакуолей в толще ЭС слоя.

Взвешенное среднее соотношение сперматогоний A_T составляет $0,17 \pm 0,02$, что на 38% ниже аналогичного показателя контрольной группы.

Наряду с этим обнаруживается также уменьшение взвешенного среднего соотношения сперматогоний A_B на 14% по сравнению с контрольной группой

Отмечается снижение соотношения зиготенных сперматоцитов к сустентоцитам, которое составляет $0,37 \pm 0,03$ и на 35% меньше значения данного показателя группы сравнения и контроля. Также снижен индекс соотношения диплотенных сперматоцитов к сустентоцитам, который составляет $0,72 \pm 0,1$, что на 41% ниже показателей группы сравнения и контроля.

Сперматоциты II порядка располагаются небольшими группами в верхних отделах ЭС слоя. Некоторые из них десквамированы в просвет канальца (рисунок 17). Взвешенное среднее соотношение сперматоцитов II порядка к сустентоцитам, составляет $1,08 \pm 0,25$, что на 9% достоверно уменьшено по сравнению с аналогичным показателем группы сравнения и контроля (таблица 8 приложения). Средняя взвешенная количества фигур митотического деления по отношению к сустентоцитам хотя и имеет тенденцию к снижению, однако статистически значимо не отличается от контроля. Взвешенное среднее соотношение сперматид типа C_C составляет $0,23 \pm 0,13$, что на 29% ниже аналогичного показателя контрольной группы.

Таким образом, наиболее выраженные количественные изменения соотношения всех типов сперматогенных клеток по отношению к сустентоцитам наблюдаются в клеточной ассоциации VI типа – наиболее важной фазе сперматогенеза – мейозе.

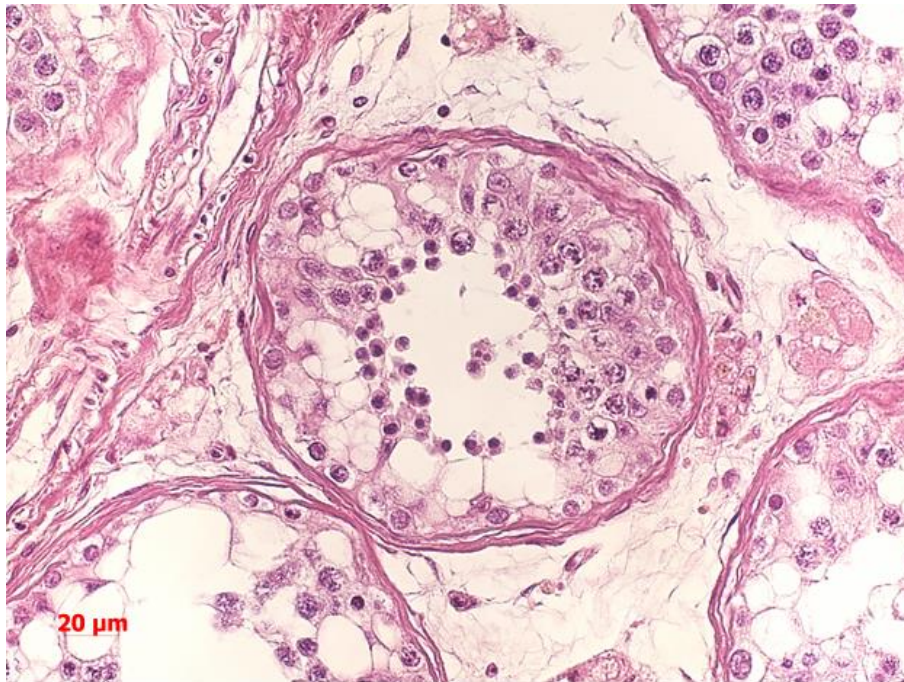


Рисунок 17 – Клеточная ассоциация VI типа. Множественные вакуоли в ЭС слое. Десквамация сперматоцитов II порядка в просвет канальца. Возраст 38 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Количество опорно-трофических структур ЭС слоя - sustentоцитов, во всех 6 клеточных ассоциациях не претерпевает каких либо значительных изменений. Взвешенное среднее количества sustentоцитов в канальцах лиц погибших через 1-3 суток после ЧМТ, составляет $17,6 \pm 0,97$ и достоверно не отличается от количества sustentоцитов в группе сравнения и контроля.

Межканальцевая ИСТ. Строма яичек, лиц погибших через 1-3 суток после ЧМТ, представлена неоформленной соединительной тканью с присутствующими этому типу ткани клеточными элементами. Коллагеновые волокна располагаются компактно и хорошо выражены в междольковых прослойках соединительной ткани. Волокнистые структуры между извитыми канальцами немногочисленны, значительно разрыхлены. Взвешенная средняя абсолютного объема межканальцевой ИСТ, в данной группе составляет $13,51 \pm 1,09$ см³ и на 30% достоверно ниже аналогичного параметра группы контроля (таблица 2 приложения). Данное снижение абсолютного объема, может рассматриваться в качестве начального признака атрофических изменений стромы яичек вызванных ЧМТ. Гландулоциты располагаются в строме яичек по

периферии извитых семенных канальцев, кровеносных капилляров, в виде скоплений в ИСТ, а также изолированно. Преимущественно округлой или овальной формы. Некоторые glanduloциты набухшие, с ядрами овальной формы с конденсированным хроматином по периферии. В некоторых полях зрения отмечаются glanduloциты с нечеткими контурами ядер и лизисом хроматина (рисунок 18).

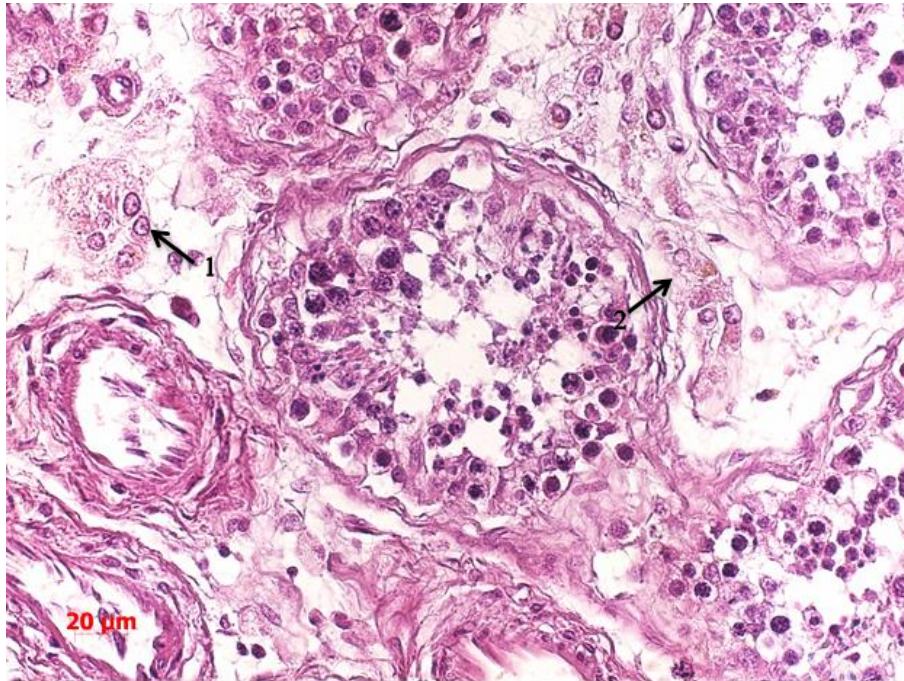


Рисунок 18 – Клеточная ассоциация I типа. 1-Конденсация хроматина в glanduloцитах. 2-Лизис хроматина в ядре glanduloцита. Возраст 38 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$

Взвешенная средняя абсолютного объема эндокриноцитов составляет $1,19 \pm 0,09 \text{ см}^3$ что на 46% меньше данного показателя группы контроля (таблица 2 приложения). Указанное снижение объема ИЭ, может быть следствием деструктивных изменений эндокринного аппарата половых желез, вследствие нарушения нейрогуморальной регуляции, вызванной посттравматической гипофизарной недостаточностью. Средняя абсолютная объемной фракции капилляров ИСТ в анализируемой группе составляет $0,25 \pm 0,037$ и достоверно на 61% меньше по сравнению с контролем (таблица 2 приложения), что указывает на редукцию капиллярного русла стромы яичек.

Иммуногистохимическое исследование

ИГХ исследование с антителами к PCNA и Ki-67 у лиц, погибших через 1-3 дня после ЧМТ, выявляет повышение количества положительно окрашенных ядер сперматогоний A_T во всех типах клеточных ассоциаций за исключением ассоциации I типа (рисунок 19), а также сперматогоний Б в ассоциациях I и II типов. Наряду с этим отмечается положительное окрашивание с антителами к PCNA первичных и вторичных сперматоцитов. Количество положительно окрашенных РННЗ в клеточной ассоциации VI типа несколько снижено. При этом необходимо отметить, что отмечается равномерное окрашивание ядер этих поддерживающих и трофических структур во всех типах клеточных ассоциаций (рисунок 20) и постепенно уменьшается от ассоциации IV типа к VI.

Отмечается также умеренное уменьшение экспрессии в ядрах перитубулярных миоцитов. В цитоплазме ИЭ экспрессия AR выражена неравномерно: в перитубулярных ИЭ она выражена в большей степени по сравнению с периваскулярными эндокриноцитами.

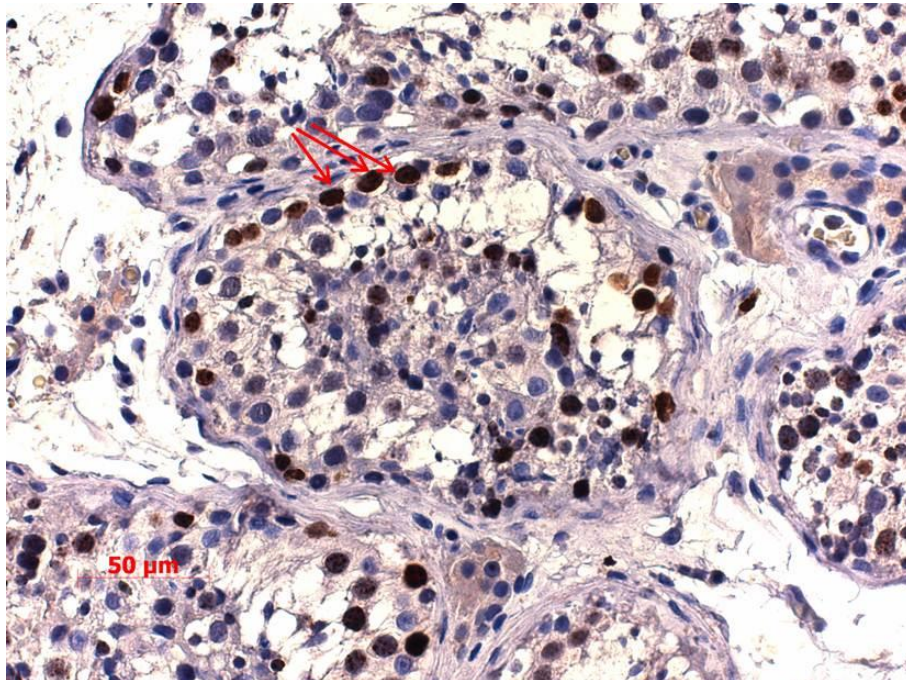


Рисунок 19 – Повышенная экспрессия Ki-67 в ядрах сперматогоний A_T . Клеточная ассоциация IV типа. Возраст 23 года. Увеличение $\times 400$

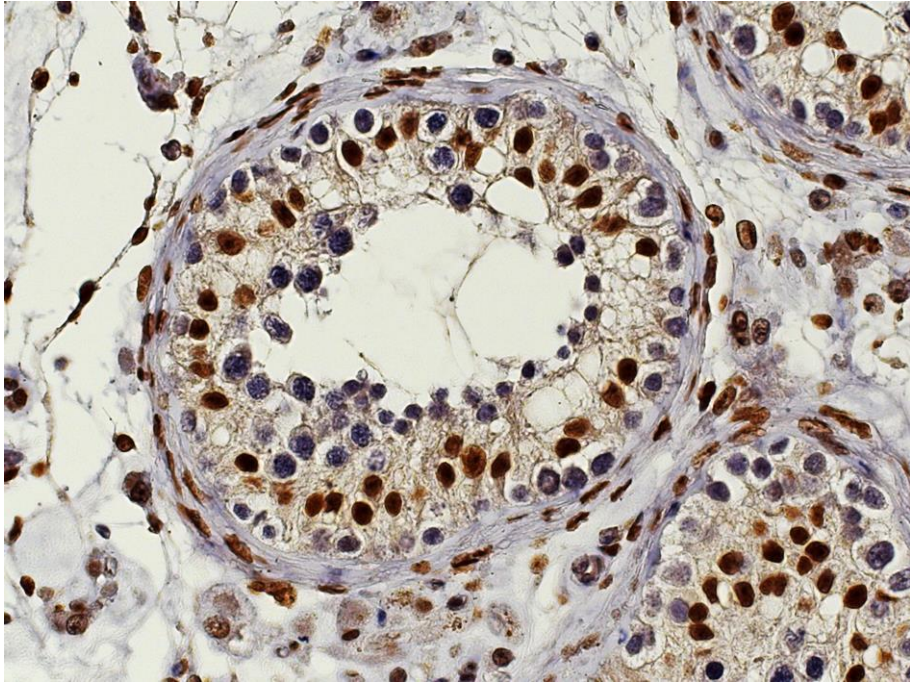


Рисунок 20 – Интенсивная экспрессия AR в ядрах sustentоцитов. Клеточная ассоциация IV типа. Возраст 38 лет. Увеличение $\times 400$

При анализе экспрессии Inhibin отмечается умеренное увеличение интенсивности реакции с антителами к Inhibin в цитоплазме sustentоцитов (рисунок 21) и ИЭ, при полном отсутствии реакции в сперматогенных клетках.

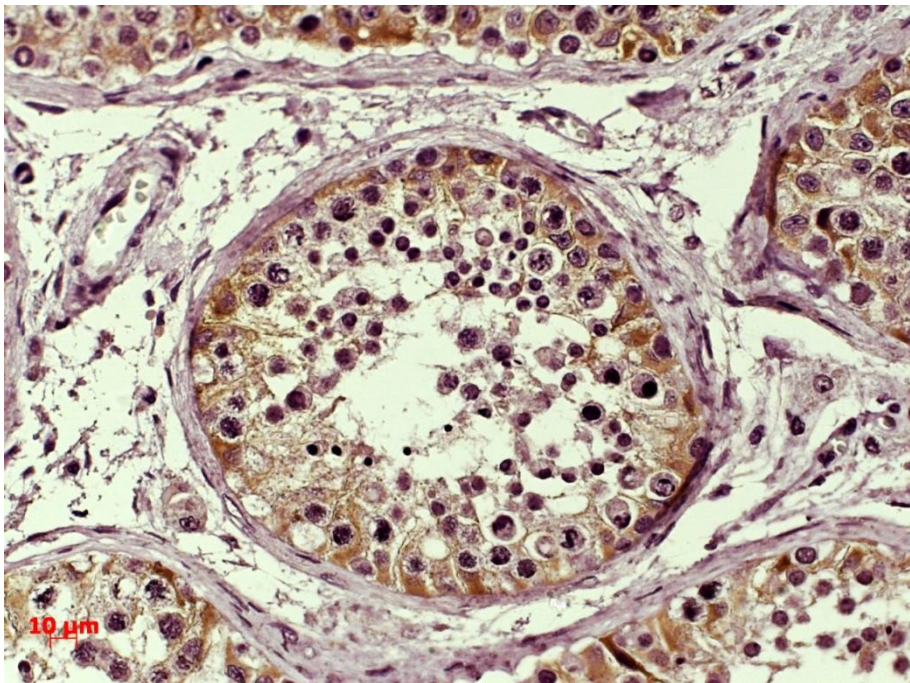


Рисунок 21 – Повышение интенсивности реакции с антителами к Inhibin в цитоплазме sustentоцитов. Клеточная ассоциация I типа. Возраст 18 лет. Увеличение $\times 400$

При исследовании экспрессии CD117⁺ отмечается умеренное увеличение количества с положительным мембранным окрашиванием сперматогоний A_T, A_B в ЭС слое половых желез (рисунок 22). Также наблюдается увеличение экспрессии CD117⁺ клеточных элементов в интерстиции. В отдельных полях зрения видны немногочисленные CD117⁺ положительные клетки среди ИЭ.

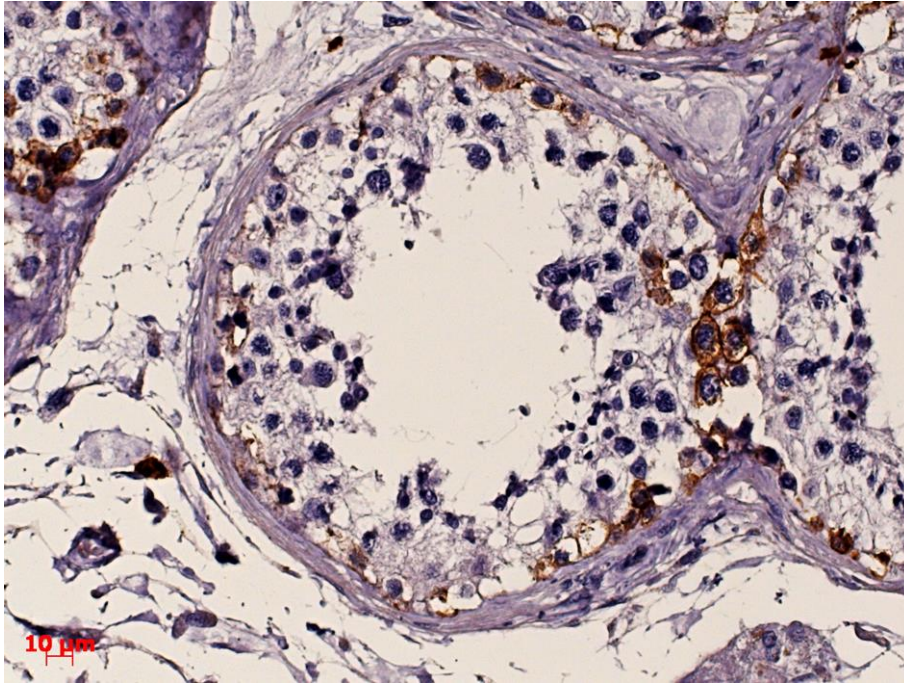


Рисунок 22 – Увеличение количества с CD 117 положительным мембранным окрашиванием сперматогоний в ЭС слое половых желез. Клеточная ассоциация V типа. Возраст 24 года. Увеличение × 400

Заключение

При анализе изменений в яичках, мужчин погибших через 1-3 суток после ЧМТ, установлено, что при данном сроке после ЧМТ, происходит уменьшение массы яичек на 18% по сравнению с контрольной группой. При этом происходит увеличение абсолютного объема белочной оболочки за счет ее набухания и отека. Увеличение объема сети яичка наблюдается за счет увеличения количества различных сперматогенных клеток в просвете канальцев сети. Наряду с этим отмечается уменьшение на 24% абсолютного объема семенных канальцев. При детальном анализе цитологического про-

филя сперматогенеза, установлено достоверное снижение среднего количества сперматогенных клеток, на основных этапах сперматогенеза: а именно на этапах размножения, роста, созревания и формирования.

3.3. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ через 6-9 суток

Материалом для этого раздела послужило гистологическое, морфометрическое и ИГХ исследование яичек от 10 практически здоровых лиц, в возрасте от 22 до 49 лет, погибших в стационаре через 6-9 суток после ЧМТ. Среднее значение возраста в данной группе составляло $34,6 \pm 3,7$ года.

Сроки госпитализации, перед наступлением смерти от ЧМТ в вышеуказанных случаях составляли: 4 случая – 6 суток, 2 случая – 7 суток, 1 случай – 8 суток, 3 случая – 9 суток. Во всех случаях лечение пострадавших проводилось в соответствии со стандартами специализированной медицинской помощи при внутричерепной травме. Повреждения головного мозга в перечисленных случаях были представлены: в 4 случаях - ушибами головного мозга в затылочной доле и левой височной доле, субарахноидальными кровоизлияниями в проекции указанных долей, левосторонними субдуральными гематомами объемами 100 мл и 140 мл; в 3 случаях – линейными переломами костей свода черепа, ушибами головного мозга в правой лобной и правой теменной долях, диффузными, пластинчатыми субарахноидальными кровоизлияниями, теменными субдуральными гематомами объемами от 80 мл до 150 мл; в 1 случае – ушибом головного мозга в левой височной и левой теменной долях, левосторонними, пластинчатыми субарахноидальными кровоизлияниями, левосторонней субдуральной гематомой объемом 110 мл; в 2 случаях - ушибами головного мозга в лобных долях, субарахноидальными кровоизлияниями в проекции лобных долей, правосторонними субдуральными гематомами объемами от 70 мл до 120 мл. Во всех указанных случаях, область турецкого седла была интактной. При химико-токсикологическом исследова-

нии крови и мочи погибших, этанол и его суррогаты, наркотические и психотропные вещества не обнаружены.

У лиц, погибших через 6-9 суток после ЧМТ, средняя взвешенная массы яичек составляет $28,5 \pm 3,02$ г и статистически достоверно ($p < 0,05$) на 37% меньше, чем масса яичек в контрольной группе (таблица 2 приложения).

Наряду с этим, средняя взвешенная абсолютного объема белочной оболочки составляет $3,12 \pm 0,51$ см³, и практически мало отличается от аналогичного показателя группы контроля (таблица 2 приложения).

Средняя взвешенная абсолютного объема сети яичек $1,96 \pm 0,23$ см³ и статистически значимо ($p < 0,05$) на 33% больше, чем объем сети в контрольной группе (таблица 2 приложения). Морфологические изменения, наблюдаемые в сети яичек исследуемой группы, заключались в причудливой деформации канальцев, сопровождающейся расширением их просвета. В просвете канальцев сети, наряду с поздними сперматидами Д, обнаруживались менее дифференцированные типы сперматогенных клеток, а также тканевой детрит (рисунок 23). В цитоплазме sustentоцитов, имеющих кубическую или уплощенную форму повышено количество включений липофусцина. Межканальцевая соединительная ткань в области сети разрыхлена, богата клеточными элементами и коллагеновыми волокнами.

Средняя взвешенная абсолютного объема извитых семенных канальцев составляет $12,99 \pm 1,29$ см³, и статистически значимо ($p < 0,001$), на 41% меньше аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения). В то же время, средняя взвешенная площади поперечного сечения канальцев составляет $48,52 \pm 2,26$ мкм² × 10³, и статистически значимо ($p < 0,01$), на 26% больше аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения).

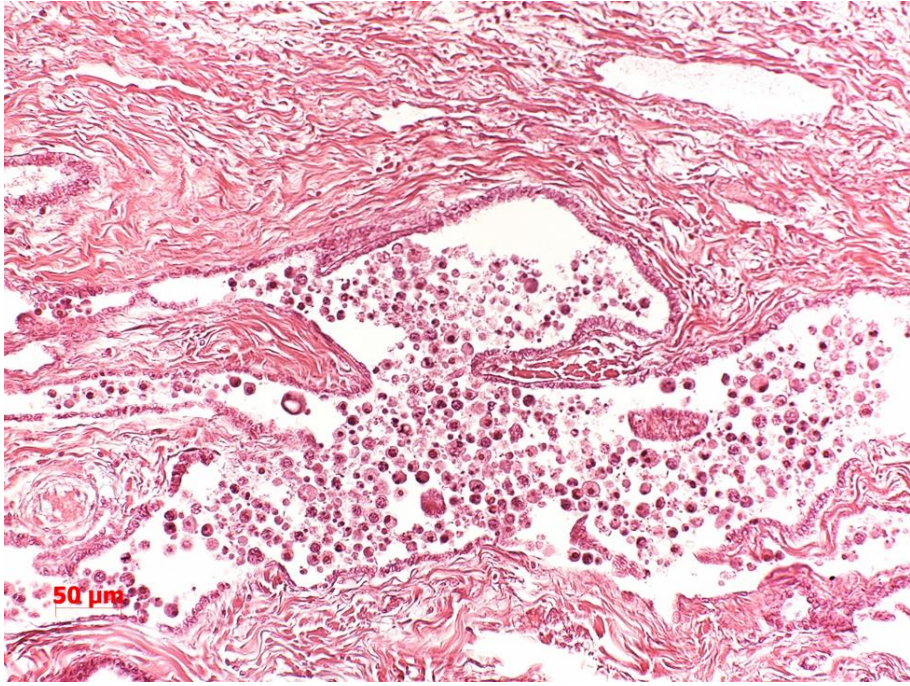


Рисунок 23 – Расширение канальцев сети яичек. Переполнение просвета канальцев сети десквамированными сперматогенными клетками различной степени дифференцировки. Возраст 23 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

У всех исследованных лиц данной группы, наряду с уменьшением средней взвешенной абсолютного объема канальцев обнаруживается гипертрофия соединительнотканной оболочки канальцев. В стенках канальцев определяются утолщение и деформация извитых коллагеновых волокон, между которыми определяются вытянутые миоидные элементы, количество которых, несколько уменьшено, по сравнению с контролем. Базальная мембрана канальцев утолщена. Все выше описанное свидетельствует о начальных проявлениях перитубулярного склероза. При исследовании межканальцевой соединительной ткани в группе лиц погибших через 6-9 суток после ЧМТ средняя взвешенная ИСТ составляет $10,44 \pm 1,06 \text{ см}^3$, что статистически достоверно ($p < 0,001$) на 46% меньше, чем в группе сравнения и контроля (таблица 2 приложения). В ИСТ наблюдается некоторое увеличение числа клеточных соединительно-тканых элементов: фибробластов, гистиоцитов и лимфоцитарных элементов различной степени дифференцировки.

Морфометрическое изучение эндокринного аппарата яичек позволяет обнаружить, что средняя взвешенная абсолютного объема ИЭ составляет $1,01 \pm 0,1 \text{ см}^3$ и статистически достоверно ($p < 0,001$) на 54% меньше аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения). В эндокринных структурах яичек исследуемой группы определяются существенные качественные изменения. Прежде всего, в отдельных полях зрения видны картины зернистого глыбчатого распада и лизиса ИЭ (рисунок 24).

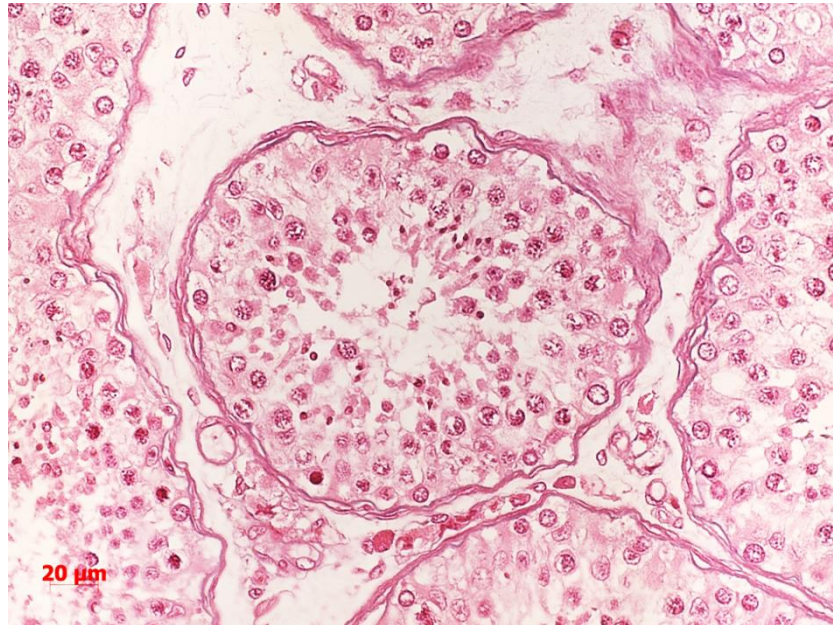


Рисунок 24 – Диссоциация ЭС слоя. Лизис ИЭ в строме половых желез. Возраст 18 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Наряду с эндокриноцитами обычных размеров, обнаруживаются единичные гипертрофированные клеточные формы с обильной эозинофильной цитоплазмой. С другой стороны, повышено число мелких атрофичных ИЭ, цитоплазма которых содержит включения липофусцина. Теряется связь эндокриноцитов с кровеносными сосудами. Наряду с изменениями эндокринного аппарата в строме яичек наблюдаются изменения кровеносных сосудов ИСТ. Эти изменения заключаются в пролиферации эндотелия мелких артерий, гомогенизации базальных мембран, изменении цитоструктуры гладкомышечных клеток. Существенные изменения претерпевают сосуды микроциркуляторного русла. При этом в ИСТ, этой группы лиц наблюдается статистически достоверное ($p < 0,001$) уменьшение средней взвешенной абсолют-

ного объема капилляров на 70% по сравнению с группой сравнения и контроля (таблица 2 приложения), что, по-видимому свидетельствует о редукции капиллярного русла.

Анализ цитологического профиля сперматогенеза в исследуемой группе лиц позволяет обнаружить, что в клеточной ассоциации I типа средняя взвешенная соотношения сперматогоний типа Б составляет $0,193 \pm 0,02$ что достоверно ($p < 0,01$) на 52% меньше по сравнению с группой сравнения и контроля. В то же время, аналогичные показатели для сперматогоний типа А_Т и А_Б довольно стабильны и не отличается от контрольных величин (таблица 9 приложения). Средняя взвешенная соотношения Пах_{СПТЦ} к сустентоцитам составляет $0,78 \pm 0,09$, что также достоверно ($p < 0,05$) на 46% меньше по сравнению с группой контроля (таблица 9 приложения).

Также, существенно изменено количество ранних сперматид С_А, о чем свидетельствует средняя взвешенная соотношения С_А по отношению к сустентоцитам $1,2 \pm 0,11$, что достоверно ($p < 0,05$) на 46% меньше по сравнению с группой контроля (таблица 91 приложения). Уменьшение количества сперматогоний типа Б, Пах_{СПТЦ} и сперматид С_А в клеточной ассоциации I типа по видимому связано с деструктивными процессами в ЭС слое, т.к. сопровождается возникновением крупных вакуолей в пласте соответствующего типа сперматогенных клеток. Согласно данным морфометрического анализа выявляется тенденция к снижению средней взвешенной соотношения среднего количества поздних сперматид С_Д по отношению к сустентоцитам. Наряду с этим наблюдаются изменения цитологической структуры поздних С_Д.

Среди этих сперматогенных клеток обнаруживались гигантские сперматиды с укрупненными, гиперхромными ядрами, часто имеющими причудливую угловатую форму. В некоторых сперматидах этого типа можно было видеть внутри акросомы тонкие, нежные перетяжки, которые делят акросому на несколько мелких вакуолей. Хвостовой отдел этих сперматид нередко утолщен, извит, или вообще отсутствовал. Регулярно обнаруживались зоны «выпадения» этих типов сперматогенных клеток (рисунок 25).

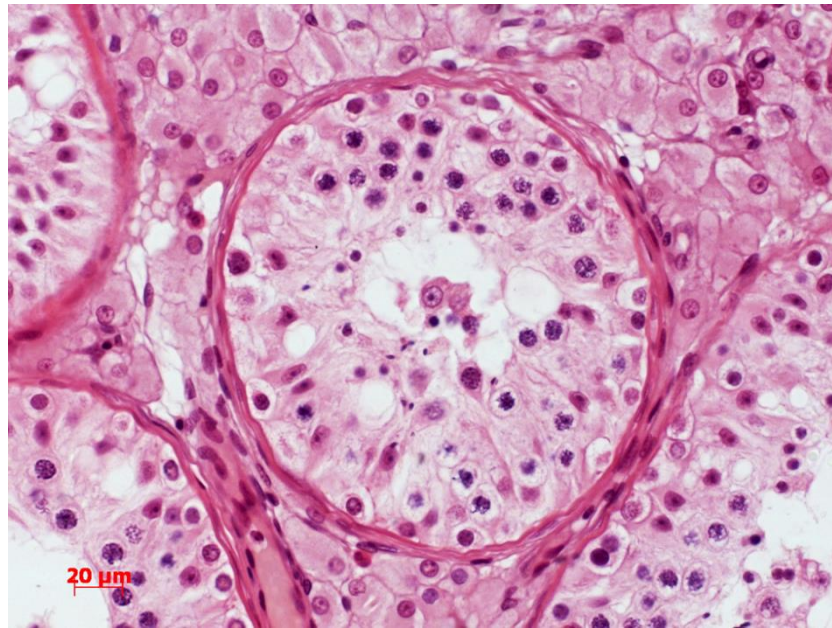


Рисунок 25 – Уменьшение количества сперматогоний типа Б, Пах_{СПТЦ} и поздних сперматид С_д в клеточной ассоциации I типа. Вакуолизация ЭС слоя в виде зон «выпадения» сперматогенных клеток. 6-9 суток после ЧМТ. Возраст 22 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

В клеточной ассоциации II типа средняя взвешенная соотношения сперматогоний типа Б также изменена и составляет $0,2 \pm 0,02$ что достоверно ($p < 0,05$) на 40% меньше по сравнению с группой контроля. Аналогичные показатели для сперматогоний типа А_Т и А_Б не отличается от контрольных величин (таблица 9 приложения).

Средняя взвешенная соотношения Пах_{СПТЦ} к sustentocytam в этом типе клеточной ассоциации составляет $0,87 \pm 0,1$ и также достоверно ($p < 0,05$) на 35% меньше по сравнению с группой контроля (таблица 9 приложения). В Пах_{СПТЦ} нередко хромосомы утолщены, гиперхромны. Нередко обнаруживались гигантские сперматоциты этого типа. Иногда под ядерной оболочкой Пах_{СПТЦ} определяется хроматин в виде мелких глыбок. Среди пласта Пах_{СПТЦ} видны клеточные элементы со сморщенными, гиперхромными ядрами, в которых массы хроматина не имели характерной структуры, а цитоплазма вакуолизирована. Довольно часто среди пласта Пах_{СПТЦ} обнаруживались крупные вакуоли – зоны «выпадения» этих клеточных элементов, в которых определялись мелкие фрагменты ядерного хроматина и обрывки цитоплазмы.

Подобные картины свидетельствуют о глубоких дистрофических и атрофических изменениях этого типа сперматогенных клеток (рисунок 26).

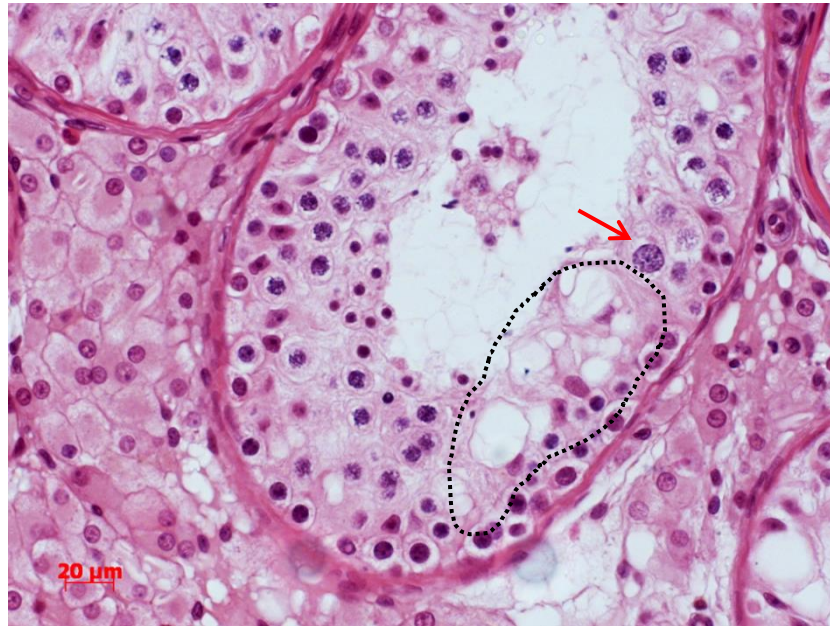


Рисунок 26 – Гигантский Пах_{СПТЦ} в клеточной ассоциации II типа. Обширные зоны вакуолизации эпителиосперматогенного слоя в зоне локализации первичных сперматоцитов (Пах_{СПТЦ}). 6-9 суток после ЧМТ. Возраст 24 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

В клеточной ассоциации III обнаруживаются более выраженные количественные изменения сперматогенных клеток стадии размножения. При этом средняя взвешенная соотношения сперматогоний типа A_T составляет $0,16 \pm 0,03$ что достоверно ($p < 0,05$) на 42% меньше группы контроля (таблица 9 приложения) Типичное расположение A_T на базальной мембране канальцев в клеточной ассоциации III типа в виде цепочек встречается значительно реже. Нередко A_T обнаруживались в виде крупных, гигантских клеток, а иногда с несколько удлинёнными или округлыми ядрами, содержащими сильно конденсированный ядерный хроматин. Часто обнаруживались зоны «выпадения» сперматогоний этого типа, а также их изолированное расположение в вакуолизированных пространствах, ограниченных sustentocytami.

Средние взвешенные сперматогоний A_B и Прел_{СПТЦ} хотя и имеют тенденцию к некоторому снижению, однако достоверно не отличаются от контрольных величин. Средняя взвешенная соотношения Пах_{СПТЦ} к sustentocytami

там в этом типе клеточной ассоциации составляет $0,86 \pm 0,13$ и также достоверно ($p < 0,05$) на 39% меньше по сравнению с группой контроля (таблица 9 приложения), что указывает на нарушение стадии роста первичных сперматоцитов. Сперматиды типа B_0 , входящие в ассоциацию этого типа преимущественно имеют сферические бледно окрашенные ядра.

Взвешенная средняя соотношения B_0 к sustentоцитам в этом типе клеточной ассоциации составляет $1,97 \pm 0,09$ и достоверно ($p < 0,05$) на 37% меньше контрольного значения (таблица 9 приложения).

В клеточной ассоциации III типа обнаруживаются B_0 с несколько увеличенными ядрами и более грубым, чем в контроле, глыбками хроматина. В некоторых ассоциациях III типа среди пласта сперматид типа B_0 , а также в просветах канальцев обнаруживаются многоядерные структуры, содержащие два, три, четыре и большее число ядер. Ядра в таких многоядерных структурах гиперхромны, имеют округлую, овальную форму и локализуются в центре или в периферических отделах цитоплазмы клетки (рисунок 27).

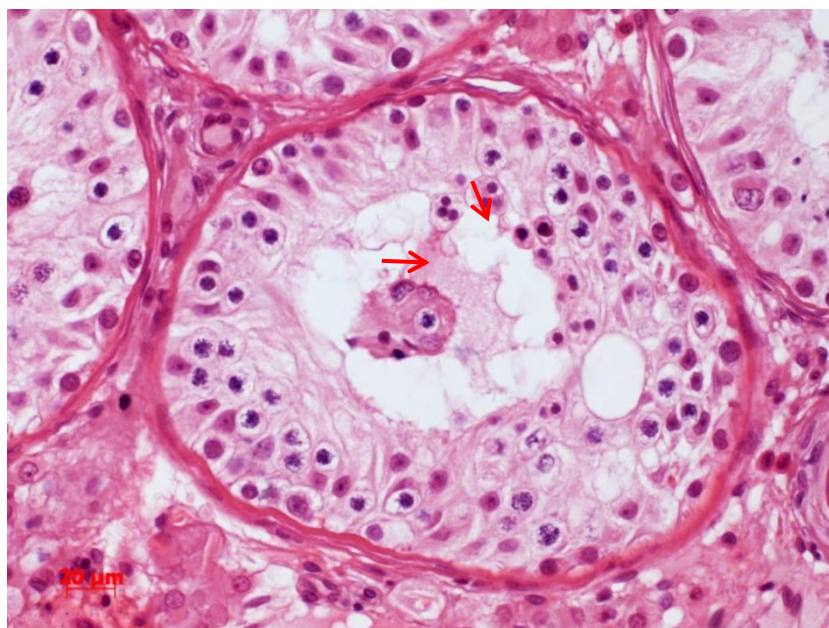


Рисунок 27 – Многоядерные сперматиды B_0 в клеточной ассоциации III типа. 6-9 суток после ЧМТ. Возраст 32 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

В клеточной ассоциации IV типа количественные изменения соотношения сперматогенных клеток по отношению к sustentоцитам затрагивают

стадии размножения, роста и формирования. Так, средняя взвешенная соотношения сперматогоний типа A_T составляет $0,15 \pm 0,02$ что достоверно ($p < 0,05$) на 38% меньше группы контроля (таблица 9 приложения). При этом, сперматогонии типа A_T располагаются на большом расстоянии друг от друга и значительно реже обнаруживаются в виде пар или цепочек. Средние взвешенные сперматогоний A_B и Лепт_{СПТЦ} имеют тенденцию к некоторому снижению, однако достоверно не отличаются от контрольных величин. Более выраженные количественные и структурные изменения претерпевают Пах_{СПТЦ}. В клеточной ассоциации этого типа средняя взвешенная соотношения Пах_{СПТЦ} к sustentocytam составляет $0,68 \pm 0,09$ и достоверно ($p < 0,05$) на 46% меньше по сравнению с группой сравнения и контроля (таблица 9 приложения). Это указывает на более выраженные нарушение стадии роста первичных сперматоцитов. Увеличенные в объеме сперматоциты этого типа обнаруживались довольно часто. Нередко можно было видеть Пах_{СПТЦ} с грубым рисунком хроматина. Зоны «выпадения» этих сперматогенных клеток обнаруживались не только в виде отдельных крупных вакуолей в пласте, но и также в форме отсутствия их в целом сегменте канальца, так что возникают так называемые «неполные клеточные ассоциации» (рисунок 28).

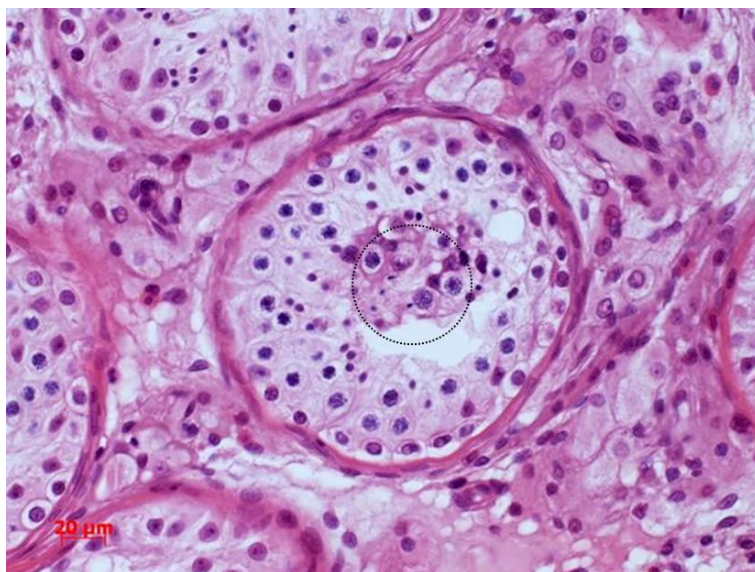


Рисунок 28 – Десквамация Пах_{СПТЦ} и сперматид B_0 в клеточной ассоциации IV типа. 6-9 суток после ЧМТ. Возраст 33 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Сперматиды типа B_0 , входящие в ассоциацию этого типа имеют удлиненные более интенсивно окрашенные ядра, однако, степень элонгации ядер переменна: от едва заметного удлинения до резко выраженной элонгации с несвойственной этому типу сперматогенных клеток ядерной гиперхромией. Неравномерность степени элонгации ядер B_0 , в сочетании с переменностью компактизации хроматина, по-видимому, можно считать признаками нарушения процесса формирования сперматогенных клеток этого типа. Взвешенная средняя соотношения B_0 к sustentocитам в этом типе клеточной ассоциации составляет $2,25 \pm 0,26$ и достоверно ($p < 0,05$) на 31% меньше значений группы сравнения и контроля (таблица 9 приложения). В клеточной ассоциации IV типа, как это было отмечено ранее, B_0 располагаются в поверхностных отделах ЭС слоя. В связи с этим, характерной морфологической особенностью этой зоны у больных исследуемой группы можно считать интенсивную десквамацию сперматид B_0 в просвет канальца как в виде единичных клеток, так и парами, а также целыми пластами. В результате этих деструктивных изменений возникают клеточные ассоциации, в которых отсутствие сперматид в сочетании с «выпадением» сперматоцитов, делает весьма затруднительным идентификацию типа клеточной ассоциации и в конечном итоге приводит к формированию неполной клеточной ассоциации. А при более глубоких деструктивных изменениях касающихся элиминации из этой зоны ЭСС сперматогоний, ведет к возникновению сегментарного синдрома «только клетки Сертоли».

В клеточной ассоциации V типа количественные изменения соотношения сперматогенных клеток по отношению к sustentocитам затрагивают стадию роста. При этом, средняя взвешенная соотношения $Лепт_{СПТЦ}$ составляет $0,35 \pm 0,03$ что достоверно ($p < 0,05$) на 26% меньше группы контроля (таблица 9 приложения). $Лепт_{СПТЦ}$ немногочисленны, а в некоторых сегментах канальцев единичны. Наряду со снижением числа других сперматогенных клеток в клеточной ассоциации этого типа, или даже отсутствием некоторых клеточ-

ных типов, в ЭС слое возникали обширные зоны «опустошения» демонстрирующие очаговый синдром «только клетки Сертоли» (рисунок 29).

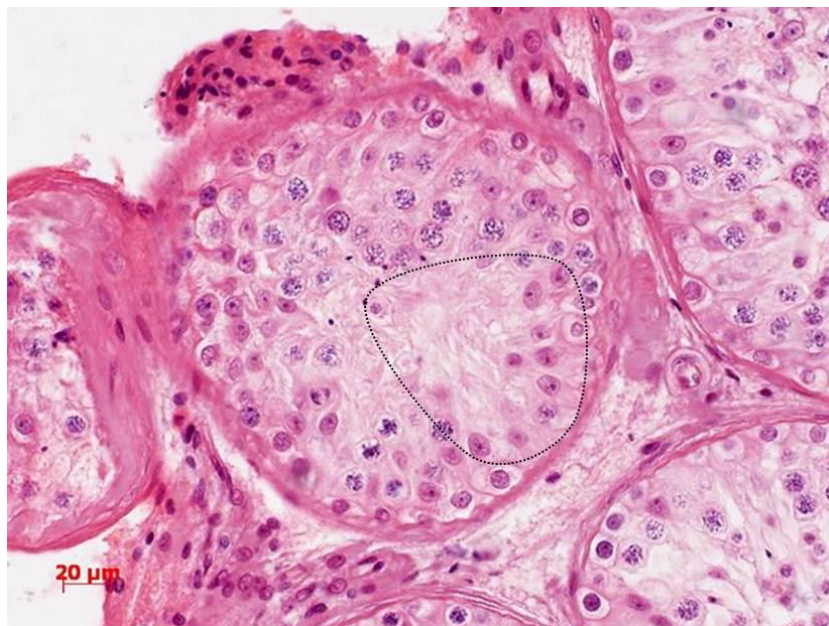


Рисунок 29 – Уменьшение количества Лепт_{СПТЦ} и Пах_{СПТЦ} в клеточной ассоциации V типа. Очаговый синдром «только клетки Сертоли». 6-9 суток после ЧМТ. Возраст 22 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Также существенно изменено количество Пах_{СПТЦ}, о чем свидетельствует средняя взвешенная соотношения Пах_{СПТЦ} по отношению к sustentocитам $0,82 \pm 0,14$, Пах_{СПТЦ} в ЭС слое половых железах анализируемой группы нередко обнаруживаются в виде гигантских клеточных элементов с характерным внутриядерным расположением филаментозных структур. Хромосомы в ядрах Пах_{СПТЦ}, имеющих обычные размеры, часто можно наблюдать в зоне их наибольшего соприкосновения как бы «склеенные» друг с другом, за счет мелких глыбок хроматина. В некоторых полях зрения встречались Пах_{СПТЦ} с резко деформированным, уродливым «хромосомным букетом», в котором наблюдались фрагментация хромосомных нитей, а также выраженные явления вакуолизации ядра. В пласте сперматоцитов этого типа также обнаруживались светлые вакуоли в зоне «выпадения», содержащие мелкие фрагменты лизированных клеточных элементов.

Средние взвешенные сперматогоний всех типов, а также сперматид S_C имеют тенденцию к некоторому снижению, однако достоверно не отличаются от контрольных величин.

В клеточной ассоциации VI типа количественные изменения соотношения сперматогенных клеток по отношению к сустентоцитам определяются на стадиях размножения, созревания и формирования. Средняя взвешенная соотношения сперматогоний типа A_T составляет $0,15 \pm 0,04$ что достоверно ($p < 0,05$) на 42% меньше показателей группы сравнения и контроля (таблица 9 приложения). В то время, как средняя взвешенная сперматогоний A_B хотя и имеет тенденцию к снижению, однако достоверно не отличается от контроля. Наиболее выраженные изменения средних взвешенных величин определяются на стадии созревания. Проведенный морфометрический анализ свидетельствует о том, что средняя взвешенная соотношения $Zig_{СПТЦ}$ составляет $0,32 \pm 0,07$ что достоверно ($p < 0,05$) на 43% меньше по сравнению с группой контроля (таблица 9 приложения). Цитологические изменения сохранившихся $Zig_{СПТЦ}$ заключались в утолщении и гиперхромии хромосомных нитей и, как бы «склеивания» их между собой. В результате этого в ядрах $Zig_{СПТЦ}$ хромосомы образуют плотные клубки, в которых дифференцировать отдельные нити хромосом не представлялось возможным. Зоны «выпадения» в пласте сперматоцитов этого типа, свидетельствуют об атрофии этих клеточных элементов.

Наиболее выраженные количественные изменения фазы созревания претерпевают $Дипл_{СПТЦ}$. При этом, средняя взвешенная соотношения $Дипл_{СПТЦ}$ к сустентоцитам составляет $0,43 \pm 0,1$ что достоверно ($p < 0,05$) на 64% меньше группы контроля (таблица 9 приложения). $Дипл_{СПТЦ}$ немногочисленны (рисунок 30), а в некоторых сегментах канальцев единичны.

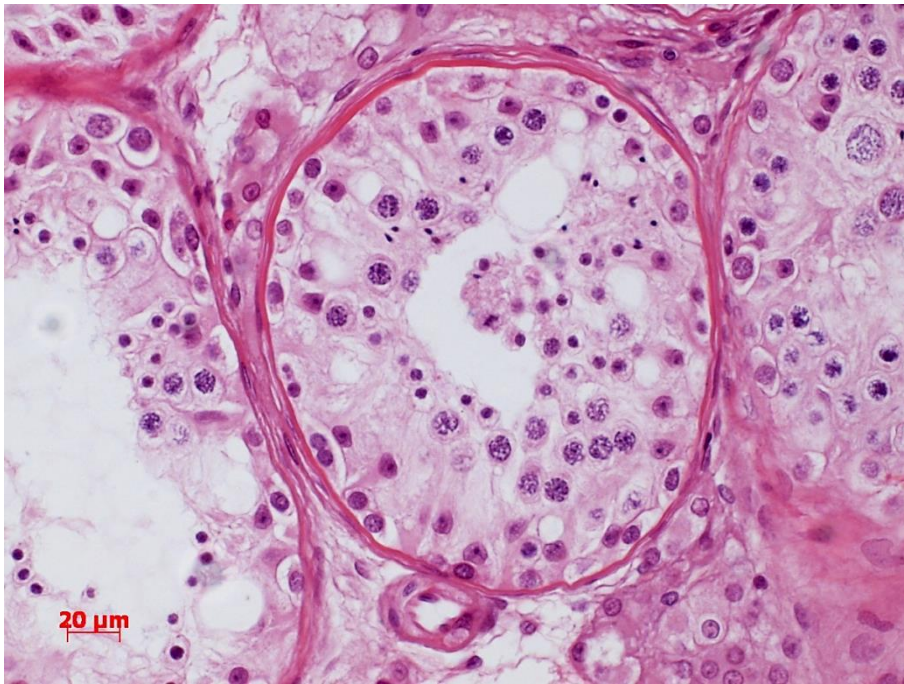


Рисунок 30 – Уменьшение количества ДиплСПТЦ в клеточной ассоциации VI типа. 6-9 суток после ЧМТ. Возраст 24 года. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Цитологические изменения ДиплСПТЦ заключались в утолщении и укорочении бивалентов, сочетающиеся с гиперхромией хромосомных отдельных частей. Нередко продольная щель в бивалентах видна неотчетливо, вследствие слипания хромосомных отдельных частей. В отдельных полях зрения обнаруживались картины фрагментации и распада бивалентов, а также зоны «выпадения» этих клеточных элементов из соответствующего пласта ЭС слоя.

Средние взвешенные S_{II} , S_C и фигур митотического деления имеют выраженную тенденцию к снижению, однако достоверно не отличаются от контрольных величин (таблица 9 приложения).

Иммуногистохимическое исследование

ИГХ исследование с антителами к PCNA и Ki-67 у лиц, погибших через 6-9 суток после ЧМТ, позволяет констатировать повышение количества положительно окрашенных ядер сперматогоний Б в ассоциациях I и II типов (рисунок 31).

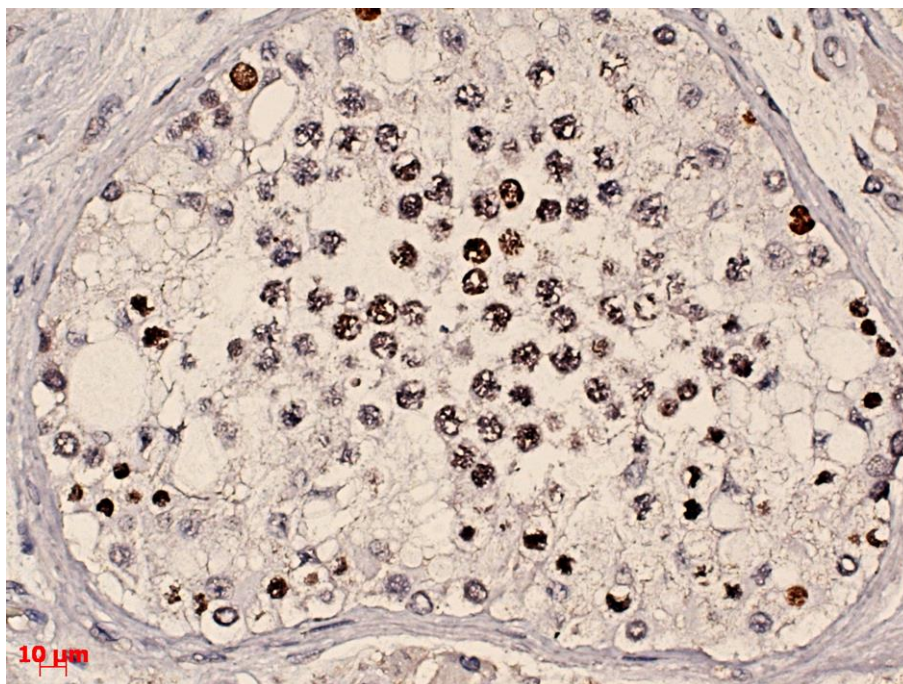


Рисунок 31 – Повышенная экспрессия Ki-67 в ядрах сперматогоний типа Б; экспрессия Ki-67 в сперматогониях А_Т и А_Б близка к контролю. Клеточная ассоциация II типа. Возраст 33 года. Увеличение × 400

В то же время, сперматогонии А_Т и А_Б демонстрировали во всех типах клеточных ассоциаций реакцию с антителами к этим маркерам близкую к контролю.

Также отмечалось положительное окрашивание с антителами к PCNA первичных сперматоцитов, особенно Пах_{СПТЦ} (в клеточных ассоциациях 1,2,3 и 4 типов) и вторичных сперматоцитов. Положительно окрашенные РНЗ фигуры митотического деления в клеточной ассоциации 6 типа отсутствовали (рисунок 32).



Рисунок 32 – Отсутствие фигур митотического деления демонстрирующих положительную реакцию к РННЗ. Клеточная ассоциация VI типа. Возраст 24 года. Увеличение $\times 400$

В ЭС слое экспрессия AR была отчетливо выражена в клеточных ассоциациях сохранивших свой несколько редуцированный клеточный состав. В недифференцированных клеточных ассоциациях, а также в зонах «выпадения» сперматогенных клеток (очаговый синдром «только клетки Сертоли») ядра sustentоцитов демонстрировали пониженную экспрессию AR. А в некоторых ядрах sustentоцитов она отсутствовала (рисунок 33). Наблюдалась также неравномерная зернистость в цитоплазме ИЭ стромы яичек.

Экспрессия ингибина была умеренно выражена в цитоплазме sustentоцитов с сохранившимися клеточными ассоциациями, в то время, как в канальцах с недифференцированными ассоциациями она повышалась, также как и в цитоплазме ИЭ по периферии подобных канальцев (рисунок 34).

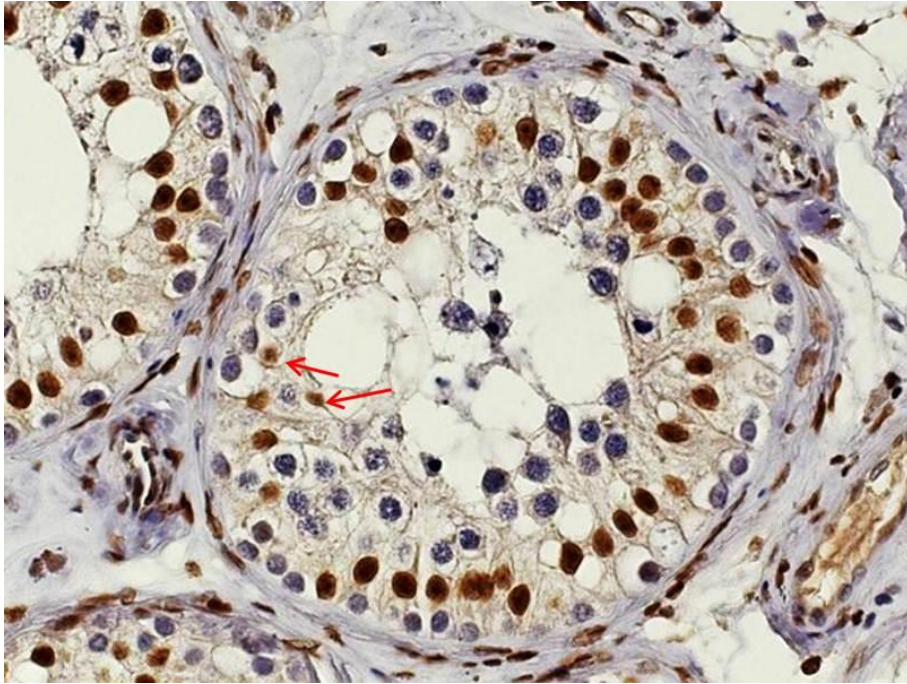


Рисунок 33 – Отсутствие экспрессии AR в некоторых ядрах sustentоцитов в зоне очагового синдрома «только клетки Сертоли». Недифференцированная клеточная ассоциация. Возраст 38 лет. Увеличение $\times 400$

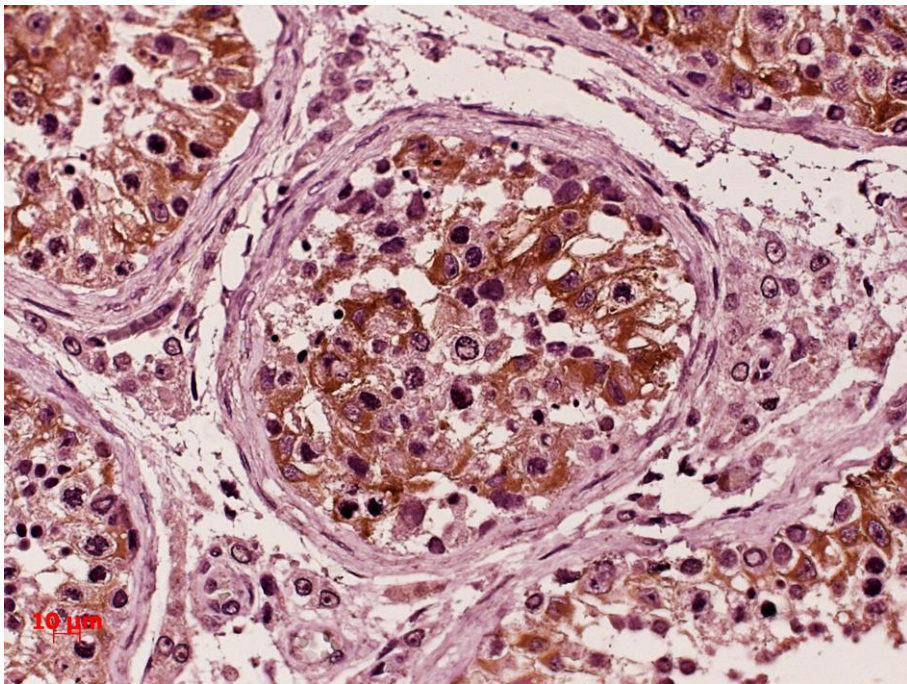


Рисунок 34 – Интенсивная реакция с антителами к Inhibin в цитоплазме sustentоцитов. Недифференцированная клеточная ассоциация. Возраст 33 года. Увеличение $\times 400$

При исследовании экспрессии CD117 в анализируемой группе отмечалось повышение количества позитивных клеток в ЭС слое. При этом, в дифференцированных клеточных ассоциациях, особенно в составе клеточных ас-

социаций I и II, CD117+ клеточные элементы располагались в виде пар или коротких цепочек по базальной мембране, контактируя друг с другом. В некоторых полях зрения парно окрашенные клетки, располагались практически перпендикулярно базальной мембран, как бы наполняя на рядом расположенные сперматогонии (рисунок 35). Некоторое утолщение стенки канальцев, которое отмечалось в яичках лиц этой группы, сопровождалось также появлением в клеточном слое перитубулярных миоцитов CD117+ клеточных элементов. Распределение подобных клеток в интерстиции, было равномерное.

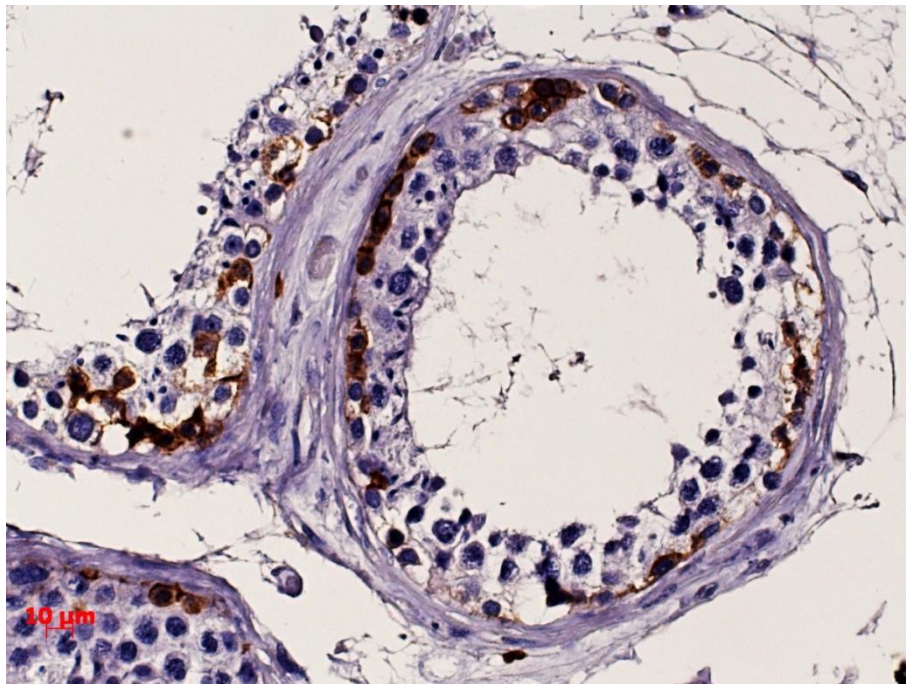


Рисунок 35 – Повышение количества CD117 положительных с мембранным окрашиванием сперматогоний в ЭС слое половых желез. Расположение сперматогоний в виде цепочек, а также двуслойная локализация сперматогоний. Недифференцированная клеточная ассоциация. Возраст 22 года. Увеличение $\times 400$

Заключение

При анализе изменений в яичках, мужчин погибших через 6-9 суток после ЧМТ, установлено, что при данном сроке после ЧМТ, происходило уменьшение массы яичек на 37% по сравнению с контрольной группой. Объем белочной оболочки достоверно не отличался от данного показателя кон-

трольной группы. Несколько уменьшался объем сети яичка (однако, оставаясь больше контрольной величины на 33%), что свидетельствовало о значительном уменьшении десквамативных процессов ЭС слоя. Также отмечалось уменьшение на 41% объема семенных канальцев и выраженное по сравнению с контролем уменьшение фракции ИСТ на 38%, ИЭ на 52%, а капиллярной сети на 68%. При детальном анализе цитологического профиля сперматогенеза, установлено что уже через 6-9 суток после ЧМТ, наблюдаются более глубокие деструктивные изменения ЭСС и обнаруживаются более выраженные изменения в процессе мейоза, т.к. количество практически всех типов сперматогенных клеток, входящих в состав клеточной ассоциации VI типа, значительно снижено. Выявленные деструктивные изменения приводили к возникновению недифференцируемых клеточных ассоциаций и формированию очагового синдрома «только клетки Сертоли».

3.4. Морфологические изменения яичек при смерти от ЧМТ через 15 суток и более

Материалом для этого раздела послужило гистологическое, морфометрическое и ИГХ исследование яичек от 7 практически здоровых лиц, в возрасте от 28 до 54 лет, погибших в стационаре через 15 суток и более после ЧМТ. Среднее значение возраста в данной группе составляло $43,6 \pm 3$ года.

Сроки госпитализации, перед наступлением смерти от ЧМТ в вышеуказанных случаях составляли: 1 случай – 15 суток, 1 случай – 18 суток, 1 случай – в течение 23 суток, 1 случай – 25 суток, 1 случай – 35 суток, 1 случай 71 сутки, 1 случай – 85 суток. Во всех случаях лечение пострадавших проводилось в соответствии со стандартами специализированной медицинской помощи при внутричерепной травме. Повреждения головного мозга в перечисленных случаях были представлены: в 3 случаях - ушибами головного мозга в затылочной доле и правой височной доле, субарахноидальными кровоизлияниями в проекции указанных долей, правосторонними субдуральными гематомами объемами от 50 мл и 130 мл; в 2 случаях – линейными переломами

костей свода и основания черепа, ушибами головного мозга в лобных долях, диффузными, пластинчатыми субарахноидальными кровоизлияниями, правосторонними субдуральными гематомами объемами от 80 мл до 110 мл; в 2 случаях – ушибами головного мозга в левой височной и левой теменной долях, левосторонними, пластинчатыми субарахноидальными кровоизлияниями, левосторонними субдуральными гематомами объемом от 40 мл до 110 мл; Во всех указанных случаях, область турецкого седла была интактной. При химико-токсикологическом исследовании крови и мочи погибших, этанол и его суррогаты, наркотические и психотропные вещества не обнаружены.

При макроскопическом исследовании, яички дряблые, покрыты тонкой бледно-серого цвета белочной оболочкой. Паренхима яичек на разрезе желтовато-сероватого цвета. В области средостения располагаются единичные прослойки плотной соединительной ткани.

Масса яичек у мужчин, погибших через 15 и более суток после ЧМТ, достоверно снижена на 45% в сравнении с данным показателем группы сравнения и контроля и составляла $21,08 \pm 0,8$ г (таблица 2 приложения). Указанное снижение массы может являться выраженной атрофией яичек, как следствие нарушения нейрогуморальной регуляции вызванной посттравматической гипофизарной недостаточностью.

Белочная оболочка

Белочная оболочка истончена, покрыта мезотелием, количество фибробластов, гистиоцитов снижено, тучные клетки в умеренном количестве. Коллагеновые, эластические волокна тонкие, располагаются компактно в слоях оболочки. Абсолютный объем белочной оболочки яичек у мужчин, погибших от ЧМТ в поздние сроки, составляет в среднем $3,97 \pm 0,19$ см³ (таблица 2 приложения), что на 31% меньше аналогичного показателя группы сравнения и контроля.

Сеть яичек

Канальцы сети деформированы, просвет канальцев несколько сужен, в просвете располагается клеточный детрит. По внутренней стенке канальцев сети располагаются сустентоциты, преимущественно кубической формы. Их ядра имеют овальную форму. Цитоплазма сустентоцитов бледная, с некоторой зернистостью и единичными вакуолями. Соединительная ткань сети половой железы содержит фибробласты, единичные тучные клетки, а также коллагеновые и эластические волокна. Абсолютный объем сети составляет $1,02 \pm 0,21 \text{ см}^3$ (таблица 2 приложения), что на 42% меньше показателя абсолютного объема сети яичек группы сравнения и контроля.

Извитые семенные канальцы

Коллагеновые и эластические волокна, стенки извитых семенных канальцев, разрыхлены, утолщены. Средняя толщина стенки канальцев у лиц, погибших от ЧМТ в поздние сроки, составляет $12,6 \pm 0,9 \text{ мкм}$ и достоверно больше на 62%, аналогичного показателя контрольной группы лиц II периода среднего возраста (таблица 2 приложения). При этом, площадь поперечного сечения канальцев, в данной группе составляет $37,5 \pm 1,93 \text{ мкм}^2$ и достоверно не отличается от аналогичного показателя контрольной группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения).

Абсолютный объем канальцев, в данной группе составляет $9,03 \pm 0,41 \text{ см}^3$ и достоверно снижен на 51% относительно аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения).

Во всех наблюдениях отмечалось нарушение дифференцировки сперматогенных клеток очагового характера. Канальцы с недифференцированными клеточными ассоциациями (в которых имеются сперматогонии и сперматоциты, но отсутствуют сперматиды) появляются уже при сроках переживания после ЧМТ 6-9 суток, однако в исследуемой группе они обнаруживались значительно чаще (рисунок 36).

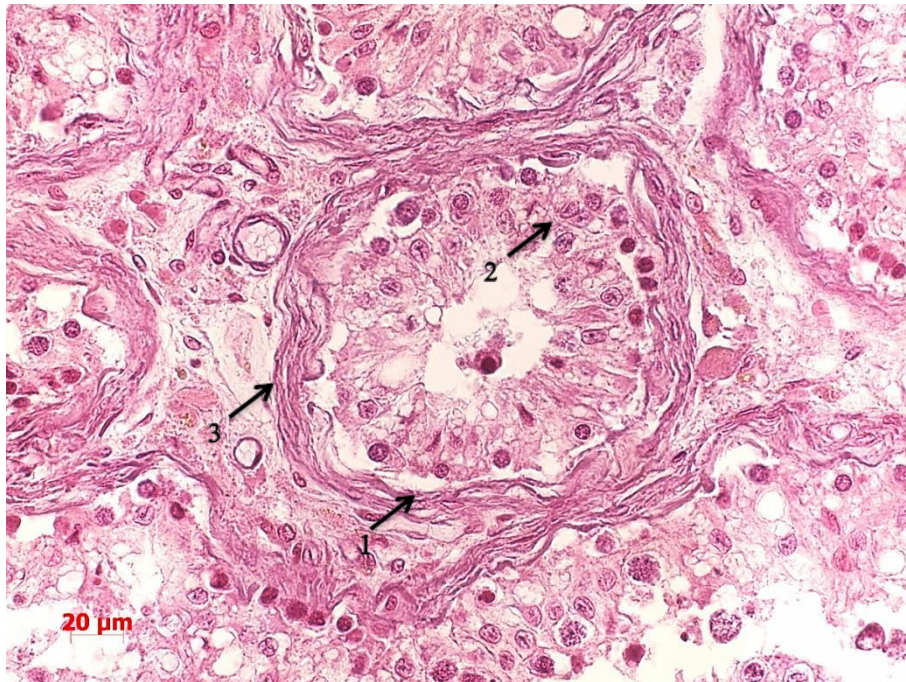


Рисунок 36 – Недифференцированная клеточная ассоциация. 1- складки базальной мембраны, 2-многослойное расположение sustentоцитов, 3- значительное утолщение стенки канальца. Возраст 46 лет, смерть через 23 дня после ЧМТ. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Количество канальцев с недифференцированными клеточными ассоциациями составляло в среднем 43% от всех канальцев на плоскости гистологического среза. В то же время, в клеточных ассоциациях всех шести типов, выявлено значительное уменьшение клеток, входящих в эти ассоциации. Наряду с этим, определяются отдельные канальцы, даже группы канальцев, в которых сохранены только sustentоциты (рисунок 37). Количество таких канальцев составляло в среднем 16%.

В некоторых наблюдениях определялись резко уменьшенные в объеме, спавшиеся канальцы с гиалинизированными или склерозированными стенками, в которых центральный просвет едва различим, а клеточные элементы эпителиосперматогенного слоя отсутствовали.

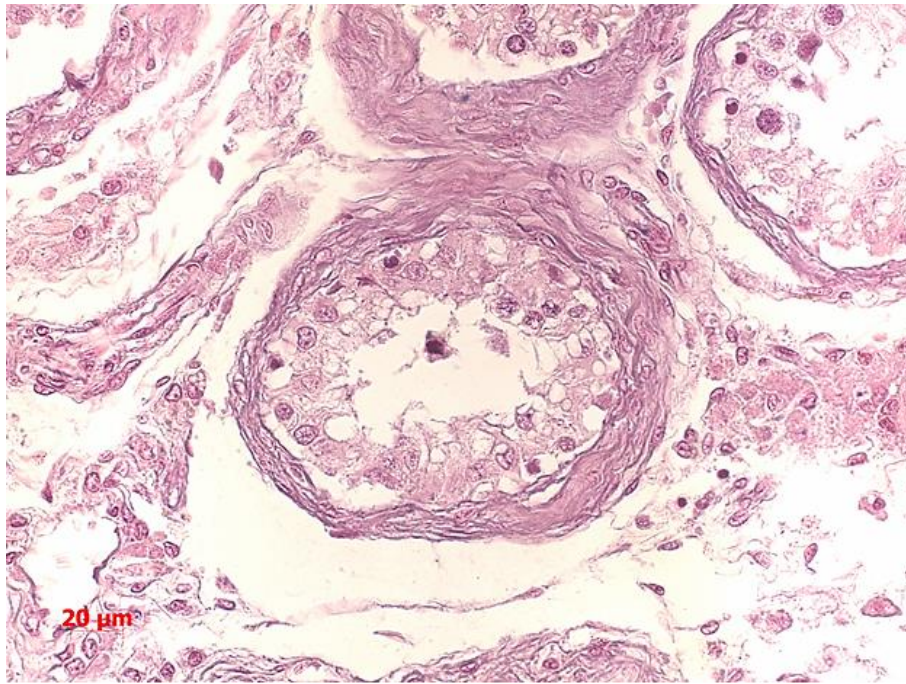


Рисунок 37 – Каналец с сохраненными sustentоцитами. Синдром «только клетки Сертоли». Возраст 46 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Клеточная ассоциация I типа. Сперматогонии A_T единичные, располагались на базальной мембране канальца. Взвешенное среднее соотношения A_T к sustentоцитам в данной группе, составляет $0,17 \pm 0,002$ и достоверно на 51% меньше данного параметра группы сравнения и контроля (таблица 10 приложения). В отношении сперматогоний A_B , каких либо изменений не выявлено, соотношение A_B к sustentоцитам составляет $0,52 \pm 0,08$ и не имеет достоверных отличий от этого же показателя группы сравнения и контроля (таблица 10 приложения).

Сперматогонии типа Б, единичные, располагались на базальной мембране (рисунок 38). Численность сперматогоний типа Б, составляет $4,1 \pm 0,21$, что достоверно меньше на 60% количества сперматогоний типа Б в группе сравнения и контроля, соотношение к sustentоцитам, также достоверно снижено на 49% и составляет $0,26 \pm 0,02$ относительно данного показателя контрольной группы (таблица 10 приложения). Снижение количества сперматогоний A_T может являться процессом усиления дифференцировки A_T в A_B для поддержания популяции последних.

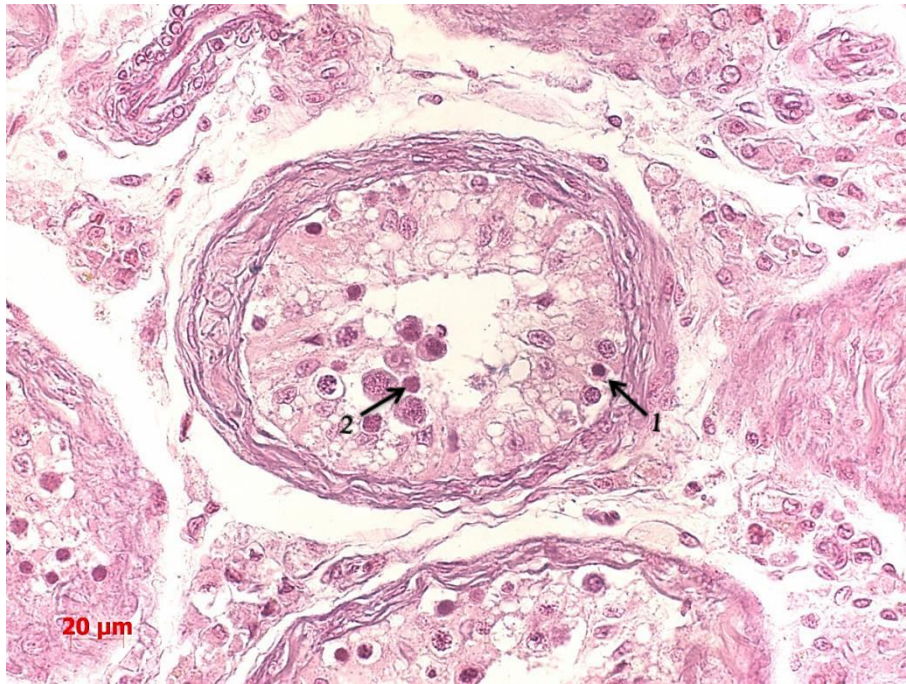


Рисунок 38 – Клеточная ассоциация I типа. 1. Единичная сперматогония типа Б, 2. Единичные сперматиды C_A . Возраст 38 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Пахитенные сперматоциты располагались маленькими группами. Взвешенное среднее соотношения Пах_{СПТЦ} к sustentоцитам составляет $0,37 \pm 0,008$, что на 79% меньше аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 10 приложения).

Сперматиды типа C_A группами по 2-3 штуки, располагались в верхних слоях эпителиосперматогенного слоя. Взвешенное среднее соотношения сперматиды C_A к sustentоцитам в группе лиц погибших от ЧМТ в поздние сроки, составляет $0,37 \pm 0,09$ и достоверно ниже на 85% аналогичного показателя группы сравнения и контроля (таблица 10 приложения).

Сперматиды типа C_D располагаются в верхних отделах ЭС слоя, единичные, некоторые из них десквамированы в просвет канальца. Взвешенное среднее соотношения сперматиды C_D к sustentоцитам составляет $0,28 \pm 0,04$ и достоверно меньше на 88%, данного показателя контрольной группы (таблица 10 приложения).

Выявленные снижения количества сперматид и сперматоцитов, может являться результатом процесса резкого торможения дифференцировки их клеток предшественников.

Клеточная ассоциация II типа. В данной клеточной ассоциации отмечалось снижение всех сперматогенных клеток за исключением сперматогоний A_B . В толще ЭС слоя наблюдалось больше количество вакуолей и гибнущих клеток. Деструктивные изменения этих клеток характеризовались изменением формы и пикнозом их ядер, вакуолизацией цитоплазмы и постепенным перемещением от базальной мембраны в просвет канальца.

Взвешенное среднее соотношения A_B к sustentоцитам составляет $0,47 \pm 0,01$ и достоверно не отличается от данного показателя группы контроля. Взвешенное среднее соотношения сперматогоний A_T к sustentоцитам составляет $0,16 \pm 0,02$, что на 40% достоверно меньше аналогичного показателя в группы сравнения и контроля. Взвешенное среднее соотношение сперматоцитов типа Б и пахитенных сперматоцитов составляет соответственно $0,24 \pm 0,02$ и $0,55 \pm 0,01$. Данные показатели достоверно меньше на 49% и 67% соответственно, показателей группы контроля (таблица 10 приложения).

Также отмечалось значительное снижение соотношения сперматид C_A и C_D , которое составляет $0,3 \pm 0,06$ и $0,39 \pm 0,1$ соответственно, что на 87% и 66% меньше данных показателей группы контроля (таблица 10 приложения). В некоторых полях зрения, поздние сперматиды C_D располагались конгломератами частично десквамированными в просвет канальца (рисунок 39).

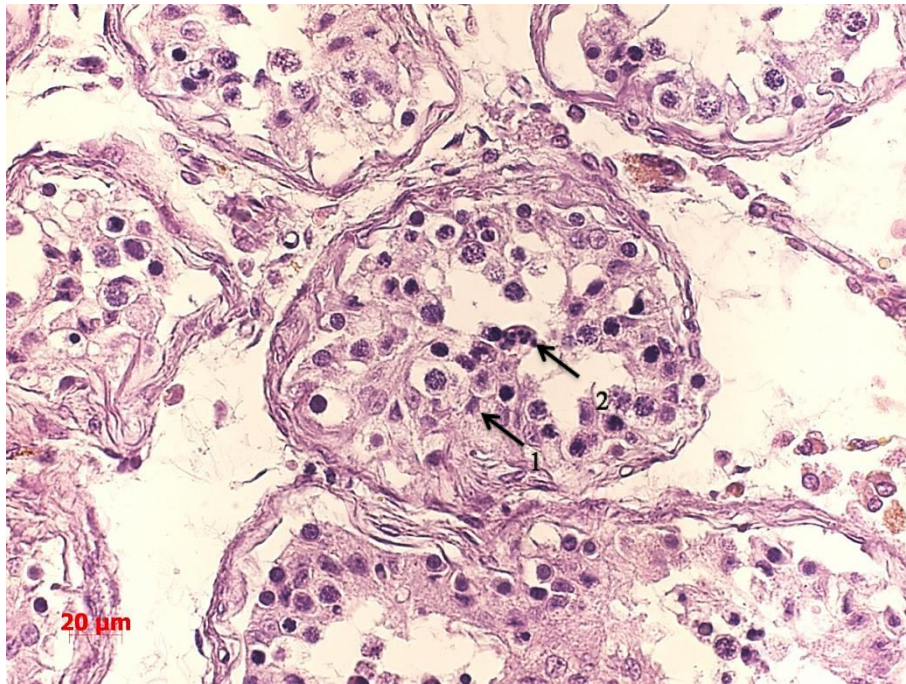


Рисунок 39 – Клеточная ассоциация II типа. 1. Гибнущие клетки. 2. Конгломерат поздних сперматид С_д. Возраст 40 лет, смерть через 15 суток после ЧМТ. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Отмеченное снижение всех типов клеток ЭС слоя, может являться проявлением процесса торможения дифференцировки сперматогенных клеток.

Клеточная ассоциация III типа. При анализе данной ассоциации, обращало на себя внимание выраженная вакуолизация ЭС слоя, отмечалась экстрапозиция сперматид Б_о, их перемещение ближе к базальной мембране (рисунок 40).

Отмечалось снижение всех сперматогенных клеток входящих в данную ассоциацию, за исключением сперматогоний А_т. Взвешенное среднее сперматогоний А_т составляет $0,3 \pm 0,09$, что достоверно не отличается от аналогичного показателя группы сравнения и контроля.

Соотношение к sustentocytam сперматогоний А_б, прелептотенных, пахитенных сперматоцитов и сперматид Б_о в данной ассоциации, составляет $0,32 \pm 0,04$; $0,24 \pm 0,04$; $0,4 \pm 0,06$ и $0,28 \pm 0,04$ соответственно, что на 33%, 57%, 74% и 90% меньше показателей группы сравнения и контроля (таблица 10 приложения).

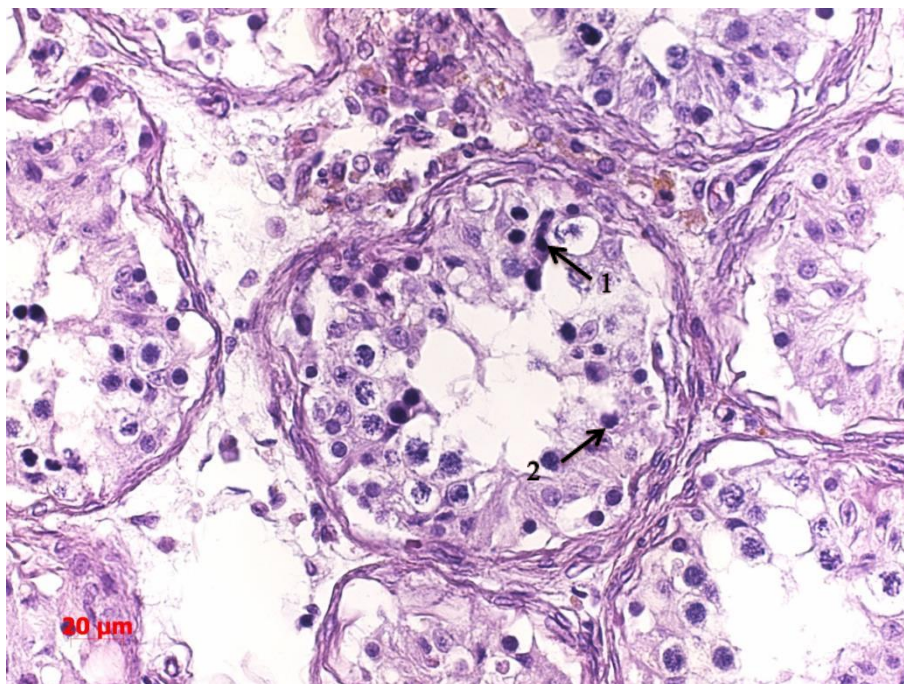


Рисунок 40 – Клеточная ассоциация III типа. 1- Экстрапозиция сперматид B_0 . 2- Выявленная вакуолизация ЭС слоя. Возраст 40 лет, смерть через 15 суток после ЧМТ. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Выявленное уменьшение количества сперматогенных клеток может являться проявлением нарушения фазы размножения и роста.

Клеточная ассоциация IV типа. В данной клеточной ассоциации так же выявлялись значительные изменения. Отмечалась значительная вакуолизация ЭС слоя. В некоторых полях зрения обнаруживались сегментарные участки полного отсутствия сперматогенных клеток, при этом sustentocytes смещались к просвету канальца. В просвет канальца десквамированы единичные сперматиды B_0 и пахитенные сперматоциты (рисунок 41).

Взвешенное среднее соотношения к sustentocytes, всех клеток входящих в данную ассоциацию, за исключением сперматогоний A_T значительно снижено. Взвешенное среднее соотношение сперматогоний A_T составляет $0,19 \pm 0,04$ и достоверно не отличается от показателя контроля.

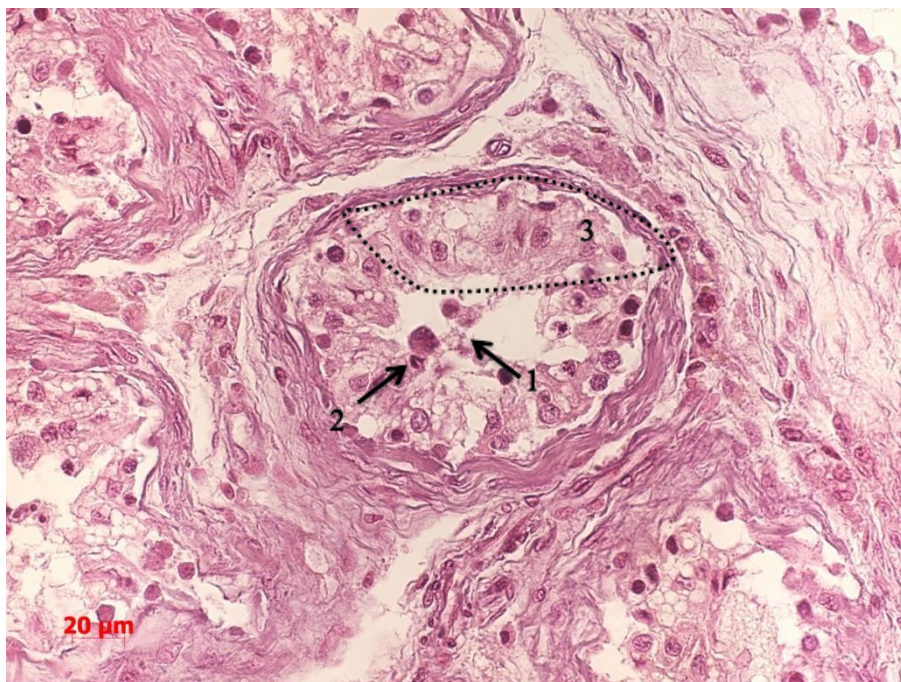


Рисунок 41 – Клеточная ассоциация IV типа. 1. Десквамация сперматиды в просвет канальца, 2. Десквамация пахитенного сперматоцита в просвет канальца, 3. Сегментарное отсутствие сперматогенных клеток. Возраст 46 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Взвешенное среднее соотношение сперматогоний A_B , лептотенных, пахитенных сперматоцитов и сперматид B_0 , составляет $0,31 \pm 0,03$; $0,24 \pm 0,04$; $0,38 \pm 0,07$ и $0,28 \pm 0,05$, что на 38%, 49%, 70% и 90% соответственно, меньше аналогичных показателей группы сравнения и контроля (таблица 10 приложения).

Клеточная ассоциация V типа. В данной клеточной ассоциации также наблюдались значительные изменения клеточного состава ЭС слоя. Взвешенное среднее соотношения сперматогоний A_T к сустентоцитам снижено на 58% и составляет $0,14 \pm 0,0003$ (таблица 10 приложения). В толще ЭС слоя, множественные вакуоли и десквамация лептотенных сперматоцитов и сперматид C_C в просвет канальца (рисунок 42).

Взвешенно среднее соотношение сперматогоний A_B к сустентоцитам составляет $0,52 \pm 0,017$, что на 18% ниже данного показателя группы контроля. Лептотенные сперматоциты располагались небольшими группами в верхних отделах ЭС слоя, взвешенное среднее соотношения составляет

0,41±0,04 и достоверно не отличается от аналогичного показателя группы контроля (таблица 10 приложения).

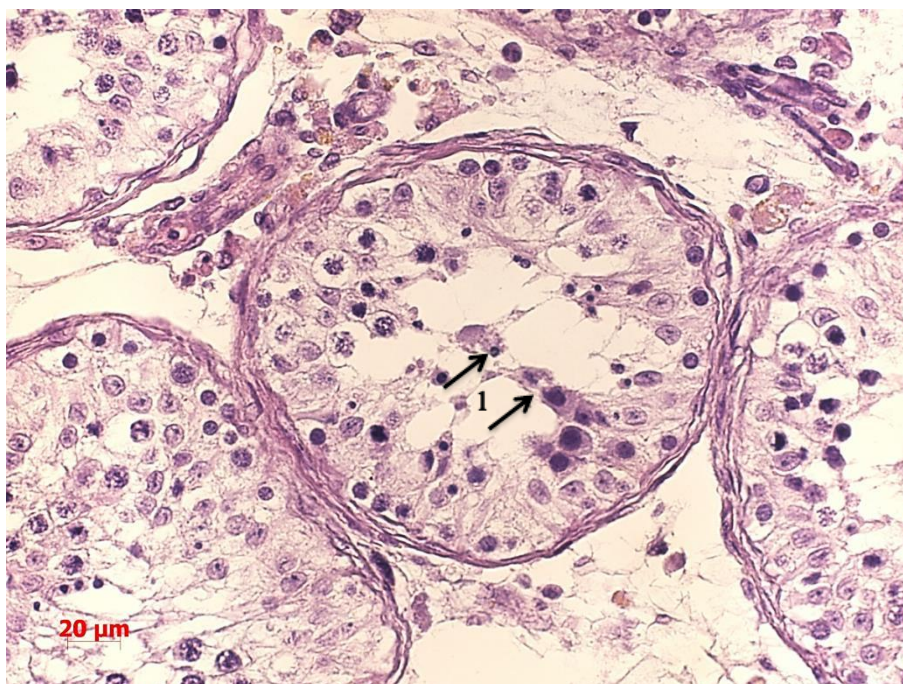


Рисунок 42 – Клеточная ассоциация V типа. 1-Десквамация лептотенных сперматоцитов и сперматид S_C . Возраст 40 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Взвешенное среднее соотношения пахитенных сперматоцитов и сперматид S_C к сустентоцитам, составляет 0,43±0,009 и 0,63±0,05, что на 70% и 77% соответственно, меньше данных показателей группы контроля (таблица 10 приложения).

Клеточная ассоциация VI типа. В данной ассоциации наблюдалась картина множественных вакуолей в толще ЭС слоя. Сперматоциты II порядка располагались пластами в верхних отделах ЭС слоя, единичные из них десквамированы в просвет канальца. Отмечалось многослойное расположение сустентоцитов (рисунок 43). Взвешенное среднее соотношение всех клеток, за исключением сперматогоний A_B , к сустентоцитам значительно снижено.

Взвешенное среднее соотношение сперматогоний A_B к сустентоцитам составляет 0,54±0,08 и достоверно не отличается от показателя контрольной группы (таблица 10 приложения).

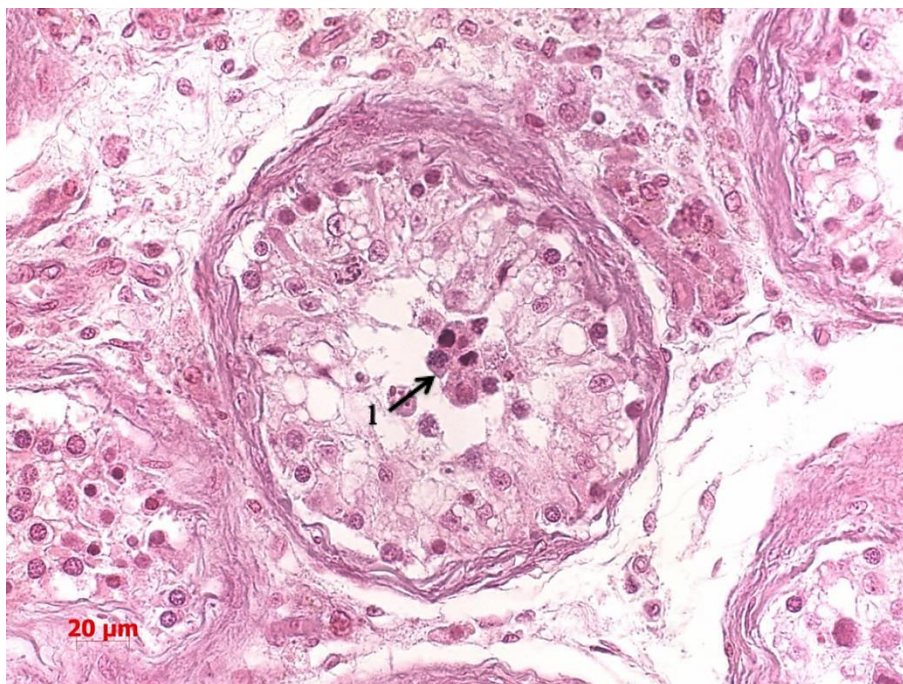


Рисунок 43 – Клеточная ассоциация VI типа. 1 – Десквамация сперматоцитов II порядка. Возраст 46 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Взвешенное среднее соотношение сперматогоний A_T составляет $0,12 \pm 0,01$, что на 71% ниже аналогичного показателя контрольной группы.

Взвешенное среднее соотношения зиготенных, диплотенных сперматоцитов и сперматоцитов II порядка составляет $0,28 \pm 0,03$; $0,45 \pm 0,004$ и $0,31 \pm 0,006$, что на 46%, 57% и 57% соответственно, меньше значения данного показателя группы контроля. Наряду с этим, так же снижен индекс соотношения поздних сперматид S_C , который составляет $0,35 \pm 0,005$, что на 76% ниже возрастного контроля.

Опорно-трофические структуры ЭС слоя, в частности сустентоциты, во всех 6 клеточных ассоциациях не претерпевали каких либо значительных изменений. Взвешенное среднее количество сустентоцитов, у лиц, погибших через 15 и более суток после ЧМТ, составляет $18,5 \pm 0,51$ и достоверно не отличается от количества сустентоцитов в группы сравнения и контроля. Необходимо отметить, что в отдельных полях зрения в извитых семенных канальцах исследуемой группы лиц наблюдался выраженный гиалиноз извитых семенных канальцев (рисунок 44), указывающий на глубокие деструктивные

изменения ЭС слоя, а также соединительнотканых структур стенки канальца.

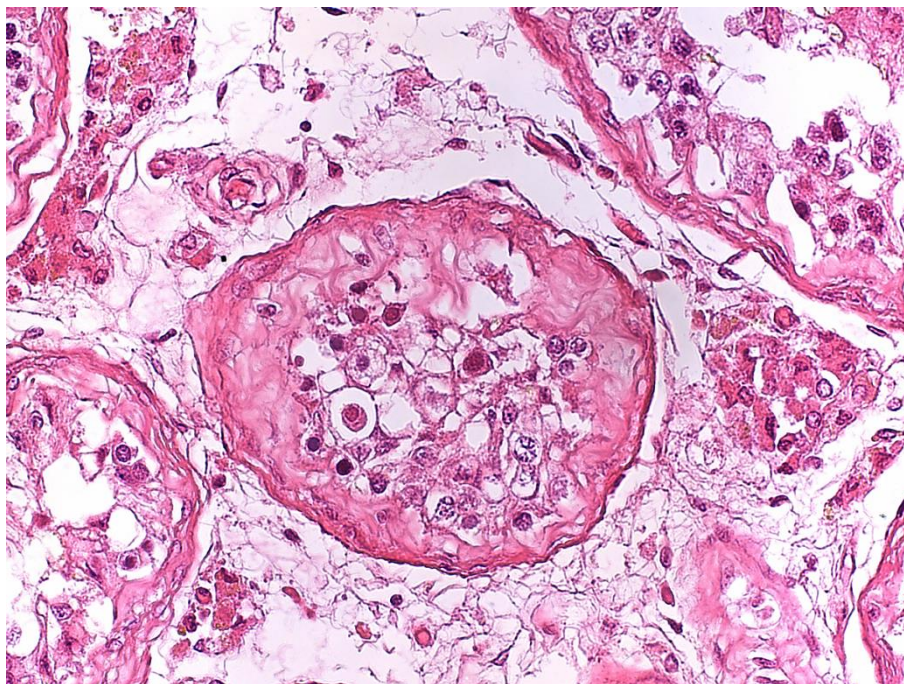


Рисунок 44 –Гиалиноз канальцев. Возраст 40 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$

Межканальцевая ИСТ. Количество соединительно тканых клеточных элементов, в строме половых желез, лиц погибших в поздние сроки после ЧМТ заметно снижалось. В междольковых прослойках соединительной ткани, коллагеновые волокна хорошо выражены и располагались компактно. Волокнистые структуры значительно разрыхлены между извитыми канальцами. Взвешенная средняя абсолютного объема межканальцевой ИСТ, в данной группе составляет $7,06 \pm 0,28 \text{ см}^3$ и на 45% достоверно ниже аналогичного параметра группы сравнения и контроля (таблица 2 приложения). Данное снижение абсолютного объема, может являться признаком выраженной атрофии половых желез вызванной травмой.

Гландулоциты, располагавшиеся в строме половых желез, немногочисленны. Преимущественно округлой или овальной формы. Некоторые glandулоциты набухшие, с ядрами овальной формы с конденсированным хроматином по периферии. В некоторых полях зрения отмечались glandулоциты с округлыми ядрами и лизисом хроматина (рисунок 45).

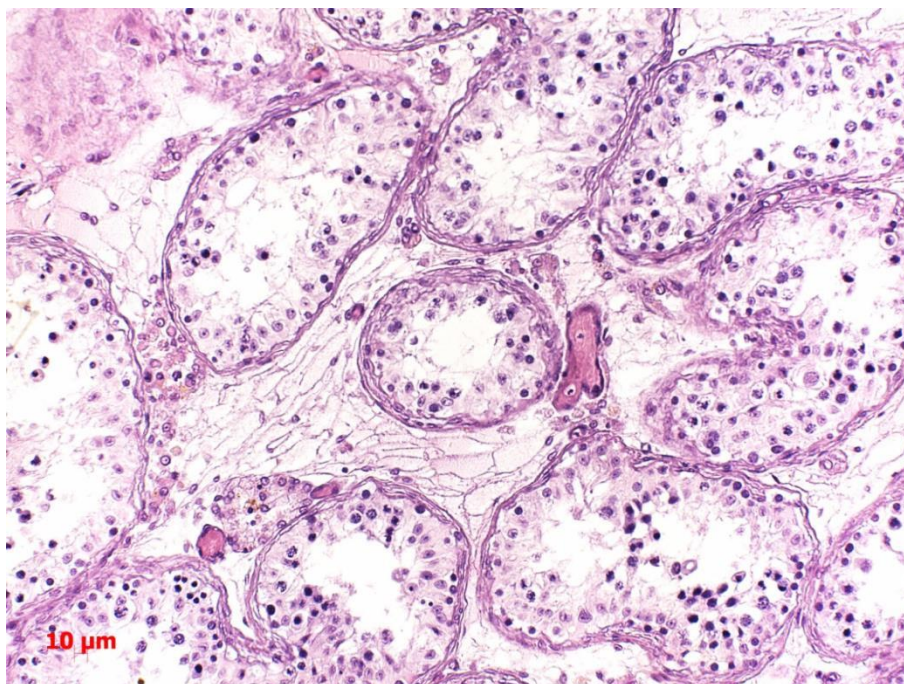


Рисунок 45 – Значительное уменьшение эндокриноцитов. Недифференцированные клеточные ассоциации. Возраст 40 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$

Взвешенная средняя абсолютного объема эндокриноцитов составляет $0,54 \pm 0,07 \text{ см}^3$, что на 42% меньше данного показателя группы контроля (таблица 2 приложения). Указанное снижение объема эндокриноцитов, может быть следствием нарушения нейрогуморальной регуляции, вызванной посттравматической гипофизарной недостаточностью.

Иммуногистохимическое исследование

При ИГХ исследование с антителами к PCNA и Ki-67 у лиц, погибших через 15 и более суток после ЧМТ, в типичных дифференцированных клеточных ассоциациях, обнаруживалось увеличение количества положительно окрашенных ядер сперматогоний A_T в ассоциациях I, II, V и VI типов. А также сперматогоний B в ассоциациях I и II типов. Положительное окрашивание с антителами к PCN наблюдалось в первичных сперматоцитах: Прел_{СППЦ}, Лепт_{СППЦ}, Пах_{СППЦ} и вторичных диплотенных сперматоцитов. РННЗ экспрессируется в делящихся сперматогониях (преимущественно A_T), а также в не-

многочисленных фигурах митотического деления в клеточной ассоциации 6 типа.

В недифференцированных клеточных ассоциациях сохранившиеся сперматогенные клетки демонстрировали увеличение положительно окрашенных с антителами к PCNA и Ki-67 клеток.

При этом в сохранившемся пласте сперматогоний положительно окрашенные сперматогонии A_T и A_B располагаются на базальной мембране канальцев, плотно прилегая друг к другу, образуя цепочечные структуры, которые как бы заполняют образовавшиеся зоны «выпадения» (рисунок 46).

Экспрессия AR в ядрах sustentocитов обнаруживается в дифференцированных клеточных ассоциациях. В зонах очагового синдрома ТКС экспрессия AR не регистрируется (рисунок 47). В ядрах миоидных клеток стенки канальцев экспрессия AR повышена. Она также несколько усилена в ядрах ИЭ, которые обнаруживаются по периферии опустошенных канальцев. Вместе с этим, в ядрах некоторых ИЭ экспрессия AR отсутствует.

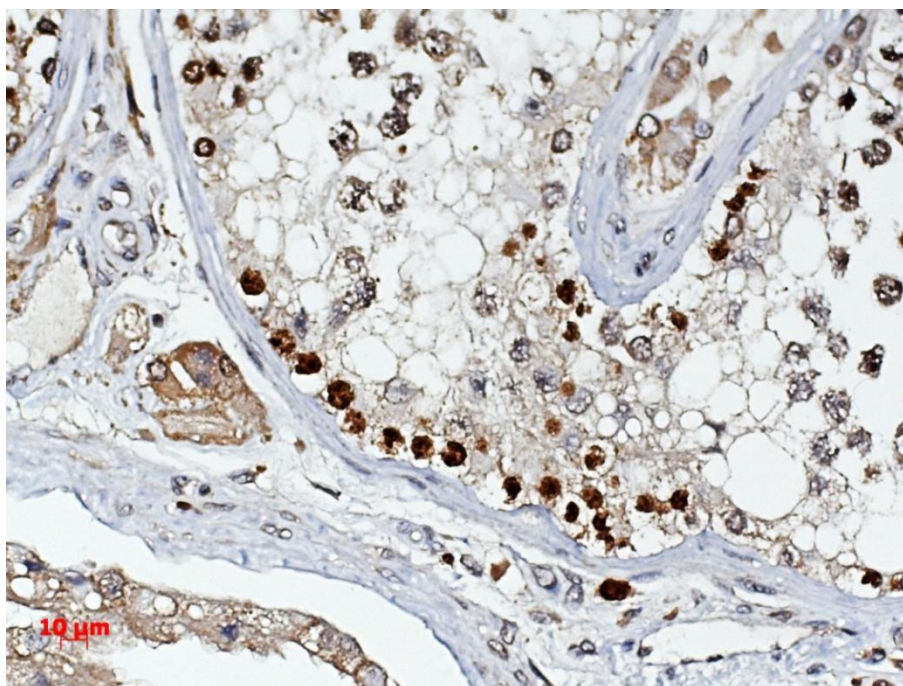


Рисунок 46 – Повышенная экспрессия Ki-67 в ядрах сперматогоний A_T и A_B и их линейное цепочечное расположение на базальной мембране канальца. Недифференцированная клеточная ассоциация. Возраст 54 года. Увеличение $\times 400$

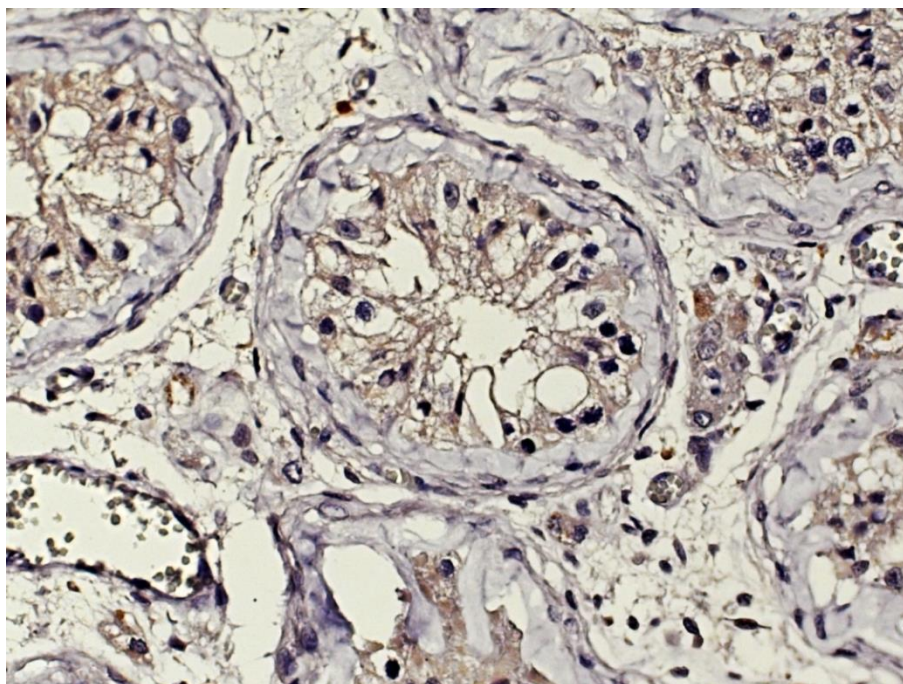


Рисунок 47 – Отсутствие экспрессии AR в ядрах сустентоцитов синдром «только клетки Сертоли». Недифференцированная клеточная ассоциация. Возраст 28 лет. Увеличение $\times 400$

Экспрессия ингибина в ЭС слое половых желез этой группы лиц имела «пестрый» характер. С одной стороны она слабо выражена в цитоплазме сустентоцитов в дифференцированных клеточных ассоциациях. В недифференцированных клеточных ассоциациях она повышена. И цитоплазме сустентоцитов с очаговым синдромом «только клетки Сертоли» проявлялась максимально (рисунок 48). Аналогичная «пестрота» интенсивности реакции с антителами к Inhibin обнаруживалась в цитоплазме перитубулярных ИЭ. Неравномерность ИГХ реакции также отмечалась и в цитоплазме периваскулярных эндокриноцитов.

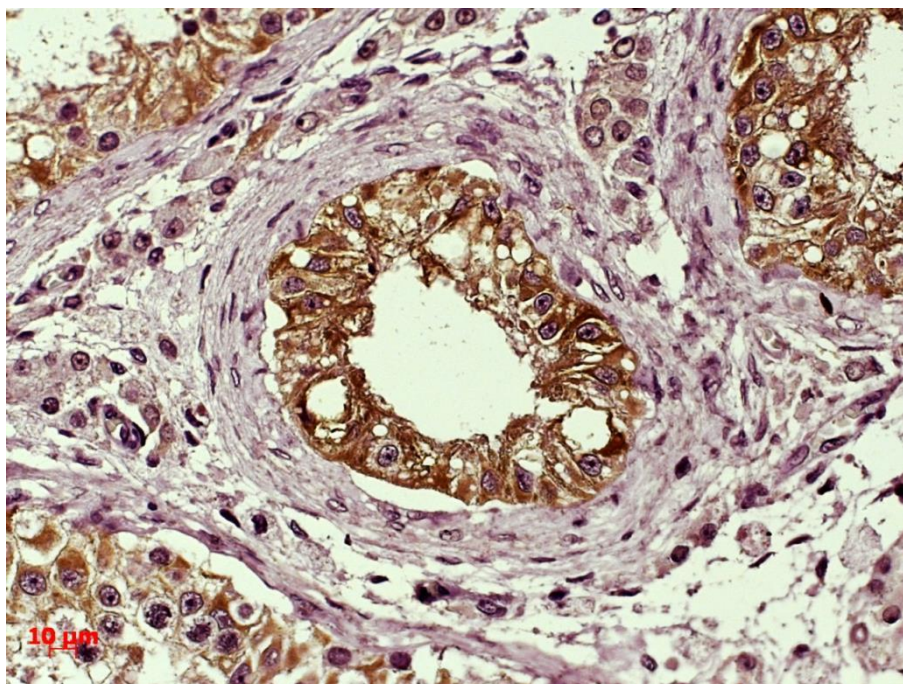


Рисунок 48 – Максимально выраженная реакция с антителами к Inhibin в цитоплазме sustentоцитов. Синдром «только клетки Сертоли». Возраст 33 года. Увеличение $\times 400$

При анализе мембранной экспрессии CD117 в ЭС канальцев, особенный интерес представляли особенности ИГХ реакции в недифференцированных клеточных ассоциациях. Экспрессия CD117 в недифференцированных клеточных ассоциациях была выражена интенсивно в сперматогониях А_Т, А_Б, а также в сперматогониях, изолированно расположенных, имеющих удлиненные ядра (рисунок 49). В подобных канальцах CD117+ сперматогонии располагались непрерывной цепочкой. Лишь единичные сперматогонии не имели положительного окрашивания. В яичках лиц, погибших в отдаленные сроки после черепно-мозговой травмы не было обнаружено положительной реакции с CD117 в sustentоцитах, а также в других типах сперматогенных клеток: сперматоцитах I, II порядка, ранних и поздних сперматидях.

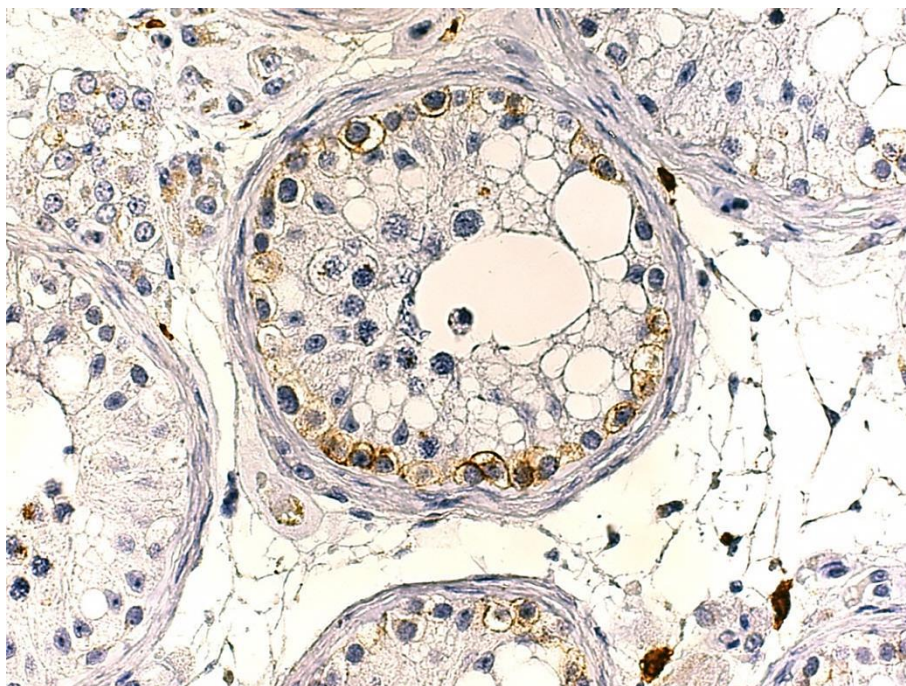


Рисунок 49 – Субтотальная мембранная экспрессия CD 117 в сперматогониях различного типа. Недифференцированная клеточная ассоциация. Возраст. 35 лет. Увеличение $\times 400$

Вместе с этим, в утолщенных и деформированных стенках извитых семенных канальцев определялись клетки CD117+, даже в случаях с полной герминальной аплазией и синдромом «только клетки Сертоли». В интерстиции яичек, в отдаленные сроки после ЧМТ отмечалась гиперплазия CD117+ клеточных элементов, имеющая очаговый характер (рисунок 50).

Как правило, эти очаги обнаруживались в межканальцевой соединительной ткани вблизи канальцев с атрофическими изменениями ЭС слоя.

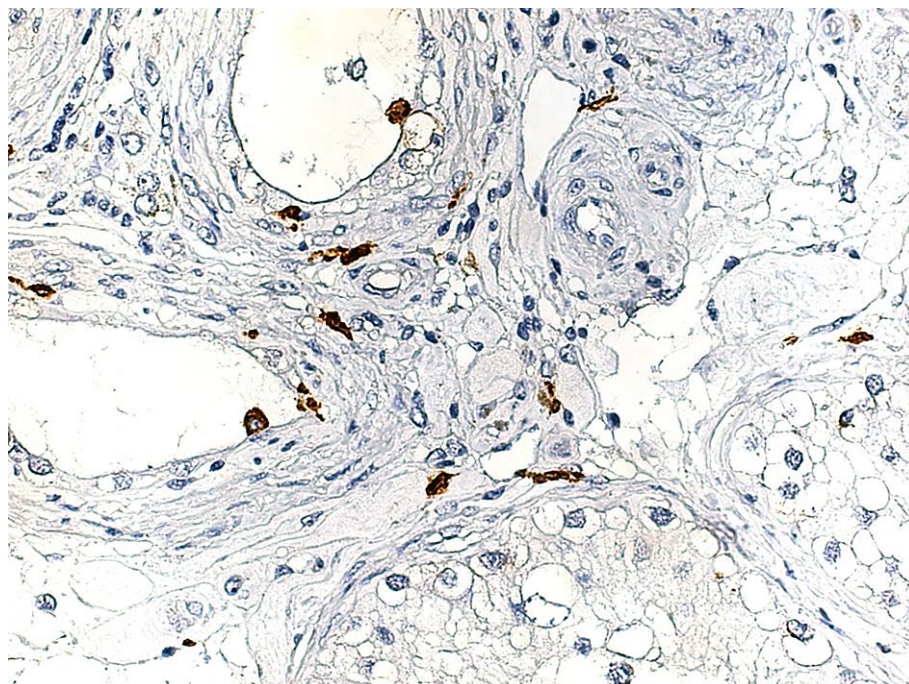


Рисунок 50 – Очаговое увеличение CD117 положительных клеточных элементов в межканальцевой соединительной ткани. Возраст 42 года. Увеличение $\times 400$

Заключение

При анализе изменений в яичках, мужчин погибших через 15 суток и более после ЧМТ установлено, что происходит уменьшение массы яичек на 45% по сравнению с контрольной группой, уменьшение объемной фракции тканевых компонентов, составляющих орган: белочной оболочки, сети яичка, извитых семенных канальцев. При детальном анализе цитологического профиля сперматогенеза, установлено достоверное снижение среднего количества сперматогенных клеток, на основных этапах сперматогенеза: а именно на этапах роста, созревания и формирования, что в целом может быть охарактеризовано как «пестрая атрофия половых желез». Деструктивные изменения в эпителио-сперматогенном слое канальцев, лиц погибших в поздние сроки после ЧМТ ведут к очаговому, а затем и к тотальному синдрому «только клетки Сертоли», что и является морфологической основой транзиторной герминальной аплазии.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведен комплексный, морфологический, морфометрический и иммуногистохимический анализ яичек мужчин репродуктивного возраста погибших от ЧМТ на месте происшествия (19 секционных наблюдений) и в различные временные промежутки после тяжелой ЧМТ (26 секционных наблюдений). Сроки длительности ЧМТ, по данным медицинских карт стационарных больных, составляли от 1 суток до 85 суток.

Лица, входившие в группу погибших через 1-3 суток, при поступлении в лечебное учреждение находились в бессознательном состоянии, по клиническим данным кома 3 степени регистрировалась в 5 случаях, кома 2 степени в 3 случаях, кома 1 степени в 1 случае. При поступлении всем пострадавшим проводилась интубация трахеи с последующей искусственной вентиляцией легких и противошоковая терапия. Проводилась коррекция гиповолемии и артериальной гипотензии, проводилась инфузионная терапия. В одном случае проводилась декомпрессионная трепанация черепа в правой височно-теменной области с удалением субдуральной гематомы объемом 150 мл. При судебно-медицинском исследовании трупов данных лиц, установлено: очаги ушиба головного мозга локализовались в лобных, височных, теменных и затылочной долях, субдуральные кровоизлияния носили левосторонний и правосторонний характер, гипоталамус и гипофиз во всех случаях были не повреждены. При судебно-гистологическом исследовании головного мозга, отмечалось резкое полнокровие сосудов мягкой мозговой оболочки, лейкостазы, утолщение оболочки за счет геморрагического пропитывания и лейкоцитарной инфильтрацией. Эритроциты располагались плотными массами, среди фибрина. В коре головного мозга отмечается неравномерное полнокровие сосудов со стазами. В некоторых сосудах повышено содержание лейкоцитов, имеются небольших размеров очаги инфильтрирующих и расслаивающих кровоизлияний, местами резко выраженное расширение периваскулярных и перипеллюлярных пространств. Наряду с этим обнаруживается тяжелая дис-

трофия нейронов; в подкорковом отделе неравномерное полнокровие сосудов, в некоторых сосудах лейкостазы. В стволовом отделе неравномерное кровенаполнение сосудов, небольшие инфильтрирующие кровоизлияния. Непосредственной причиной смерти во всех указанных случаях, явилось набухание и отек головного мозга с дислокацией головного мозга и ущемлением стволовых структур.

В половых железах все используемые в работе морфометрические параметры и методы ИГХ исследования, были первоначально разработаны при исследовании в группе контроля.

При этом было обнаружено, что такие показатели как: масса яичек и абсолютные объемы основных структурных тканевых компонентов, составляющих органа (белочная оболочка, сеть яичек, объем канальцев, площадь их поперечного сечения, объем ИСТ, ИЭ и капилляров) в возрастном интервале 20-59 лет практически не меняются, хотя и имеют тенденцию к уменьшению с возрастом.

Результаты проведенных исследований не противоречат литературным данным о том, что в нормальных условиях гистоструктура органа и процессы сперматогенеза до 50 летнего возраста характеризуются определенной стабильностью (Алексеев Ю.Д. , Савенкова Е.Н., Ефимов А.А., Райкова К.А. 2015). Это положение в целом совпадает также с результатами исследований по функциональной анатомии, согласно которым, характеристика состояния эндокринной системы у человека в целом достигает максимума в 20 лет, а в период от 21 года до 54 летнего возраста характеризуется стабильностью (Милюков В.Е., Жарикова Т.С., 2015).

Морфологические, морфометрические и ИГХ исследования яичек у лиц, погибших в различные сроки от тяжелой ЧМТ, позволяет нам обнаружить в подавляющем большинстве наблюдений серьезные структурные нарушения гистоструктуры исследуемого органа, которые тесно связаны с длительностью течения ЧМТ. Степень выраженности этих нарушений оказалась различной,

однако закономерно изменяется в зависимости от длительности сроков течения ЧМТ.

При анализе изменений яичек обнаружено, что уже через 1-3 дня после ЧМТ масса яичек уменьшается на 18%, а фракция извитых семенных канальцев уменьшается на 24%. Эти изменения сопровождаются некоторым увеличением основных структурных компонентов орган (белочной оболочки, сети яичек). При этом, интересным на наш взгляд, является тот факт, что площадь поперечного сечения канальцев увеличивается на 12% по сравнению с контролем, в то время как толщина стенки канальцев уменьшается на 7%. Это по нашему мнению может указывать на снижение тонуса структурных компонентов стенки извитых канальцев (в частности миофибробластов), приводящее к нарушению волны сперматогенеза и способствующее десквамации сперматогенных клеток в просвет. Десквамированные сперматогенные клетки переполняют канальцы сети.

Анализ цитологического профиля сперматогенеза позволяет обнаружить значительное уменьшение сперматогоний A_T в клеточных ассоциациях II, III, V и VI типов; и сперматогоний A_B в клеточной ассоциации VI типа. В то время как в клеточной ассоциации II типа обнаруживается некоторое увеличение количества этих клеточных элементов (регистрируемое как по абсолютным числовым значениям, так и по средней взвешенной по отношению к сустентоцитам). Факт, возможно указывающий на начальные процессы торможение дифференцировки сперматогоний A_T в сперматогонии A_B . Количество сперматогоний типа Б уменьшается в клеточных ассоциациях I и II типов, что может свидетельствовать о начальных десквамативных и деструктивных процессах стадии размножения. Исследование цитологического профиля сперматогенеза также обнаруживает нарушения сперматогенеза на стадии роста первичных и вторичных сперматоцитов. О чем свидетельствует достоверное уменьшение количества зиготенных, диплотенных сперматоцитов и вторичных сперматоцитов в клеточной ассоциации VI типа (фаза созревания). В то время как количество прелептотенных сперматоцитов (клеточная ассоциация

III типа) и пахитенных сперматоцитов (клеточные ассоциации I, II, III, IV, V типов) практически остается стабильным.

Анализ цитологического профиля сперматогенеза на стадии формирования сперматид приводит нас к заключению, что количество поздних сперматид S_d уменьшается в клеточной ассоциации I и II типа, а количество сперматид S_c уменьшается в клеточных ассоциациях V и VI типов. Это уменьшение сочетается также со снижением количества ранних сперматид типа S_a в клеточной ассоциации I типа, а также сперматид типа B_o (клеточная ассоциация III типа), а также B_0 (ассоциация IV типа).

Таким образом, анализ цитологического профиля сперматогенеза свидетельствует о том, что уже через 1-3 суток после ЧМТ обнаруживаются нарушения количественного состава сперматогенных клеток на всех стадиях сперматогенеза (размножения, роста, созревания и формирования). При этом наибольшие изменения обнаруживаются в клеточной ассоциации VI типа, citoархитектоника которой соответствует наиболее важной (ключевой) фазе мейоза.

В яичках через 1-3 суток после ЧМТ также обнаруживается достоверное уменьшение фракции ИСТ, ИЭ, а также редукция капиллярной сети, свидетельствующие о начальных этапах развития атрофических изменений этих структурных компонентов. Причиной этих изменений наиболее вероятно, является гипофизарная недостаточность, несомненно, оказывающее существенное влияние на структурно-функциональную организацию ЭС слоя.

Лица, формирующие группу погибших через 6-9 суток, поступили в стационар лечебного учреждения в бессознательном состоянии, по клиническим данным, в состоянии кома 3 степени зарегистрировано 6 случаев, в состоянии кома 2 степени в 3 случаях, а в состоянии кома 1 степени в 1 случае. При поступлении в стационар, всем пострадавшим проводился комплекс мероприятий, направленный на стабилизацию гемодинамических показателей, предотвращения церебральной гипоксии и профилактики внутричерепной гипертензии. В пяти случаях для устранения внутричерепной гипертензии проводилась

резекционная трепанация черепа с удалением субдуральных гематом объемом от 110 мл до 140 мл. При судебно-медицинском исследовании трупов указанных лиц, очаги ушиба головного мозга локализовались в лобных, височных, теменных и затылочной долях, субдуральные кровоизлияния носили левосторонний и правосторонний характер, гипоталамус и гипофиз во всех случаях были не повреждены. При судебно-гистологическом исследовании головного мозга, отмечалось: сосуды мягкой мозговой оболочки неравномерного кровенаполнения, стенки некоторых сосудов немного набухшие, местами разволокнены, в просвете некоторых сосудов повышено содержание лейкоцитов, оболочка неравномерно утолщена за счет геморрагического пропитывания, эритроциты расположены рыхлыми массами, различной степени деформации, среди масс эритроцитов диффузные скопления лейкоцитов, макрофагов, лимфоидных клеток, небольшого количества внеклеточного желто-бурого пигмента, в ткани головного мозга неравномерное кровенаполнение сосудов, встречаются эритростазы, некоторые сосуды оптически пустые, имеются небольших размеров периваскулярные кровоизлияния, набухание стенок, в том числе и клеток эндотелия некоторых сосудов, в просветах отдельных сосудов отделение плазмы от эритроцитов, в некоторых фибриновые свертки, некротический детрит, местами периваскулярно скопления глиальных клеток и желтого пигмента, в некоторых сосудах повышено содержание лейкоцитов, встречаются различных размеров очаги инфильтрирующих кровоизлияний и бесструктурного эозинофильного детрита (некрозов), с участками формирования новообразованных капилляров, небольшого количества макрофагов, лейкоцитов, очагов спонгиоза мозгового вещества, формирующегося периваскулярного энцефалолизиса, очаговых и диффузных выпадений групп нейронов, диффузная микроглиальная реакция (включая периваскулярный глиоз и перинейрональный с сателлитозом и нейронофагией), встречаются группы нейронов в виде набухших клеток-теней, многие группы нейронов округлены, с бледной цитоплазмой, короткими или неразличимыми отростками, местами с кариолизом и кариопикнозом, неравномерно выраженное расширение периваскулярных и

перичеселлюлярных пространств, небольшие группы нейронов гиперхромные, уродливой формы, сморщенные. Основным осложнением ЧМТ во всех указанных случаях, явилось набухание и отек головного мозга с дислокацией головного мозга и ущемлением стволовых структур, что и явилось причиной смерти.

У лиц, погибших через 6-9 суток после ЧМТ, наблюдается дальнейшее уменьшение массы яичек на 37%, фракции извитых семенных канальцев на 41%. При этом площадь поперечного сечения увеличивается на 26%, что указывает на более выраженное паретическое расширение канальцев в яичках лиц данной группы. Абсолютный объем белочной оболочки практически мало отличается от аналогичного показателя группы сравнения и контроля. Несколько уменьшается абсолютный объем сети яичек (однако, оставаясь больше контрольной величины на 33%), что свидетельствует о значительном уменьшении десквамативных процессов ЭС слоя. Толщина стенки канальцев не претерпевает существенных изменений.

Анализ цитологического профиля сперматогенеза выявляет более выраженное (по сравнению с контрольной группой) уменьшение сперматогоний A_T и A_B в клеточной ассоциации VI типа, а также сперматогоний типа Б в клеточных ассоциациях I и II типов. По нашему мнению полученные данные с одной стороны указывают на глубокие нарушения дифференцировки сперматогоний в период мейоза, с другой – свидетельствуют о стабилизации пула сперматогоний, связанного с активизацией их регенерационного потенциала, поскольку во всех клеточных ассоциациях (кроме VI) количество сперматогоний A_T и A_B достоверно не отличается от контрольных величин.

Анализ цитологического профиля обнаруживает более выраженные нарушения сперматогенеза на стадии роста первичных и вторичных сперматоцитов по сравнению с контролем, а также с аналогичными показателями группы лиц, погибших через 1-3 дня после ЧМТ. Так уменьшено количество зиготенных сперматоцитов в клеточной ассоциации VI типа, а также пахитенных сперматоцитов: в клеточных ассоциациях I, II, III, IV и V типов.

Поскольку стадия пахитены самая длительная в сперматогенезе и предшествует фазе укорочения и утолщения хромосом в диплотене, полученные данные о значительном сокращении этого типа сперматогенных клеток, несомненно, свидетельствуют о более глубоких деструктивных изменениях ЭС слоя. Необходимо отметить также и тот факт, что более выраженные изменения обнаруживаются также и в процессе мейоза, т.к. количество практически всех типов сперматогенных клеток, входящих в состав клеточной ассоциации VI типа значительно редуцировано.

Анализ стадии формирования сперматид свидетельствует о том, что количество ранних сперматид типа C_A (клеточная ассоциация I типа), B_O и B_0 (клеточные ассоциации III и IV типов) значительно уменьшено, в то время как показатель количества всех остальных типов сперматид, хотя и имеет тенденцию к снижению, однако демонстрирует определенную стабильность. Это представляет особенный интерес, поскольку в некоторых исследованиях, нарушения фазы формирования обнаруживают в виде увеличения количества ранних сперматид типа B_0 с удлинёнными, элонгированными ядрами. Количество поздних сперматид C_D уменьшается в клеточной ассоциации I типа, а количество сперматид C_C уменьшается в клеточной ассоциации VI типа. Это уменьшение сочетается также со снижением количества ранних сперматид типа C_A в клеточной ассоциации I типа, а также сперматид типа B_O (клеточная ассоциация III типа), а также B_0 (ассоциация IV типа).

В яичках через 6-9 суток после ЧМТ определяется более выраженное по сравнению с контролем достоверное уменьшение фракции ИСТ (на 38%), ИЭ (на 52%), а также редукция капиллярной сети (на 68%), свидетельствующие о выраженных атрофических изменениях этих структурных компонентов. Полученные данные свидетельствуют о более глубоких структурно-функциональных процессах дезорганизации ЭС вызванных нарушением регуляции в системе гипофиз-гонады.

Лица, составляющие группу погибших через 15 суток и более, по клиническим данным, находились в бессознательном состоянии при поступлении в

лечебное учреждение, при этом, в 4 случаях была диагностирована кома 3 степени, а в 3 случаях кома 2 степени. Всем пострадавшим, при поступлении проводился комплекс мер, направленных на восстановление и поддержание жизненно важных функций организма, а именно, постановка ортотрахеальных трубок для создания поддерживающей вентиляции легких, установка внутривенных портов для проведения инфузионной терапии и введения препаратов для коррекции артериальной гипотензии и противошоковой терапии. В пяти случаях, по результатам компьютерной томографии, по показаниям, проводилась декомпрессионная трепанация черепа с эвакуацией субдуральных гематом объемом до 130 мл. При последующем судебно-медицинском исследовании трупов указанных лиц, было установлено что, гипоталамус и гипофиз у всех указанных лиц, были без каких-либо патологических изменений, при этом зоны травматического повреждения головного мозга, характера ушиба локализовались в лобных, височных, теменных и затылочной долях, субдуральные гематомы имели левосторонний и правосторонний характер. При судебно-гистологическом исследовании головного мозга, отмечалось: сосуды мягкой мозговой оболочки неравномерного кровенаполнения, в некоторых повышено содержание лейкоцитов, стенки многих сосудов набухшие, местами довольно значительно, разволокнены, местами с лимфоидной инфильтрацией, оболочка местами резко утолщена за счет отека, фиброза, инфильтрация вне- и внутриклеточным желто-бурым или ярко желтым пигментом, очагово-диффузная лимфоидная инфильтрация, в ткани головного мозга различных размеров очаги деструкции с неравномерно выраженными резорбционно-пролиферативными изменениями, встречаются очаговые скопления зернистых шаров, очаги коагуляционных некрозов, неравномерно выраженной пролиферацией сосудов, множественными новообразованными сосудами, часть из которых с гипертрофированным или пролиферирующим эндотелием, очагов отложений внутри- и внеклеточного желто-бурого пигмента, пролиферация фибробластов, в некоторых сосудах повышенное содержание лейкоцитов, неравномерное и местами выраженное расширение периваскулярных и пери-

целлюлярных пространств, вплоть до деструкции мозговой вещества, тяжелая дистрофия нейронов. Основным осложнением черепно-мозговой травмы, у данных лиц, а также и непосредственной причиной смерти, явился дислокационный синдром головного мозга с последующим ущемлением стволовых структур, вызванный набуханием и отеком головного мозга. Помимо данного осложнения, в данной группе, в шести случаях диагностировались осложнения травмы в виде двухсторонней, нижнедолевой серозно-гнойной пневмонии и в пяти случаях пролежни лопаточной и крестцовой областей.

При анализе изменений яичек, у лиц, погибших через 15 суток и более после ЧМТ, снижение массы яичек достигает 45%, при этом происходит значительное снижение абсолютного объема структурных компонентов органа, белочной оболочки на 31%, сети яичек на 42%, извитых семенных канальцев на 51%. Интересным с нашей точки зрения, является то, что при указанных снижениях объемов площадь поперечного сечения канальцев практически не отличается от показателей группы контроля, но при этом, толщина стенки канальца увеличивается на 62%. В стенках канальцев определяются значительное утолщение и деформация извитых коллагеновых волокон. Вытянутые миоидные элементы в единичном количестве. Базальная мембрана канальцев, утолщена, с множественными складками. Указанные изменения свидетельствуют о развивающемся перитабулярном склерозе.

У лиц, погибших через 15 суток и более, после ЧМТ, анализ цитологического профиля сперматогенеза демонстрирует резко выраженное уменьшение количества практически всех сперматогенных клеток на всех шести стадиях цикла сперматогенеза. Так количество сперматогоний A_T в клеточных ассоциациях I, II, V и VI типов, снижено в два раза (как по количественному значению, так и по отношению к сустентоцитам), при этом, количество сперматогоний A_B во всех шести типах ассоциаций, снижено незначительно либо имеет близкие к показателям контрольной группы значения. Факт, указывающий на выраженные процессы торможение дифференцировки сперматогоний A_T в сперматогонии A_B .

Количество сперматогоний типа Б, в клеточных ассоциациях I и II типов, снижено более чем в два раза, что свидетельствует о выраженных десквамативных и деструктивных процессах стадии размножения.

Значительные нарушения сперматогенеза, обнаруживаются на стадии роста первичных и вторичных сперматоцитов. Отмечено достоверное снижение лептотенных сперматоцитов в клеточной ассоциации IV типа, а также зиготенных, диплотенных сперматоцитов и вторичных сперматоцитов в клеточной ассоциации VI типа, т.е. на фазе созревания. Значительные изменения претерпевает количество прелептотенных сперматоцитов (клеточная ассоциация III типа) и пахитенных сперматоцитов (клеточные ассоциации I, II, III, IV, V типов), где их количество, как абсолютное, так и относительно суспендоцитов, снижено более чем в два раза.

Еще более существенные изменения наблюдаются на стадии формирования сперматид. Так, в I и II клеточной ассоциации количество поздних сперматид C_D снижено почти на 90%. Количество сперматид C_C в V и VI клеточных ассоциациях, снижено более чем в два раза. Указанное снижение, сопровождается таким же значительным снижением количества ранних сперматид, сперматид C_A в клеточных ассоциациях I и II типа, а также сперматид B_O и B_0 в клеточных ассоциациях III и IV типов, где их снижение достигает 88%.

Таким образом, анализ цитологического профиля сперматогенеза свидетельствует о том, что в поздних сроках переживания после ЧМТ (15 суток и более), обнаруживаются выраженные нарушения количественного состава сперматогенных клеток на всех стадиях сперматогенеза (размножения, роста, созревания и формирования). При этом наибольшие изменения обнаруживаются на стадии созревания и формирования сперматид во всех шести типах клеточных ассоциаций. В целом, выявленные изменения на поздних сроках переживания после ЧМТ, демонстрируют картину, которую можно охарактеризовать, как «пестрая атрофия половых желез».

В яичках, лиц погибших через 15 суток и более, после ЧМТ, обнаруживается достоверное уменьшение фракции ИСТ, ИЭ, а также значительная редук-

ция капиллярной сети, свидетельствующие о значительных атрофических изменениях этих структурных компонентов. Причиной которых, наиболее вероятно, является гипофизарная недостаточность, несомненно, оказывающее существенное влияние на структурно-функциональную организацию ЭС слоя.

Иммуногистохимические методы исследования все шире используются с диагностической целью. В связи с этим, для диагностики нарушений сперматогенеза, актуальным является изучение экспрессии различных ИГХ маркеров в достаточно сложной цитоархитектонике ЭС слоя человека.

В группе контроля, в результате визуальной оценки определено, что степень экспрессии маркеров пролиферации, в частности PCNA, определяется в ядрах большинства сперматогоний, прелептотенных, лептотенных, зиготенных, пахитенных, диплотенных сперматоцитов, а также в части сперматоцитов второго порядка.

Экспрессия Ki-67 обнаруживается в сперматогониях всех трех типов: A_T, A_Б, Б, а также в ядрах сперматоцитов первого и второго порядка.

РННЗ экспрессируется в делящихся сперматогониях, сперматоцитах второго порядка, что особенно отчетливо различимо на VI стадии цикла развития сперматогенных клеток.

В извитых семенных канальцах группы лиц погибших через 1-3 суток после ЧМТ определяется достоверное уменьшение количества сперматогоний A_T, A_Б и Б во всех типах клеточных ассоциаций (за исключением ассоциации I типа), что свидетельствует о существенных нарушениях фазы размножения. Эти изменения, демонстрирующие выраженное усиление процессов утраты части сперматогенной популяции сопровождаются повышением экспрессии PCNA и Ki-67 в сперматогониях A_T и Б. Интересным является тот факт, что количество A_Б в семенных канальцах анализируемой группы остается весьма постоянным во всех типах ассоциаций. Снижение числа первичных сперматоцитов, указывающее на начальные проявления нарушений фазы роста незначительно, и касается только Зиг_{СППЦ}. Уменьшение количества фигур митотического деления регистрируемое по экспрессии РННЗ в клеточной ассоциации

б типа указывает на нарушение фазы созревания. Нарушение фазы формирования, регистрируемое по уменьшению количества поздних сперматид C_D и ранних C_A , отмечается только в клеточной ассоциации I типа.

В группе лиц, погибших через 6-9 суток после ЧМТ наблюдается достоверное уменьшение числа сперматогоний Б, указывающее на нарушение фазы размножения. В сперматогониях этого типа также повышена экспрессия PCNA и Ki-67. Число сперматогоний A_T и A_B хотя и обнаруживают некоторую тенденцию к снижению, однако достоверно не отличается от группы сравнения и контроля. Более выраженные нарушения наблюдаются в количестве первичных сперматоцитов. Так достоверно уменьшено число $Pa_{X_{СПТЦ}}$ в клеточных ассоциациях I, II, III и IV типа, что свидетельствует о более выраженных нарушениях фазы роста. Достоверно уменьшено количество $Di_{ПЛ_{СПТЦ}}$. Наряду с уменьшением фигур митотического деления, выявляемых по экспрессии PNH3, это указывает на нарушение фазы созревания, более выраженного по сравнению с группой контроля и группой лиц погибших через 1-3 суток после ЧМТ. Нарушения фазы формирования демонстрируют ранние сперматиды C_A , количество которых уменьшено по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, использование маркеров пролиферативной активности (PCNA, Ki-67, PNH3) позволяет более точно выделить фазы клеточного цикла (G1, S, G2), оценить пул клеток в M фазе (PNH3), популяцию резервных сперматогоний.

Характерным иммуногистохимическим признаком sustentоцитов является реакция с AR. Эта реакция ядерная и обнаруживается в ядрах всех sustentоцитов, однако в некоторых клеточных ассоциациях (I и II типа) интенсивность окрашивания ядер sustentоцитов постепенно возрастает, в III типе клеточной ассоциации наиболее выражена и постепенно уменьшается на последних этапах сперматогенеза (IV-VI тип ассоциации).

Андрогены, такие как тестостерон, представляют собой стероидные гормоны, необходимые для нормального мужского репродуктивного развития и

функции. Андрогены оказывают свое действие через AR, и его сигнализация в яичке имеет важное значение для сперматогенеза. AR не экспрессируется в развивающейся линии половых клеток, поэтому считается, что он оказывает свое действие через сустентоциты и перитубулярные миоидные элементы.

Предполагается, что передача сигналов AR необходима для поддержания численности сперматогоний, целостности гематотестикулярного барьера, завершения мейоза, адгезии сперматид различной степени дифференцировки и сперматозоидов, вместе эти исследования подробно описывают сущность андрогенов в развитии мужской фертильности (Hazra R., Corcoran L., Robson M., 2013).

Наши исследования показали, что в контрольной группе AR выявляются в сустентоцитах, перитубулярных клетках и в ИЭ, но не в сперматогенных клетках. При этом если в контрольной группе отмечается некоторая неравномерность интенсивности ИГХ-реакции, то у лиц погибших через 1-3 суток после ЧМТ интенсивность реакции в ядрах равномерно проявляется во всех типах клеточных ассоциаций. Через 6-9 суток после ЧМТ, отмечается некоторое уменьшение интенсивности реакции AR в недифференцированных клеточных ассоциациях. Через 15 суток и более после ЧМТ, отмечается разнонаправленная интенсивность реакции: наименьшая степень реакции с антителами к AR, определяется в канальцах с недифференцированными (не полными) клеточными ассоциациями и очаговым «синдромом только клетки Сертоли», где она в некоторых ядрах сустентоцитов отсутствует, в то время как в некоторых подобных канальцах выражена значительно.

Ингибин В, представляет собой гликопротеин принадлежащей к супер семейству трансформирующего фактора роста β (TGF- β); он производится почти исключительно сустентоцитами, и по мнению некоторых авторов является косвенным маркером их функции и косвенным маркером сперматогенеза (Piadon P.K., Tsametis C., Kaprara A. et al., 2015). Иммунореактивный ингибин был обнаружен также в ИЭ в яичках нормальных, олигоспермичных и азооспермичных мужчин.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что ИГХ реакция на Ингибин в цитоплазме сустентоцитов контрольной группы выражена равномерно, не зависит от типа клеточной ассоциации и также обнаруживается в цитоплазме ИЭ. Через 1-3 дня после ЧМТ наблюдается некоторое усиление ИГХ-реакции в цитоплазме сустентоцитов. Через 6-9 суток после ЧМТ в цитоплазме сустентоцитов недифференцированных клеточных ассоциаций она существенно повышена, также как и в цитоплазме ИЭ по периферии подобных канальцев. Наибольшая экспрессия Inhibin обнаруживается в цитоплазме сустентоцитов с очаговым синдромом «только клетки Сертоли», в более поздних периодах течения ЧМТ (15 суток и более). Таким образом, по мере уменьшения количества сперматогенных клеток экспрессия ингибина нарастает.

Сходные данные были также получены при исследовании ингибина в биоптатах мужчин с тестикулярными нарушениями. Интенсивность окрашивания цитоплазмы сустентоцитов и цитоплазмы ИЭ была значительно сильнее в яичках мужчин с нарушенным сперматогенезом (Bergh F.A., Calander S., 1990). Предполагается, что концентрация ингибина в цитоплазме сустентоцитов и ИЭ может быть сложным образом связана с секрецией ФСГ, функцией ИЭ и клеток Сертоли и что относительный функциональный вклад этих клеток может изменяться в случае нарушения функции половых желез.

Расположение CD117+ клеточных элементов в стенке канальца, а также в межканальцевой соединительной ткани, возможно, обеспечивает (координирует), посредством пейсмейкерной функции, волнообразное перемещение эпителио-сперматогенного слоя по концентрической спирали вдоль оси стенки семенных канальцев от периферии к центру (просвету) (Bergmann M., 2006). Особый интерес представляет контакт интерстициальных эндокриноцитов половых желез с CD117+ клетками стромы. Возможно, это свидетельствует о тесной морфофункциональной взаимосвязи между этими клеточными элементами.

Распределение CD117+ клеточных элементов в паренхиме мужских половых желез было наиболее детально изучено в условиях обструктивной и необструктивной азооспермии, а также при тестикулярной атрофии и синдроме «только клетки Сертоли» (Hasirci E., Turunc T., Bal N. et al. 2017).

Обнаруженная нашими исследованиями, индуцированная ЧМТ деструкция сперматогенных клеток, ведет к активизации пролиферативных процессов в сохранившихся сперматогониях ЭС слоя (Федотов А.В., Крупнов Н.М., Мазурова М.П. и др., 2017). При этом особый интерес имеют полученные данные об усилении мембранной экспрессии CD117 в сперматогониях различных типов (А_Т, А_Б, изолированно расположенные удлинённого типа). Хорошо известен факт усиления пролиферативной активности и дифференцировки гемопоэтических клеток, меланоцитов и клеток Кахаля желудочно-кишечного под влиянием CD117 (Miettinen M., Lasota J., 2005). В отдаленные сроки после ЧМТ по-видимому также происходит под влиянием CD117, через механизм активации различных транскрипционных факторов усиление пролиферативной активности и дифференцировке сперматогоний. Таким образом, возможно, реализуется постатрофическая регенерация популяции сперматогенных клеток после их повреждения.

При анализе морфометрических параметров яичек наиболее существенным является вопрос о взаимосвязи длительности течения ЧМТ и отклонением того или иного показателя от нормы. Проведенный корреляционный анализ выявляет наличие прямолинейной отрицательной взаимосвязи между сроками длительности течения ЧМТ и подавляющим большинством морфометрических параметров (таблица 3).

Так, при анализе взаимосвязи длительности течения ЧМТ в остром периоде с массой яичек, обнаруживается умеренная отрицательная корреляционная связь (таблица 3), свидетельствующая о том, что с увеличением сроков длительности течения ЧМТ, масса яичек прогрессивно уменьшается. Уменьшение массы яичек сопровождается уменьшением абсолютного объема основных структурных компонентов составляющих орган. При этом наиболее значи-

тельные изменения претерпевает параметр объемной доли канальцев и сети половой железы (таблица 3). Менее существенные изменения претерпевает параметр площадь поперечного сечения канальцев.

Особый интерес представляет анализ взаимосвязи длительности течения ЧМТ в остром периоде и состоянием тубулярного аппарата половых желез и в первую очередь количеством и соотношением того или иного типа сперматогенных клеток. Проведенный корреляционный анализ показывает наличие прямолинейной отрицательной корреляционной связи сильной степени выраженности между количеством сперматид типа B_0 и B_0 , а также значительной степени выраженности между поздними сперматидами C_C и C_D и ранними сперматидами типа C_A .

Факты, несомненно, свидетельствующие о том, что наибольшие изменения в ЭСС половых желез в остром периоде ЧМТ наблюдаются в фазе формирования.

Наряду с этим значительная степень выраженности отрицательной корреляционной связи обнаруживается между количеством диплотенных сперматоцитов, вторичных сперматоцитов и фигур митотического деления.

Данные указывающие на то, что значительно выраженные изменения в остром периоде ЧМТ наблюдаются в наиболее значимой фазе развития сперматогенных клеток – мейозе.

Особую значимость имеют также полученные данные по взаимосвязи длительности течения ЧМТ остром периоде и количеством сперматоцитов I порядка. Проведенный корреляционный анализ также демонстрирует наличие прямолинейной отрицательной корреляционной связи сильной степени выраженности с $Прел_{СПТЦ}$, $Лепт_{СПТЦ}$, $Зиг_{СПТЦ}$ сперматоцитами и значительную степень с $Пах_{СПТЦ}$.

Полученные данные убеждают нас в положении о том, что период роста первичных сперматоцитов в остром периоде ЧМТ также существенно нарушен на всех этапах дифференцировки и особенно сильно страдает в период пахитены.

Данные представляющие особый интерес, были получены при анализе взаимосвязи длительности течения ЧМТ в остром периоде и количеством сперматогоний. Проведенный корреляционный анализ показывает наличие прямолинейной отрицательной корреляционной связи умеренной степени выраженности между количеством сперматогоний A_T и слабой степени выраженности с сперматогониями типа A_B и B .

Эти данные с одной стороны свидетельствуют о наибольшей устойчивости и стабильности периода размножения ЭСС половых желез. И с другой стороны указывают на мобилизацию компенсаторно-приспособительных реакций клеток сперматогониальной дифференцировки направленных на восстановление и поддержания постоянства клеточного состава ЭСС половых желез. Вместе с этим, определяется также умеренная положительная корреляционная связь между толщиной стенки канальцев и длительностью течения ЧМТ (таблица 3), которая выявляет зависимость степени выраженности перитубулярного склероза от длительности переживания после ЧМТ.

При исследовании взаимосвязи длительности течения ЧМТ в остром периоде и абсолютным объемом ИСТ, между этими параметрами выявлена умеренная корреляционная связь (таблица 3), свидетельствующая о том, что с увеличением сроков длительности течения ЧМТ в строме яичек нарастают процессы интерстициального склероза. При этом, в значительной степени процессы склероза связаны с редукцией капиллярного русла стромы яичек, т.к. между длительностью течения ЧМТ и абсолютным объемом ИСТ обнаруживается умеренная корреляционная связь (таблица 3).

При анализе взаимосвязи абсолютного объема ИЭ с длительностью течения ЧМТ, определяется что между двумя этими параметрами существует сильная степень корреляционной связи (таблица 3), которая свидетельствует о том, что с увеличением сроков длительности течения ЧМТ, абсолютный объем ИЭ уменьшается, факт, подтверждающий явления атрофии эндокринных структур.

Таблица 3 – Корреляционная зависимость длительности течения ЧМТ с основными морфометрическими показателями половых желез

Морфометрические параметры	r	± m _r	P			
Масса половых желез	- 0,5	0,24	< 0,01			
Абсолютный объем белочной оболочки	0,32	0,27	< 0,01			
Абсолютный объем сети семенника	- 0,55	0,24	< 0,01			
Абсолютный объем ИСТ	- 0,53	0,24	< 0,01			
Абсолютный объем канальцев	- 0,54	0,24	< 0,01			
Площадь поперечного сечения канальцев	- 0,4	0,28	< 0,01			
Толщина стенки канальца	0,57	0,25	< 0,01			
Абсолютный объем эндокриноцитов	- 0,7	0,23	< 0,01			
Абсолютный объем капилляров	- 0,61	0,25	< 0,01			
Клетки сперматогенеза	Количество			Соотношение		
	r	± m _r	P	r	± m _r	P
Сустентоциты	0,55	0,26	< 0,01	-	-	-
Сперматогонии А _T	-0,15	0,31	< 0,05	-0,25	0,32	< 0,05
Сперматогонии А _B	- 0,56	0,26	< 0,01	- 0,66	0,24	< 0,01
Сперматогонии типа Б	- 0,44	0,28	< 0,01	- 0,62	0,25	< 0,01
Прелептотенные сперматоциты	- 0,75	0,21	< 0,01	- 0,77	0,2	< 0,001
Лептотенные сперматоциты	- 0,65	0,24	< 0,01	- 0,71	0,22	< 0,01
Зиготенные сперматоциты	- 0,65	0,24	< 0,01	- 0,67	0,24	< 0,01
Пахитенные сперматоциты	- 0,87	0,16	< 0,001	- 0,9	0,14	< 0,001
Диплотенные сперматоциты	- 0,63	0,25	< 0,01	- 0,68	0,23	< 0,01
Сперматоциты II порядка	- 0,53	0,27	< 0,01	- 0,54	0,27	< 0,01
Митозы	- 0,63	0,25	< 0,01	- 0,61	0,25	< 0,01
Ранние сперматиды типа А	- 0,62	0,25	< 0,01	- 0,62	0,25	< 0,01
Сперматиды типа Б ₀	- 0,86	0,16	< 0,001	- 0,87	0,15	< 0,001
Сперматиды типа Б ₀	- 0,81	0,19	< 0,001	- 0,82	0,18	< 0,001
Сперматиды типа С	- 0,61	0,25	< 0,01	- 0,69	0,23	< 0,01
Поздние Сперматиды С _д	- 0,64	0,25	< 0,01	- 0,67	0,24	< 0,01

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обнаруженные нами качественные и количественные морфологические изменения в яичках при различных сроках черепно-мозговой травмы, позволяют прийти к заключению о том, что при черепно-мозговой травме в яичках развиваются несвойственные возрасту процессы склероза интерстициальной соединительной ткани, а также редуکتивные изменения микроциркуляторного русла. Наряду с этим черепно-мозговая травма ведет к нарушению центральной регуляции (травматическое повреждение гипофиза) атрофии интерстициальных эндокриноцитов опосредованно через сустентоциты влияет на сперматогенез, приводя к постепенному уменьшению всех форм сперматогенных клеток вызывая секреторную недостаточность, морфологической проявлением которой, является отсутствие в части семенных канальцев дифференцированных форм сперматид.

Длительность течения черепно-мозговой травмы связана преимущественно прямолинейной отрицательной корреляционной связью с морфометрическими показателями, характеризующими гистоструктуру яичек, и оказывает существенное влияние на соединительно-тканый остов, тубулярный аппарата, эндокринные структуры и компоненты микроциркуляторного русла.

Взаимообусловленность характера изменения интерстициальной соединительной ткани, интерстициальных эндокриноцитов, сустентоцитов и развивающихся сперматогенных клеток, позволяет сделать заключение о том, что генеративные, поддерживающие и эндокринные структуры яичек, находясь в строгом пространственном соответствии выступают как единая морфо-функциональная система, нормальное функционирование которой в остром периоде черепно-мозговой травмы резко нарушено, вплоть до состояния «пестрой атрофии».

ВЫВОДЫ

1. В остром периоде черепно-мозговой травмы развиваются структурные изменения в яичках, затрагивающие все их составные части: канальцевый аппарат, строму, эндокринные структуры. Наибольшие изменения наблюдаются в эпителио-сперматогенном слое извитых семенных канальцев, изменения которого прямо пропорциональны длительности течения черепно-мозговой травмы.

2. Морфологическими показателями повреждения эпителио-сперматогенного слоя в остром периоде черепно-мозговой травмы являются: уменьшение числа сперматогенных клеток (вплоть до их полного исчезновения из семенных канальцев), увеличение толщины стенки канальцев (на 42%) за счет усиления перитубулярного склероза.

3. Начальные проявления нарушения сперматогенеза в остром периоде черепно-мозговой травмы выявлены в фазе формирования, в виде структурных и количественных изменений сперматид. Параллельно развиваются склерозирование стромы половых желез, редукция капиллярного русла и атрофические изменения интерстициальных эндокриноцитов.

4. Деструктивные изменения эпителио-сперматогенного слоя ведут к активизации пролиферативных процессов в сохранившихся сперматогониях, регистрируемых при помощи антител к Ki-67 и PhosphohistoneH3. Интенсивность реакции с антителами к рецепторам андрогенов в ядрах сустентоцитов по мере разрушения эпителио-сперматогенного слоя, закономерно снижается; экспрессия ингибина в цитоплазме сустентоцитов нарастает, достигая максимума в канальцах с синдромом «только клетки Сертоли». На поздних сроках, после черепно-мозговой травмы наблюдается усиление мембранной экспрессии CD117 в сперматогониях, что является отражением усиления пролиферативной активности и дифференцировки этих клеточных элементов.

5. С длительностью посттравматического периода имеют наибольшую отрицательную корреляцию нарушения фазы созревания (зиготенный r : -0,65, диплотенный r : -0,65 стадии мейоза, количество фигур митотического деления r : -0,63), а также фазы роста (прелептотенная r : -0,75, лептотенная r : -0,65 и пахитенная r : -0,87 фазы роста первичных сперматоцитов). Относительной резистентностью к повреждению в фазе размножения обладают сперматогонии типа A_T , что может явиться основой перспективы коррекции обнаруженных изменений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанный «Способ диагностики нарушений сперматогенеза путем определения его цитологического профиля» позволяет количественно анализировать развивающуюся дезорганизацию типичных клеточных ассоциаций сперматогенных клеток и может быть использован для уточнения нарушений репродуктивной функции различной этиологии.

2. Полученные данные о том, что в отдаленные сроки после черепно-мозговой травмы обнаруживаются выраженные деструктивные изменения сперматогенных клеток, первоначально имеющие характер т.н. недифференцируемых клеточных ассоциаций, а впоследствии приобретающих характер полной герминальной аплазии (синдром «только клетки Сертоли»), имеют, несомненно, не только научный интерес, но и практическую значимость т.к. могут быть учтены в клинической практике лечения больных в остром периоде черепно-мозговой травмы, и требуют более глубокого изучения вопросов клиники, диагностики, профилактики и лечения этой формы патологии.

3. Составленный перечень основных морфологических критериев специфического поражения половых желез при черепно-мозговой травме, может быть использован в качестве дополнительных диагностических признаков, при судебно-медицинской экспертизе летальных случаев в различные сроки длительности течения черепно-мозговой травмы.

4. Констатация факта глубокого изменения ЭС слоя при сохранении сперматогоний типа A_T ориентирует на возможность активной коррекции транзиторного бесплодия, вызванного черепно-мозговой травмой.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ИГХ – иммуногистохимические исследования

ИСТ – интерстициальная соединительная ткань

ИЭ – интерстициальные эндокриноциты

РНП – рибонуклеопротеиды

ЧМТ – черепно-мозговая травма

ЭСС – эпителиосперматогенный слой

А_Т – сперматогония А темная

А_Б – сперматогония А бледная

Б – сперматогония тип Б

Пах_{СПТЦ} – первичный сперматоцит в пахитене

Прел_{СПТЦ} – первичный сперматоцит в прелептотене

Лепт_{СПТЦ} – первичный сперматоцит в лептотене

Зиг_{СПТЦ} – первичный сперматоцит в зиготене

Дипл_{СПТЦ} – первичный сперматоцит в диплотене

СП_{II} – сперматоцит II порядка

С_А – ранние сперматиды тип А

Б₀ – ранние сперматиды тип Б с округлым ядром

Б₀ – ранние сперматиды тип Б с удлинённым ядром

С_С – поздние сперматиды тип С

С_Д – поздние сперматиды тип Д

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абубакиров А.Н. Повреждения ДНК сперматозоидов и мужское бесплодие / А. Н. Абубакиров. - Текст: непосредственный // Урология. - 2009. - №3.-С.86-91.
2. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов. – Москва: Медицина, 1990. – 384 с. – Текст: непосредственный.
3. Амчеславский В.Г. Травматические субарахноидальные кровоизлияния (современные аспекты применения кальциевых блокаторов) / В.Г. Амчеславский - Текст: непосредственный // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Бурденко. - 1998. - №3.-С.54-55.
4. Анализ уронефрологической заболеваемости в Российской Федерации по данным официальной статистики / О.И. Аполихин, А.В. Сивков, Д.А. Бешлиев [и др.]. – Текст : непосредственный // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – № 1. – С. 3-11.
5. Анохин Л.В. Эпидемиология бесплодия в браке / Л.В. Анохин, О.Е. Коновалов. - Текст: непосредственный // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. - 1998. - №1-2. - С. 19-22.
6. Антитромботические механизмы в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы / А.А. Павленко, Н.Н. Епифанцева, Ю.А. Чурляев, П.Г. Ситников. - Текст: непосредственный // Анестезиология и реаниматология. - 2004. - №6.- С.29-32.
7. Артифексов С.Б. Андрологические аспекты бесплодного брака / С. Б. Артифексов. - Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. - 1996. - №2.-С.46-47.
8. Астраханцев, А.Ф. Морфологические изменения мужских половых желез при хроническом алкоголизме: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / А.Ф. Астраханцев. – Москва, 1984. – 17 с. – Текст : непосредственный.

9. Астраханцев, А.Ф. Морфофункциональные изменения тестикул при гемодинамических нарушениях / А.Ф. Астраханцев, Н.М. Крупнов. - Текст: непосредственный // Урология и нефрология.- 1996. - № 5.- С. 50 - 51.
10. Астраханцев, А.Ф. Структура мужских половых желез в постнатальном онтогенезе: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / А.Ф. Астраханцев.- Рязань, 1995. - 242 с. - Текст: непосредственный.
11. Бездетный брак: роль мужского фактора (клинические и организационно-методические аспекты) / В. А. Божедомов, Н.А. Липатова, Е.А. Спориш [и др.]. - Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. - 2014. - №1. - С. 70-77.
12. Белковые маркеры спермоплазмы в лабораторной диагностике бесплодия при заболеваниях мужской репродуктивной системы / Н. А. Липатова [и др.]. - Текст: непосредственный // Клинич. лаб. диагностика. - 1998. - №2.-С.15-16.
13. Бесплодие у мужчин с травмой спинного мозга: современное состояние проблемы / В. В. Иремашвили, Н.Л. Брэкетт, И. Ибрахим [и др.]. - Текст: непосредственный // Урология. - 2012. - №1. - С. 68-72.
14. Божедомов, В.А. Эпидемиология и причины аутоиммунного мужского бесплодия / В. А. Божедомов, О. В. Теодорович. - Текст: непосредственный // Урология. - 2005. - №1.-С.35-44.
15. Буньков, К.В. Морфометрические сравнительные соотношения канальцево-стромального и эпителиально-стромального индексов яичек плодов / К.В. Буньков. – Текст : непосредственный // Морфологические ведомости. – 2015. – №2. – С. 35-41.
16. Варикоцеле как причина мужского бесплодия / В. Кондаков, А. Окулов, Д. Годлевский [и др.]. - Текст: непосредственный // Врач. - 1996. - №11.-С.13-14.
17. Ватолин, П.В. Пути совершенствования организации и оказания андрологической помощи мужчинам молодого возраста / П.В. Ватолин.

- Текст: непосредственный // Последипломное образование работников здравоохранения и современные проблемы медицины: сб. науч. тр. / редкол.: С.С. Петров, Л.П. Гребова, О.Е. Коновалов; РязГМУ. - Рязань, 2007. - С. 144-147.

18. Ватолин, П.В. Уровень и структура андрологической патологии у молодых мужчин в условиях крупного промышленного центра / П.В. Ватолин. - Текст: непосредственный // Последипломное образование работников здравоохранения и современные проблемы медицины: сб. науч. тр. / редкол.: С.С. Петров, Л.П. Гребова, О.Е. Коновалов; РязГМУ. - Рязань, 2007. - С. 141-144.

19. Влияние паховой грыжи на морфофункциональное состояние яичка / Ю.Б. Кириллов, В.Г. Аристархов, И.В. Зотов [и др.]. – Рязань: Русское слово, 2006. – 96 с. – Текст : непосредственный.

20. Влияние паховой грыжи на морфофункциональное состояние яичка : монография / Ю.Б. Кириллов, В.Г. Аристархов, И.В.Зотов [и др.] ; Ряз. гос. мед. ун-т. - Рязань : Рус. слово, 2006. - 96 с. - Текст: непосредственный.

21. Вспомогательные репродуктивные технологии в урологии / О. Б. Лоран, А.С. Сегал, Д.Ю. Пушкарь [и др.]. - Текст: непосредственный // Урология. - 2001. - №4.-С.39-42.

22. Вторичные факторы повреждений головного мозга при черепно-мозговой травме / В.В. Крылов, А.Э. Талыпов, Ю.В. Пурас, С.В. Ефременко. - Текст: непосредственный // Российский медицинский журнал. - 2009. - №3.- С.23-28.

23. Гамидов, С.И. Мужское бесплодие:современное состояние проблемы / С. И. Гамидов, В. В. Иремашвили, Р. А. Тхагапсоева. - Текст: непосредственный // Фарматека. - 2009. - №9.-С.12-17.

24. Гамидов, С.И. Необструктивная азооспермия – клинические рекомендации / С.И. Гамидов, А.Ю. Попова, Р.И. Овчинников. – Текст : непосредственный // Русский медицинский журнал. – 2015. – № 11(23). – С. 595–601.

25. Гланц, Стентон. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. / СтентонГланц. – Москва: Практика, 1999. – Текст : непосредственный.
26. Горюнов, В.Г. Причины и признаки мужского бесплодия: методические рекомендации для практического врача / В. Г. Горюнов, Б. Н. Жиборев, В. В. Евдокимов; Ряз. мед. ин-т. - Рязань : Б.и., 1993. - 85 с. - Текст: непосредственный.
27. Гращенко, Н.И. Патогенез острой закрытой черепно-мозговой травмы / Н. И. Гращенко, И.М. Изгер. – Текст : непосредственный // Руководство по неврологии. – Москва, 1962. – Т.8. – С.11-12.
28. Григоренко, А.А. Морфологические изменения в яичках мужчин, злоупотребляющих алкоголем / А.А. Григоренко, С.С. Перфильева. - Текст: непосредственный // Архив патологии. - 2013. - Т.75, №4. - С. 20-23.
29. Громов, А.П. Биомеханика травмы / А. П. Громов. – Москва: Медицина, 1979. – 271 с. – Текст : непосредственный.
30. Гусак, Ю.К. Некоторые количественные показатели ультраструктурного исследования хроматина сперматозоидов при нарушении фертильности / Ю.К. Гусак, Е.Е. Брагина, Н.Ю. Гусак. - Текст: непосредственный // Инновационные подходы к диагностике и лечению онкологических заболеваний: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 70-летию ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России / под ред. Е.П. Куликова; РязГМУ. - Рязань, 2013. - С. 78-82.
31. Диагностика мужского бесплодия, ассоциированного с микроделециями в локусе AZF хромосомы Y / И.Ю. Барков, Н.Е. Сорока, А.Ю. Попова [и др.]. - Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. - 2014. - №1. - С. 59-64.
32. Дизрегуляция вегетативной, гипофизарно-надпочечниковой и иммунной систем у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой / Ю.И. Кравцов, К.В. Шевченко, В.А. Четвертных, Е.Ю. Кравцова. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 2013. - Т.113, №2. - С. 4-8.

33. Дорошева, Ж.В. Судебно-гистологическая оценка ушиба головного мозга у лиц пожилого возраста на фоне артериальной гипертонии / Ж. В. Дорошева, Е.Ю. Джемисон. - Текст: непосредственный // Судеб.-мед. экспертиза. - 2013. - Т.56, №5. - С. 4-6.
34. Древаль А.В. Репродуктивная эндокринология / А.В. Древаль; Изд. группа "ГЭОТАР-Медиа", 2019. - 240 с. - Текст: непосредственный
35. Жиборев, Б.Н. Мужское бесплодие и хирургические заболевания органов половой системы / Б.Н. Жиборев ; Ряз. гос. мед. ун-т. - М. : Изд. группа "ГЭОТАР-Медиа", 2018. - 297 с. - Текст: непосредственный.
36. Жиборев, Б.Н. Распространенные хирургические заболевания органов половой системы и нарушение репродуктивной способности мужчины / Б.Н. Жиборев. - Текст: непосредственный // Вопросы клинической урологии: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 100-летию организации уролог. о-ва в России / под ред. Б.Н. Жиборева; РязГМУ. - Рязань,2007.-С.182-186.
37. Жиборев, Б.Н. Варикоцеле и мужское бесплодие в аспекте полигенной природы гипогонадизма и проявлений синдрома дисплазии соединительной ткани / Б. Н. Жиборев. - Текст: непосредственный // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. - 2007. - №4.-С.72-78.
38. Жиборев, Б.Н. Значение урологической патологии в этиологии мужского бесплодия / Б.Н. Жиборев, Б.Ю. Ракчеев. - Текст: непосредственный // Вопросы клинической урологии: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 100-летию организации уролог. о-ва в России / под ред. Б.Н. Жиборева; РязГМУ. - Рязань,2007.-С.214-215.
39. Загарских, Е.Ю. Опыт лечения нормогонадотропного бесплодия у мужчин / Е. Ю. Загарских, А. В. Лабыгина, Н. А. Курашова. - Текст: непосредственный // Урология. - 2014. - №5. - С. 87-89.
40. Значение краниографии у мужчин в диагностике причин бесплодия в браке / А.Б. Терещенко [и др.]. - Текст: непосредственный // Материалы науч. конф., посвящ. 60-летию основания Рязан. гос. мед. ун-та / под общ. ред. В.Г. Макаровой; РязГМУ. - Рязань,2004. - Ч.2.-С.72-73.

41. Иванов, Ю.Б. Динамика видового состава и антилизоцимной активности микрофлоры эякулята под воздействием локальной гипертермии / Ю.Б. Иванов, М.Д. Кузьмин. - Текст: непосредственный // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 1996. - №3.-С.86-88.
42. Ингибин В и активин А в патогенезе идиопатического бесплодия у мужчин / Э.Ф. Галимова, Г.Х. Ахмадуллина, К.В. Булыгин [и др.]. - Текст : непосредственный // Казанский медицинский журнал. – 2015. – № 5 (96). – С. 749–52. DOI: 10.17750/KMJ2015–749.
43. Каракулова, Ю.В. Мониторинг нейротрофических факторов и когнитивных функций у пациентов с черепно-мозговой травмой / Ю.В. Каракулова, Н.В. Селянина. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2017. - Т.117, №10. - С. 34-37.
44. Карашев, Б.Г. Черепно-мозговая травма и сексуальная функция: корреляция особенностей сексуальных расстройств и локализации патологического очага в головном мозге / Б.Г. Карашев, Н.Д. Кибрик. – Текст : непосредственный // Андрология и генитальная хирургия. – 2013. – №4. – С. 53-57.
45. Карпунин, А.Ю. Лечебно-диагностическая тактика в острейшем и остром периодах тяжелой черепно-мозговой травмы, осложненной рецидивирующей субдуральной гематомой / А. Ю. Карпунин, О. А. Векшина, Н. Г. Ильин. - Текст: непосредственный // Теоретические и практические вопросы клинической медицины: сб. науч. тр., посвящ. 30-летию ГБУ Рязанской области "Рязанская областная клиническая больница" / под ред. А.А. Низова; РОКБ, РязГМУ. - Рязань, 2012. - С. 140-141 .
46. Карпухин, И.В. К вопросу о классификации мужского бесплодия / И.В. Карпухин, А.А. Ли. - Текст: непосредственный // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры. - 2007. - №3.-С.26-29.
47. Касумова С.Ю. Патологическая анатомия черепно-мозговой травмы / С.Ю. Касумова - Текст: непосредственный // Клиническое руководство по черепно-мозговой травме. – М.: Антидор, 1998. – Т.1. – С. 169-225.

48. Климаш, А.В. Посттравматическое вегетативное состояние (некоторые аспекты нарушений организации мозговых функций) / А.В. Климаш, Е.Н. Кондаков. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 2010. - Т.110, №5. - С. 117-121.

49. Клиническая диагностика в неврологии: руководство для врачей / под ред. М.М. Одинака, Д.Е. Дыскина, И.В. Литвиненко - Текст: непосредственный // СПб.: СпецЛит, 2016. - 528 с.

50. Комиссарова, Н.В. Состояние вегетативной нервной системы у больных, перенесших среднетяжелую черепно-мозговую травму / Н.В. Комиссарова. - Текст: непосредственный // Казан. мед. журн. - 1995. - Т.76, №1. - С.47-50.

51. Комплексное обследование мужчин в диагностике причин бесплодия в браке / Ю.К. Гусак [и др.]. - Текст: непосредственный // Вопросы клинической урологии: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 100-летию организации уролог. о-ва в России / под ред. Б.Н. Жиборева; РязГМУ. - Рязань, 2007. - С.210-213.

52. Коновалов, О.Е. Современные тенденции распространенности андрологической патологии (по материалам Пензенской области) / О.Е. Коновалов, П.В. Ватолин. - Текст: непосредственный // Вопросы клинической урологии: межрегиональный сборник научных трудов, посвященный 100-летию организации урологического общества в России / под ред. Б.Н. Жиборева; РязГМУ. - Рязань, 2007. - С.180-182.

53. Крупнов, Н.М. Морфологические изменения мужских половых желез на поздних этапах онтогенеза и при атеросклерозе: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Н.М. Крупнов. – Рязань, 2002. –18 с. – Текст : непосредственный.

54. Кулешов, Н.П. Лабораторные генетические методы исследования мужского бесплодия / Н.П. Кулешов, Э.А. Кулешова, В.Н. Суровиков. - Текст: непосредственный // Рос. мед. журн. - 2005. - №1. - С.47-48.

55. Кульченко, Н.Г. Морфологические изменения в ткани яичка при бесплодии / Н.Г. Кульченко, Г.А. Демяшкин. – Текст: непосредственный // Андрология и генитальная хирургия. – 2016. – Т.17, №3. – С. 38-42.
56. Курило Л.Ф. Возможности цитогенетического исследования мейоза при мужском бесплодии / Л.Ф. Курило. – Текст: непосредственный // Цитология и генетика, 1989. 23, №2. – С. 63-70.
57. Лихтерман Л.Б. Классификация последствий черепно-мозговой травмы / Л.Б. Лихтерман, А.Д. Потапов, В.А. Кравчук. - Текст: непосредственный // Неврологический журн. - 1998. - Т.3,№3.-С.12-14.
58. Лихтерман Л.Б. Классификация черепно-мозговой травмы. Часть II. Современные принципы классификации ЧМТ / Л.Б. Лихтерман – Текст: непосредственный // Судебная-медицина. 2015;1(3):37-48.
59. Локтев, В.Е. Судебно-медицинское значение динамики функционально-морфологических изменений гипофиза при черепно-мозговой травме / В.Е. Локтев. Учебное пособие – Москва, 1977. – 41 с. – Текст: непосредственный.
60. Мидори, И.М. Синдром сдавливания головного мозга при черепно-мозговой травме / И.М. Мидори, В.П. Берснев, Н.П. Рябуха. - Текст: непосредственный // Вестн. хирургии им. Грекова. - 2012. - Т.171, №6. - С. 66-68.
61. Милюков, В.Е. Критерии формирования возрастных групп пациентов в медицинских исследованиях / В.Е. Милюков, Т.С. Жарикова – Текст: непосредственный // Клиническая медицина. – 2015. – № 11. – С. 7-13.
62. Морфологическая характеристика биоптатов яичка при бесплодии / Е. А. Дубова, Р.И. Овчинников, А.Ю. Попова [и др.]. - Текст: непосредственный // Архив патологии. - 2012. - Т.74, №6. - С. 8-12.
63. Морфологическая характеристика биоптатов яичка при бесплодии / Е.А. Дубова, Р.И. Овчинников, А.Ю. Попова [и др.]. – Текст : непосредственный // Архив патологии. – 2012. – № 6 (74). – С. 8-12.

64. Морфологические изменения мужских половых желез в различные сроки после черепно-мозговой травмы / А.В. Федотов, Н.М. Крупнов, М.П. Мазурова [и др.]. – Текст : непосредственный // Материалы V съезда Российского общества патологоанатомов. – Челябинск, 2017. – С. 339.
65. Мхитаров, В.А. Морфологическая характеристика семенников крыс Вистар при интоксикации морфином / В.А. Мхитаров, Л.К. Лунькова. - Текст: непосредственный // Архив патологии. - 2008. - Т.70, №6. - С. 41-44.
66. Мхитаров, В.А. Морфофункциональные изменения системы гипофиз-надпочечники-гонады самцов крыс Вистар при длительном употреблении этанола в условиях свободного выбора / В.А. Мхитаров. - Текст: непосредственный // Архив патологии. - 2008. - Т.70, №6. - С. 38-41.
67. Мякотных, В.С. Функциональное состояние периферической нервной системы в отдаленном периоде закрытой черепно-мозговой травмы у ветеранов Афганистана / В.С. Мякотных, С.А. Серов. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 1998. - Т.98, №3.-С.48-49.
68. Нейрогуморальный ответ в остром периоде тяжелой черепно-мозговой травмы / Л.М. Ценципер, Р.В. Назаров, О.М. Распопова [и др.]. - Текст: непосредственный // Анестезиология и реаниматология. - 2017. - Т.62, №3. - С. 205-209.
69. Николаев, А.А. Показатели сперматогенеза мужчин, подверженных воздействию неблагоприятных условий среды. - Текст: непосредственный / А. А. Николаев, П. В. Логинов // Урология. - 2015. - №5. - С. 60-64.
70. Обухова, А.В. Легкая черепно-мозговая травма и ее последствия / А.В. Обухова, Д.Р. Штульман. - Текст: непосредственный // Рос. мед. журн. - 2001. - №3.-С.41-44.
71. Оксидативный стресс сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия / В. А. Божедомов, Д.С. Громенко, И.В. Ушакова [и др.]. - Текст: непосредственный // Урология. - 2009. - №2.-С.51-56.

72. Оптимизация подхода к решению проблемы бесплодного брака у мужчин с секреторной азооспермией / Г. Т. Сухих, С.И. Гамидов, А.Ю. Попова [и др.]. - Текст: непосредственный // Терапевт. арх. - 2013. - Т.85, №10. - С. 70-75 .

73. Осетров, А.С. К характеристике психовегетативного синдрома при последствиях закрытой черепно-мозговой травмы / А.С. Осетров. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 1995. - Т.95, №6.-С.7-9.

74. Особенности церебральной гемодинамики в остром периоде у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой / И.Б. Заболотских, А.С. Бабков, Н.В. Трембач, А.Н. Курзанов. - Текст: непосредственный // Анестезиология и реаниматология. - 2012. - №4. - С. 58-62.

75. Оценка воздействия хирургической травмы при выполнении паховой герниопластики на функциональное состояние яичка и потенциал фертильности / И. С. Собенников, В.Г. Аристархов, А.А. Черенков [и др.]. - Текст: непосредственный // Рос. медико-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова. - 2014. - №2. - С. 117-122.

76. Папков, В.Г. О морфологической характеристике нейросекретного процесса при черепно-мозговой травме / В.Г. Папков, Ю.В. Прошина. - Текст: непосредственный // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной патологии: межрегион. сб. науч. тр. / отв. ред.: Ю.Ю. Бяловский, С.В. Булатецкий; РязГМУ. - Рязань, 2005.-С.119-121.

77. Патент № 2 199 117 Российская Федерация, МПК G01N33/48. Способ диагностики гипосперматогенеза и атрофии сперматогенных клеток яичка: № 2001101406/14: заявл. 15.01.2001: опубл. 20.02.2003 / Астраханцев А.Ф., Соловьев А.А. – Текст : непосредственный.

78. Патент № 2 665 162 С1 Российская Федерация, МПК Способ диагностики нарушения сперматогенеза путем определения цитологического профиля: № 2017123419: заявл. 03.07. 2017: опубл. 28.08.2018 / Астраханцев

А.Ф., Мазурова М.П., Федотов А.В., Папков В.Г. – Бюл. 25. – Текст : непосредственный.

79. Патология: руководство / А.В. Берестова, Г.Н. Берченко, В.А. Варшавский [и др.]. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва, 2015. – Текст : непосредственный.

80. Патоморфологические изменения семенника после биопсии яичка / А. Ф. Астраханцев [и др.]. - Текст: непосредственный // Вопросы клинической урологии: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 100-летию организации уролог. о-ва в России / под ред. Б.Н. Жиборева; РязГМУ. - Рязань, 2007. - С.247-250.

81. Пашинян Г.А. Патоморфология и экспертная оценка повреждений головного мозга при черепно-мозговой травме / Пашинян Г.А., Кусумова С.Ю., Добровольский Г.Ф., Ромодановский П.О. - Москва, Ижевск: Изд-во «Экспертиза», 1994. — 134 с. - Текст : непосредственный.

82. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. – 4-е изд. доп. и перераб. – Казань, 2012. – 288 с. – Текст : непосредственный.

83. Повреждение сосудистого эндотелия и нарушения системы регуляции агрегатного состояния крови у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой / Н.В. Говорова, А.К. Воинов, В.Н. Лукач [и др.]. - Текст: непосредственный // Анестезиология и реаниматология. - 2004. - №6.-С.32-35.

84. Полякова, В.Б. Роль состояния ствола головного мозга при определении степени компенсации механизмов регуляции вегетативных функций (на примере черепно-мозговой травмы) / В.Б. Полякова. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 1999. - Т.99, №8.-С.9-11.

85. Попов, В.Л. Черепно-мозговая травма: судебно-медицинские аспекты / В.Л. Попов. – Ленинград: Медицина, 1988. – 240 с. – Текст : непосредственный.

86. Потапов А.А. Лёгкая черепно-мозговая травма: клинические рекомендации / А.А. Потапов, Л.Б. Лихтерман, А.Д. Кравчук и др. - Текст: непосредственный // М.: Ассоциации нейрохирургов России, 2016. — 23 с.
87. Причины и факторы риска мужской инфертильности / Л. И. Колесникова С.И. Колесников, Н.А. Курашова, Т.А. Баирова. - Текст: непосредственный // Вестн. Рос. АМН. - 2015. - Т.70, №5. - С. 579-584.
88. Прошина Ю.В. Функциональная морфология гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при тяжелой черепно-мозговой травме: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Ю.В. Прошина. – Москва, 2007. –26 с. – Текст: непосредственный.
89. Пугачев, А.Г. Варикоцеле у детей и подростков и бесплодие / А. Г. Пугачев, В. В. Евдокимов, В. И. Ерасова. - Текст: непосредственный // Урология и нефрология. - 1995. - №2.- С.34-35.
90. Пушаков, С.М. Механизм образования и морфологические особенности внутривенных кровоизлияний при черепно-мозговой травме / С.М. Пушаков. - Текст: непосредственный // Судебно-медицинская экспертиза. - 1997. - Т.40, №1.-С.9-11.
91. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции / С.С. Райцина - Текст: непосредственный // М., Наука, 1985. - 205 с.
92. Ракчеев, Б.Ю. Значение урологической патологии в этиологии мужского бесплодия / Б.Ю. Ракчеев. - Текст: непосредственный // Актуальные вопросы клинической урологии: межрегион. сб. науч. тр., посвящ. 50-летию Рязанского регионального отделения Российского общества урологов / под ред. Б.Н. Жиборева; РязГМУ. - Рязань, 2013. - С. 131-135.
93. Роживанов, Р.В. Стимуляция сперматогенеза у мужчин при патоспермии и бесплодии / Р.В. Роживанов, Н.С. Кравцова, Д.Г. Курбатов. - Текст: непосредственный // Урология. - 2016. - №1 (Прил.). - С. 54-58.
94. Розанов, В.А. Современные представления о патогенезе необратимых повреждений нервных клеток при черепно-мозговой травме / В. А. Ро-

занов, В.А. Цепколенко, Л.Э. Клаупик. - Текст: непосредственный // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Бурденко. - 1998. - №2.- С.37-41.

95. Ромодановский, П.О. Некоторые аспекты диффузного аксонального повреждения мозга при травме головы / П.О. Ромодановский. - Текст: непосредственный // Судеб.-мед. экспертиза. - 2013. - Т.56, №3. - С. 18-20.

96. Русаков, В.В. Ранние признаки миокардиальной дисфункции при тяжелой черепно-мозговой травме / В.В. Русаков. - Текст : непосредственный // Омский научный вестник. – 2013. – №1 (118). – С. 78-91.

97. Саяпина, И.Ю. Использование программы "ВИДЕОТЕСТ - МОРФОЛОГИЯ 5.0" в оценке компенсаторно-приспособительных реакций органов мужской репродуктивной системы крыс / И.Ю. Саяпина, С.С. Целуйко, В.А. Доровских. - Текст : непосредственный // Информатика и системы управления. – 2010. – № 2 (24). – С. 73-76.

98. Сероухов, А.С. Зависимость выживания и последствий тяжелой черепно-мозговой травмы в зависимости от числа и размеров очага ушиба головного мозга / А.С. Сероухов, А.С. Стариков. - Текст: непосредственный // Клинико-экспериментальные аспекты общей патологии: межрегион. сб. науч. тр. / [отв. ред. Ю.Ю. Бяловский, С.В. Булатецкий]; РязГМУ. - Рязань, 2004. - С.169-171.

99. Сиволап, Ю.П. Травматическое повреждение мозга: неврологические и психопатологические аспекты / Ю.П. Сиволап, И.В. Дамулин, О.Н. Воскресенская. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2017. - Т.117, №9. - С. 94-98.

100. Сингур, Н.А. Ушибы мозга (механизмы возникновения, патологическая анатомия, судебно-медицинская диагностика) / Н.А. Сингур. – Москва: Медицина, 1970. – 224 с. – Текст : непосредственный.

101. Соловьев, А.А. Острые паротитные орхиты у взрослых: диагностика, клиника, лечение: автореферат диссертации на соискание ученой сте-

пени кандидата медицинских наук / А.А. Соловьев. – Рязань, 2002. –17 с. – Текст: непосредственный.

102. Солохин Е.В. Повреждения гипофиза у лиц с черепно-мозговой травмой, умерших в стационаре / Е.В. Солохин, Т.С. Белова, В.А. Строкова и др. – Текст: непосредственный // Судебно-медицинская экспертиза. – 2001. - №5. – С.8-11

103. Сравнительный анализ органомерических показателей мужских половых желез человека в различные возрастные периоды / Ю.Д. Алексеев, Е.Н. Савенкова, А.А. Ефимов, К.А. Райкова. – Текст : непосредственный // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2015. – Т. 5, №7. – С. 993-996.

104. Стрелков, А.Н. Хирургические и морфологические аспекты варикоцеле: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / А.Н. Стрелков. – Рязань, 2002. – 21 с. – Текст : непосредственный.

105. Судебно-медицинская оценка острой кровопотери в сочетании с черепно-мозговой травмой и алкогольной интоксикацией / Ю.И. Пиголкин, Р.В. Должанский, Б.У. Борлакова, М.Д. Пильх. - Текст: непосредственный // Судебно-медицинская экспертиза. - 2007. - Т.50,№3.-С.3-5.

106. Факторы риска нарушений фертильности мужчин на урбанизированной территории / Е.А. Михайлова, Н.П. Сетко, Л.Г. Воронина [и др.]. - Текст: непосредственный // Гигиена и санитария. - 2012. - №3. - С. 29-31.

107. Филиппов, О.С. Причины мужского бесплодия в Сибири / О. С. Филиппов, А.А. Радионченко. - Текст: непосредственный // Урология и нефрология. - 1997. - N4.-С.33-34.

108. Филиппов, О.С. Причины и факторы развития бесплодия среди населения Сибири / О.С. Филиппов. - Текст: непосредственный // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2002. - №3.-С.47-49.

109. Хаит, Н.З. Половые расстройства у мужчин при поражении гипоталамуса / Н.З. Хаит. – Обнинск, 1993. – 160 с. – Текст : непосредственный.

110. Хижнякова, К.И. Динамика патоморфологии черепно-мозговой травмы / К.И. Хижнякова. – Москва: Медицина, 1983. – С. 75-84. – Текст : непосредственный.

111. Чалый, М.Е. Мужское бесплодие / М. Е. Чалый, Н. Д. Ахвледиани, Р. Р. Харчилава. - Текст: непосредственный // Урология. - 2018. - №4 (Прил. 1: Российские клинические рекомендации). - С. 4-19.

112. Чалый, М.Е. Мужское бесплодие. Российские клинические рекомендации / М. Е. Чалый, Н. Д. Ахвледиани, Р. Р. Харчилава. - Текст: непосредственный // Урология. - 2016. - №1 (Прил.). - С. 2-16.

113. Челяпина, М.В. Синдром холинергической недостаточности при длительном угнетении сознания после тяжелой черепно-мозговой травмы / М.В. Челяпина, Е.В. Шарова, О.С. Зайцев. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 2016. - Т.116, №7. - С. 17-24.

114. Шадыев, Х.Д. Наблюдение позднего внутричерепного осложнения у больного с тяжелой черепно-мозговой травмой / Х.Д. Шадыев, О.В. Дерюгина. - Текст: непосредственный // Вестник оториноларингологии. - 2001. - №4.-С.61-62.

115. Шерман, М.А. Состояние неспецифических систем головного мозга при легкой боевой черепно-мозговой травме / М.А. Шерман. - Текст: непосредственный // Журн. неврологии и психиатрии им. Корсакова. - 2001. - Т.101,№8.-С.45-49.

116. Шишков, Т.Т. О проблеме механизма черепно-мозговой травмы / Т. Т. Шишков. – Текст : непосредственный // Актуальные вопросы судебной медицины. – Москва, 1990. – С.89-92.

117. Шульга, В.А. Гормоны коры надпочечников и семенников при эмоциональном стрессе у крыс с генетическим предрасположением к каталептической реакции / В.А. Шульга, Т.А. Алехина, В.Г. Колпаков. - Текст: непосредственный // Пробл. эндокринологии. - 1997. - Т.43,№1.-С.38-39.

118. Этиология аутоиммунного мужского бесплодия / В. А. Божедомов, М.А. Николаева, И.В. Ушакова [и др.]. - Текст: непосредственный // Акушерство и гинекология. - 2013. - №2. - С. 68-76.
119. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe / F. Tagliaferri, C. Compagnone, M. Korsic [et al.]. – Text : direct // Acta Neurochir (Wien). – 2006. – Vol. 148, № 3. – P. 255 – 268.
120. Aloni, R. Sexual function after traumatic brain injury. //Harefuah.-1998.-134, P. 16-821.
121. Bellamkonda E, Zollman F. Relationship between employment status and sexual functioning after traumatic brain injury.// Brain Inj. 2014.-28(8): P. 1063-9.
122. Bergh, F.A. Immunohistochemical localization of inhibin in testes of normal men and in men with testicular disorders / F.A. Bergh, S. Calander. – Text : direct // Int J Androl. – 1990. – Vol. 13, № 6. – P. 463-469.
123. Bergmann, M. Evaluation of testicular biopsy samples from clinical perspective / M. Bergmann. – Text : direct // Andrology for the clinician / eds.: W.D. Schill, F.H. Comhaire, T. Hargreave. – Berlin: Springer-Verlag, 2006. – P. 454-61.
124. Bergmann, M. Physiology of Spermatogenesis / // Andrology for the clinician / eds.: W.D. Schill, F.H. Comhaire, T. Hargreave. – Berlin: Springer, 2006. – P. 278-81. – Text : direct.
125. Brazinova A, Rehorcikova V, Taylor MS, et al. Epidemiology of Traumatic Brain Injury in Europe: A Living Systematic Review [published online ahead of print, 2018 Dec 19]. *J Neurotrauma*. 2018;10.1089/neu.2015.4126. doi:10.1089/neu.2015.4126 - Text: direct.
126. Buchlon, H. Histologische Untersuchungen über den Lipidgehalt menschlicher Hoden: diss. / H. Buchlon; Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität Würzburg. – Würzburg, 1957. – 29 s. – Text: direct.

127. Canadian Neighbor Pharmacy Sex-Specific Differences in Mouse: result. – Text : direct // J. Treatment of Disease Today. – 2014. – May.
128. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Rates of hospitalization related to traumatic brain injury-nine states, 2003. – Text : direct // MMWR Morb Mortal Wkly Rep. – 2007. – Vol. 56, № 8. – P. 167-170.
129. Congenital combined pituitary hormone deficiency patients have better responses to gonadotrophin-induced spermatogenesis than idiopathic hypogonadotropic hypogonadism patients / J. Mao, H. Xu, X. Wang [et al.]. – Text : direct // Hum. Reprod. – 2015. – July 3. – P. 32 – 40.
130. Cyran, E. Hypophysenschädigung durch Schadelbasisfraktur / E. Cyran. – Text : direct // Dtsch Med Wochenschr. – 1918. – Bd. 4. – S. 1261.
131. Dabbs, D.J. Diagnostic immunohistochemistry / D.J. Dabbs. – 3rd edition. – Saunders, 2010. – 854 p. – Text : direct.
132. Different distribution of c-kit positive interstitial cells of Cajal-like in children's urinary bladders / A.M. Piaseczna-Piotrowska, M. Dzieciecka, A. Kulig [et al.]. – Text : direct // Folia Histochem Cytobiol. – 2011. – Vol. 49, № 3. – P. 431-5.
133. Distribution and number of Cajal-like cells in testis tissue with azoospermia / H. Eray, T. Tahsin, B. Nebil [et al.]. – Text : direct // Kaohsiung J. Med. Sci. – 2017. – Vol. 33, № 4. – P. 181-186.
134. Dyer K., Nair R. Talking about sex after traumatic brain injury: perceptions and experiences of multidisciplinary rehabilitation professionals. //Disabil Rehabil.-2013 Nov.-29.
135. Dysregulation of apoptotic pathway candidate genes and proteins in infertile azoospermia patients / D. Jaiswal, S.K. Trivedi, N. Agrawal, K. Singh. – Text : direct // Fertility and Sterility. – 2015. – Vol. 104, № 3. – P. 736–43.
136. Exintaris B. Spontaneous slow wave and contractile activity of the guinea pig prostate / B. Exintaris, M.F. Klemm, R.J. Lang. – Text: direct // J. Urol. – 2002. – Vol. 168. – P. 315-22.

137. Expression of c-kit receptor and protein mRNA in the developing, adult and irradiated rodent ovary / S.M. Prabhu, M.L. Meistrich, E.A. McLaughlin [et al.]. – Text : direct // *Reprod.* – 2006. – Vol. 131. – P. 489-499.
138. Expression of the proto-oncogene c-kit and its ligand stem cell factor (SCF) in normal and malignant tissue of the human testicles / T. Strohmeyer, D. Reese, M. Press [et al.]. – Text: direct // *J. Urol.* – 1995. – Vol. 153. – P. 511-515.
139. Gerring, Z., Pearson J.F., Morrin H.R. [et al.]. – Text: direct // *Histopathology.* – 2015. – Vol. 67, № 4. – P. 538-47.
140. Girardi, S.K. Submicroscopic deletions in the Y chromosome of infertile men / S.K.Girardi, A.Mielnik, P.N.Schlegel. – Text: direct // *Hum. Reprod.* – 1997. – Vol. 12. – P. 1635-1641.
141. Grafman, J. Handbook of clinical neurology. Traumatic Brain Injury, Part I, Volume 127 / J. Grafman, A. Salazar – Text: direct // NY.: Elsevier, 2015. – 469 p.
142. Guo, T. – Text: direct // *Cell Communication and Signaling.* – 2015. – Vol 13. – P. 34 – 41.
143. Gupta, G.S. Proteomics of Spermatogenesis / G.S. Gupta. – Springer Science & Business Media, 2006. –855 p. – Text : direct.
144. Haidl, G. New WHO-reference limits-revolution or storm in a teapot / G. Haidl. – Text : direct // *Asian J. Androl.* – 2011. – Vol. 13, № 2. – P. 208–211.
145. Haploinsufficiency of Bcl-x leads to male-specific defects in fetal germ cells: differential regulation of germ cell apoptosis between the sexes / S. Kasai, S. Chuma, N. Motoyama, N. Nakatsuji. – Text : direct // *Dev. Biol.* – 2003. – Vol. 264. – P. 202 –216.
146. High androgen receptor immunoexpression in human "Sertoli cell only" testis / L.H. Loukil, T.S. Boudawara, I. Ayadi [et al.]. – Text : direct // *Arch Inst Pasteur Tunis.* – 2005. – Vol. 82, № 1-4. – P. 47-51.
147. Histological and functional organization in human testicle expression of receptors c-kit and androgens / H. Rodri'guez, O. Espinoza-Navarro, L. Sarabia [et al.]. – Text : direct // *Int. J. Morphol.* – 2008. – Vol. 26, № 3. – P. 603-8.

148. Holstein, A.F. Illustrated pathology of human spermatogenesis / A.F. Holstein, E.C. Roosen-Runge, C. Schirren. – Berlin: Grosse, 1988. – Text : direct.
149. Identification of c-kit-positive cells in the mouse ureter: the interstitial cells of Cajal of the urinary tract / Michael A. Pezzone, Simon C. Watkins, Sean M. Alber [et al.]. – Text : direct // Amer. J. Physiol. – Renal Physiol. – 2003. – Vol. 284.
150. Inhibition of testicular germ cell apoptosis and differentiation in mice misexpressing Bcl-2 in spermatogonia / T. Furuchi, K. Masuko, Y. Nishimune [et al.]. – Text : direct // J. Development. – 2004. – Vol. 122. – P. 1703 – 1709.
151. Johannisson, R. Megalospermatocytes in the human testis exhibit asynapsis of chromosomes / R. Johannisson, W. Schulze, A.F. Holstein. – Text : direct // Andrologia. – 2003. – Vol. 35. – P. 146-51.
152. Lachlan, R.I. Genetic disorders and spermatogenesis / R.I. Lachlan, C. Mallidis. – Text : direct // Reprod. Fertil. Devel. – 1998. – Vol. 10. – P. 97-104.
153. Loveland, K.L. Apoptosis regulator bcl-w is essential for spermatogenesis but appears otherwise redundant / K.L. Loveland. – Text : direct // Proc Natl Acad Sci U S A. – 1998. – Vol. 13. – P. 12424 – 31.
154. Miettinen, M. KIT (CD117): a review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation / M. Miettinen, J. Lasota. – Text : direct // Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. – 2005. – Vol. 13, № 3. – P. 205–20.
155. Mitotic activity of Sertoli cells in adult human testis. An immunohistochemical study to characterize Sertoli cells in testicular cords from patients showing testicular dysgenesis syndrome / R. Brehm, R. Rey, S. Kliesch [et al.]. – Text : direct // Anat. Embryol. – 2006. – Vol. 211. – P. 223-36.
156. Okabe, M. Male infertility and the genetics of spermatogenesis / M. Okabe, M. Ikawa, J. Ashkenas. – Text : direct // Amer. J. Hum. Genet. – 1998. – Vol. 62. – P. 1274-1281.

157. Oldereid, N.B. Expression of Bcl-2 family proteins and spontaneous apoptosis in normal human testis / N.B. Oldereid, P. De Angelis, R. Wiger. – Text : direct // *J. Molecular Human reproduction*. – 2001. – Vol. 7, № 5. – P. 403 – 408.
158. Rees P.M., Fowler C.J., Maas C.P. Sexual function in men and women with neurological disorders. // *Lancet*. -2007 Feb 10-369(9560):512-25/
159. Schinz, H.R. Experimentalle und histologische Untersuchungen am Hoden / H.R. Schinz, B. Slotopolski. – Text : direct // *Deutsche Zeitschr. für Chirurg.* – 1924. – Bd.188. – S. 76 – 100.
160. Schneider HJ, Kreitschmann-Andermahr I, Ghigo E, Stalla GK, Agha A. Hypothalamopituitary dysfunction following traumatic brain injury and aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *JAMA*. 2007;298(12):1429-1438. doi:10.1001/jama.298.12.1429.
161. Schniffen, R.C. The normal testis / R.C. Schniffen. – Text : direct // *Arch. Path.* – 1959. – Vol. 50. – P. – 259.
162. Sellier, K. Mechanik und Pathomorphologie der Hirnschaden nach Stumpfer Gewalteinwirkung auf den Schadel / K. Sellier, F.J. Unterharnscheidt. – Text : direct // *Hefte zur Unfallheilkunde*. –1963. – Bd. 76. – S. 140.
163. Solari, V. Altered expression of interstitial cells of Cajal in congenital ureteropelvic junction obstruction / V. Solari, A.P. Piotrowska, P. Puri. – Text : direct // *J. Urol*. 2003. – Vol. 170. – P. 2420-2.
164. Sugiyama, N. Bcl-2 inhibits apoptosis of spermatogonia and growth of spermatogonial stem cells in a cell-intrinsic manner / N. Sugiyama, M. Obinata, Y. Matsui. – Text : direct // *J. Mol. Reprod. Dev.* – 2001. – Vol. 58, № 1. – P. 30 – 38.
165. Tchovelidze C. The testicular biopsy and spermatogenesis disturbance of infertile patients with bilateral varicocele / C. Tchovelidze, Mathilde Sibony, Patrice Callard. - Текст: непосредственный // *Архив патологии*. - 2004. - Т.66, №2. - С. 40-45.

166. Temporal role of Sertoli cell androgen receptor expression in spermatogenic development / R.R. Hazra, L. Corcoran, M. Robson [et al.]. – Text: direct // *Mol Endocrinol.* – 2013. – Vol. 27, № 1. – P. 12-24.
167. The BioGenex Molecular Pathology Catalog. – 2014 – 2015. – 245 p. – Text: direct.
168. The Sertoli cells: Novel clinical potentiality / P.K. Iliadou, C. Tsametis, A. Raprava [et al.]. – Text: direct // *Hormones (Athens).* – 2015. – Vol. 14, № 4. – P. 504-14.
169. The serum inhibin B concentration and reference ranges in normozoospermia / A.L. Barbotin, C. Ballot, J. Sigala [et al.]. – Text : direct // *Eur J Endocrinol.* – 2015. – Vol. 172, № 6. – P. 669–76. DOI: 10.1530/EJE-14–0932.
170. The updated EAU guidelines on Male Infertility / A. Jungwirth, T. Diemer, G.R. Dohle [et al.]; EAU Guidelines Office. – Arnhem, The Netherlands, 2015. – Text: direct.
171. Toth, A. Microbleeds may expand acutely after traumatic brain injury / A. Toth, N. Kovacs, V. Tamas [et al.] // *Neurosci. Lett.* - 2016. - № 617. - P. 207-212. - Text: direct.
172. Traumatic brain injury: classification of initial severity and determination of functional outcome / van Baalen, E. Odding, Al. Maas [et al.]. – Text: direct // *Disabil Rehabil.* – 2003. – Vol. 25, № 1. – P. 9–18.
173. Wrobel, K.H. Immunohistochemical study of seminiferous epithelium in adult bovine testis using monoclonal antibodies against Ki-67 protein and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) / K.H. Wrobel, D. Bickel, R. Kujat. – Text: direct // *J. Cell Tissue Res.* – 1996. – Vol. 283, № 2. – P. 191 – 201.
174. Yan, W. Overexpression of Bcl-w in the Testis Disrupts Spermatogenesis: Revelation of a Role of BCL-W in Male Germ Cell Cycle Control / W. Yan, J. Huang, A-S. Lax. – Text: direct // *J. Molecular Endocrinology.* – 2013. – Vol. 17, Iss. 9. – P. 45 – 57.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1 – Распределение материала по методам исследования

№ по порядку	Методы исследования	Секционный материал
1.	Определение массы органа	45
2.	Определение объема органа	45
3.	Гистотопографические срезы а) окраска гематоксилином и эозином б) по методу Маллори в) морфометрическое определение абсолютного объема: - белочной оболочки - сети половой железы - семенных канальцев - ИСТ	45
4.	Гистологические срезы окраска: а) гематоксилином и эозином б) толуидиновым синим в) Ki-67 г) PCNA д) Фосфогистон е) Ингибин ж) CD117 з) AR	45
5.	Морфометрическое определение: а) относительного объема семенных канальцев б) площади поперечного сечения канальцев в) количество sustentоцитов на поперечном срезе сектора канальцев каждой из 6 клеточных ассоциаций г) полного «Цитологического профиля сперматогенеза» д) относительного количества эндокриноцитов е) абсолютного объема эндокриноцитов ж) относительного объема капилляров з) абсолютного объема капилляров	45
6.	Иммуногистохимическое исследование: а) Ki-67 б) PCNA в) Фосфогистон г) Ингибин д) CD117 е) AR	6 6 6 6 6 6

Таблица 2 – Динамика общих морфометрических показателей половых желез при различных сроках смерти после ЧМТ

Различные сроки наступления смерти после ЧМТ	Морфометрические показатели (M±m)	P По отношению к показателю группы сравнения и контроля
	Масса яичек г	
Смерть на месте происшествия	45,37±3,02	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	37,07±2,84	> 0,05
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	28,5±3,02	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	21,08±0,8	< 0,001
	Абсолютный объем белочной оболочки см ³	
Смерть на месте происшествия	2,41±0,17	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	3,76±0,45	< 0,01
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	3,12±0,51	> 0,05
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	3,97±0,19	< 0,05
	Абсолютный объем сети см ³	
Смерть на месте происшествия	1,47±0,07	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	2,96±0,39	< 0,01
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	1,96±0,23	> 0,05
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	1,02±0,21	> 0,05
	Абсолютный объем ИСТ см ³	
Смерть на месте происшествия	19,3±1,26	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	13,51±1,09	< 0,01
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	10,44±1,06	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	7,06±0,28	< 0,001
	Абсолютный объем канальцев см ³	
Смерть на месте происшествия	22,18±1,55	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	16,81±1,12	< 0,05
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	12,99±1,29	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	9,03±0,41	< 0,001

	Площадь поперечного сечения канальцев $\times 10^3$ мкм ²	
Смерть на месте происшествия	38,66±0,14	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	43,12±1,67	> 0,05
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	48,52±2,26	< 0,01
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	37,5±1,93	> 0,05
	Количество сустентоцитов на поперечном срезе сектора канальцев каждой из 6 стадий цикла	
Смерть на месте происшествия	16,6±0,65	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	17,6±0,17	> 0,05
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	19,1±0,59	< 0,05
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	18,5±0,51	> 0,05
	Толщина стенки канальцев мкм	
Смерть на месте происшествия	8,88±0,14	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	8,3±0,19	< 0,05
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	8,99±0,31	> 0,05
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	12,6±0,9	< 0,001
	Абсолютный объем эндокриноцитов см ³	
Смерть на месте происшествия	2,19±0,14	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	1,19±0,09	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	1,01±0,1	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	0,54±0,07	< 0,001
	Абсолютный объем капилляров см ³	
Смерть на месте происшествия	0,64±0,04	-
Смерть от ЧМТ через 1-3 суток	0,25±0,03	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 6-9 суток	0,19±0,014	< 0,001
Смерть от ЧМТ через 15 суток и более	0,14±0,011	< 0,001

Таблица 3 – Цитологический профиль сперматогенеза в яичках здоровых мужчин погибших на месте ЧМТ (n =19) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
	Сустентоциты	18,61±0,74	18,47±1,13	16,8±1,22	14,12±1,96	15,25±1,73	16,29±0,83
Спермагонии	А темного типа (A _T)	4,29±0,53	4,39 ±0,49	4,18±0,42	3,18±0,3	3,99±0,6	3,84±0,28
	А бледного типа (A _B)	10,24±1,87	10,21±1,8	12,72±1,42	9,96±1,54	10,28±1,68	11,18±1,48
	Спермагонии типа Б	7,19±0,53	5,98±0,36	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	6,01±0,65	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	5,69±0,82	6,41±0,69	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	8,37±0,94
	Пахитенные сперматоциты	26,23±2,44	23,73±1,46	24,15±3,06	18,02±3,93	19,45±4,11	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	18,06±2,9
	Митозы	-	-	-	-	-	5,5±0,73
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	19,89±5,77
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	41,14±6,58	35,73±5,53	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (B _O)	-	-	51,65±7,68	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (B ₀)	-	-	-	45,18±9,58	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	44,73±5,64	23,96 ±3,15
	Поздние Сперматиды типа Д	38,85±2,81	25,19±3,72	-	-	-	-

Таблица 4 – Цитологический профиль сперматогенеза в яичках мужчин погибших через 1-3 суток после ЧМТ (n =9) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
	Сустентоциты	18,6±0,68	17,9±0,79	17,7±0,91	17,1±1,14	17,7±0,88	17,1±1,24
Спермагонии	А темного типа (A _T)	3,26±0,42	3,15±0,28	2,84±0,46	2,21±0,12	2,52±0,41	2,8±0,47
	А бледного типа (A _B)	9,29±0,48	11,1±1,04	11,3±1,04	10,7±1,21	11,8±0,54	10,4±1,06
	Сперматогонии типа Б	4,46±0,33	4,49±0,45	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	6,85±0,88	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	6,07±0,49	6,13±0,4	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	6,21±0,72
	Пахитенные сперматоциты	20±2,61	22,1±2,29	20,4±3,45	18,9±2,47	18,8±2,89	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	12,2±2,24
	Митозы	-	-	-	-	-	3,18±0,76
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	18,4±4,2
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	22,5±3,19	31±5,44	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (B _O)	-	-	34,4±4,8	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (B ₀)	-	-	-	28,6±3,76	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	39,9±2,43	19,3 ±1,61
	Поздние Сперматиды типа Д	30,3±3,27	16,9±2,54	-	-	-	-

Таблица 5 – Цитологический профиль сперматогенеза в яичках мужчин погибших через 6-9 суток после ЧМТ (n =10) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
	Сустентоциты	20,6±1,58	19,6±1,03	19,4±0,92	18,9±2,36	20,1±1,76	16,1±0,75
Спермагонии	А темного типа (A _T)	4,81±1,19	4,11±0,83	3,1±0,69	2,79±0,36	4,44±0,68	2,99±0,48
	А бледного типа (A _B)	10,8±1,48	11,7±0,75	12,1±0,73	11,8±1,04	12,7±0,67	9,34±0,81
	Сперматогонии типа Б	3,98±0,52	3,8±0,46	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	7,67±1,45	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	6,7±0,83	6,57±0,72	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	5,83±0,36
	Пахитенные сперматоциты	15,8±1,94	16,7±1,72	16,2±2,37	12±1,43	15±2,54	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	7,81±0,76
	Митозы	-	-	-	-	-	2,75±0,65
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	12,9±3,85
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	24,1±2,8	29,7±4,7	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (B _O)	-	-	37,9±1,77	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (B ₀)	-	-	-	39,1±1,57	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	52±7,43	21,7±3,26
	Поздние Сперматиды типа Д	35,2±4,84	27,6±3,98	-	-	-	-

Таблица 6 – Цитологический профиль сперматогенеза в яичках мужчин погибших через 15 суток и более, после ЧМТ (n =7) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
	Сустентоциты	16,8±0,57	17,4±0,15	20,6±1,19	20,1±0,98	19±0,14	18,1±0,28
Спермагонии	А темного типа (А _Т)	2,8±0,14	2,77±0,4	6,05±2,18	4,09±1,08	2,8±0	2,35±0,36
	А бледного типа (А _Б)	8,4±0,99	8,3±0,21	6,55±0,95	6,25±0,71	9,7±0,21	9,71±1,21
	Сперматогонии типа Б	4,1±0,21	4,23±0,31	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	4,9±1,06	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	4,83±1,03	7,3±0,64	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	5,07±0,66
	Пахитенные сперматоциты	6±0,57	9,33±0,47	8,3±1,65	7,63±1,56	7,8±0,14	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	7,8±0,26
	Митозы	-	-	-	-	-	3±0
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	5,26±0,29
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	6,1±1,91	5,23±1,11	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (Б ₀)	-	-	6±1,37	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (Б ₀)	-	-	-	5,61±0,79	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	11±0,42	5,89±0,43
	Поздние Сперматиды типа Д	4,8±0,57	6,97±1,67	-	-	-	-

Таблица 7 – Цитологический профиль сперматогенеза (отношение клетка сперматогенеза/суспендоцит) в яичках здоровых мужчин погибших на месте ЧМТ (n=19)(M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
Спермогонии	А темного типа (А _Т)	0,22±0,02	0,25±0,02	0,27±0,03	0,25±0,04	0,31±0,06	0,27±0,02
	А бледного типа (А _Б)	0,55±0,09	0,56±0,09	0,81±0,07	0,69±0,05	0,72±0,05	0,7±0,05
	Сперматогонии типа Б	0,39±0,03	0,33±0,02	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	0,36±0,02	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	0,45±0,06	0,47±0,04	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,55±0,05
	Пахитенные сперматоциты	1,43±0,12	1,35±0,11	1,4±0,13	1,26±0,18	1,27±0,17	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	1,19±0,16
	Митозы	-	-	-	-	-	0,19±0,08
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	1,16±0,28
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	2,23±0,32	1,99±0,28	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (Б _О)	-	-	3,15±0,25	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (Б _У)	-	-	-	3,26±0,43	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	3,3±0,33	1,74±0,24
	Поздние Сперматиды типа Д	2,17±0,18	1,39±0,17	-	-	-	-

Таблица 8 – Цитологический профиль сперматогенеза (отношение клетка сперматогенеза/суспендоцит) в яичках мужчин погибших через 1-3 суток после ЧМТ (n =9) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
Спермогонии	А темного типа (A _T)	0,18±0,02	0,18±0,01	0,16±0,02	0,16±0,02	0,14±0,02	0,17±0,02
	А бледного типа (A _B)	0,52±0,02	0,64±0,04	0,65±0,03	0,64±0,06	0,68±0,04	0,63±0,04
	Спермогонии типа Б	0,25±0,01	0,27±0,02	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	0,39±0,04	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	0,46±0,11	0,35±0,01	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,37±0,03
	Пахитенные сперматоциты	1,15±0,16	1,26±0,13	1,15±0,14	1,09±0,1	1,03±0,12	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,72±0,1
	Митозы	-	-	-	-	-	0,11±0,04
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	1,08±0,25
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	1,28±0,21	1,87±0,37	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (B ₀)	-	-	2,03±0,29	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (B ₀)	-	-	-	1,73±0,17	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	2,28±0,1	1,23±0,13
	Поздние Сперматиды типа Д	1,74±0,19	0,92±0,14	-	-	-	-

Таблица 9 – Цитологический профиль сперматогенеза (отношение клетка сперматогенеза/суспендоцит) в яичках мужчин погибших через 6-9 суток после ЧМТ (n =10) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
Спермогонии	А темного типа (А _Т)	0,23±0,03	0,22±0,04	0,16±0,03	0,15±0,02	0,23±0,03	0,15±0,04
	А бледного типа (А _Б)	0,53±0,03	0,62±0,04	0,63±0,04	0,65±0,03	0,66±0,04	0,48±0,11
	Сперматогонии типа Б	0,19±0,02	0,2±0,02	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	0,42±0,09	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	0,39±0,06	0,35±0,03	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,32±0,07
	Пахитенные сперматоциты	0,78±0,09	0,87±0,1	0,86±0,13	0,68±0,09	0,82±0,14	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,43±0,1
	Митозы	-	-	-	-	-	0,08±0,02
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	0,7±0,25
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	1,2±0,11	1,59±0,24	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (Б ₀)	-	-	1,97±0,09	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (Б ₀)	-	-	-	2,25±0,26	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	2,66±0,27	1,13±0,29
	Поздние Сперматиды типа Д	1,73±0,21	1,45±0,23	-	-	-	-

Таблица 10 – Цитологический профиль сперматогенеза (отношение клетка сперматогенеза/суспендоцит) в яичках мужчин погибших через 15 суток и более, после ЧМТ (n =7) (M±m)

	Типы сперматогенных клеток	Типы клеточных ассоциаций					
		I	II	III	IV	V	VI
Спермогонии	А темного типа (А _Т)	0,17±0,002	0,16±0,02	0,3±0,09	0,19±0,04	0,14±0,0003	0,12±0,01
	А бледного типа (А _Б)	0,52±0,08	0,47±0,01	0,32±0,04	0,31±0,03	0,52±0,17	0,54±0,08
	Сперматогонии типа Б	0,26±0,02	0,24±0,02	-	-	-	-
Первичные сперматоциты	Прелептотенные сперматоциты	-	-	0,24±0,04	-	-	-
	Лептотенные сперматоциты	-	-	-	0,24±0,04	0,41±0,04	-
	Зиготенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,28±0,03
	Пахитенные сперматоциты	0,37±0,008	0,55±0,01	0,4±0,06	0,38±0,07	0,43±0,009	-
	Диплотенные сперматоциты	-	-	-	-	-	0,45±0,004
	Митозы	-	-	-	-	-	0,04±0,01
	Сперматоциты II порядка	-	-	-	-	-	0,31±0,006
Ранние сперматиды	Ранние сперматиды типа А	0,37±0,09	0,3±0,06	-	-	-	-
	Сперматиды типа Б округлые (Б _О)	-	-	0,28±0,05	-	-	-
	Сперматиды типа Б удлинённые (Б _У)	-	-	-	0,28±0,04	-	-
Поздние сперматиды	Сперматиды типа С	-	-	-	-	0,63±0,05	0,35±0,005
	Поздние Сперматиды типа Д	0,28±0,04	0,39±0,1	-	-	-	-