

## Патологические факторы в становлении репродуктивной системы плода (обзор литературы)

*ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России*

### Резюме

В последнее время нарушение репродуктивной функции у мужчин приобрело особую актуальность. Бесплодие у мужчин возникает в результате разнообразных патологических процессов в организме. Известно, что в пренатальном онтогенезе развивается большинство аномалий строения органов половой системы. В обзоре приведены сведения о факторах, которые могут привести к нарушению формирования тестикул и мужскому бесплодию.

**Ключевые слова:** яички плода, мужское бесплодие, иммуногистохимические маркеры

Количество бесплодных браков в последнее время неуклонно растет и составляет 10-20% от всех браков. Многочисленные исследования показали, что в 40-60% случаев причиной отсутствия детей является бесплодие мужчин [1].

Известный факт, что именно в пренатальном онтогенезе закладываются основные варианты нормы и развиваются аномалии строения органов половой системы [2].

Важнейшим повреждающим фактором, способным нарушить, а в ряде случаев остановить развитие органов репродуктивной системы, является кислородное голодание, которое развивается при экстрагенитальной и генитальной патологии беременной женщины, сопровождается большинством акушерских осложнений [3,4,5].

Внутриутробная гипоксия плода и асфиксия новорожденного являются серьезным осложнением беременности и занимают 21-45% в структуре всей перинатальной патологии [6].

Эффекты пренатальной гипоксии на организм ребенка зависят от выраженности ее воздействия, индивидуальной толерантности организма и срока внутриутробного развития.

Особое значение уделяется антенатальному повреждению фетальных яичек (особенно при длительном действии повреждающего фактора), так как последствия этих повреждений могут иметь необратимый характер и привести в постнатальном периоде к нарушению как инкреторной, так и сперматогенной функций яичек.

Из функциональных методов исследования врожденных аномалий репродуктивной системы широко применяется УЗИ, которое включает биометрические исследования и детальное изучение половых органов плода [7,8].

Также иногда применяется МРТ, правда чаще всего ее используют для диагностики аномалий центральной нервной системы [9,10].

В литературе мало работ, посвященных изучению изменений в органах репродуктивной системы плода под действием гипоксии на различных периодах развития, хотя морфофункциональное состояние яичек на момент рождения ребенка позволяет судить о тяжести и длительности его внутриутробного кислородного голодания, чувствительности плода мужского пола к гипоксии, а также отражает уровень его неспецифической резистентности. Наиболее информативными и объективными методами исследования в морфологии являются морфометрические методы, позволяющие произвести количественную оценку структурных элементов яичек у плодов и новорожденных. Это позволяет уже на начальных стадиях адаптации организма к изменяющимся условиям среды выявить изменения в структуре органов, которые зачастую остаются незамеченными при рутинных методах исследования [12].

Морфологическое исследование семенников пренатального периода онтогенеза у плодов с аномалиями полового развития позволило установить, что структуры, обеспечивающие генеративную и эндокринную функции, характеризуются негармоничным развитием. Авторы показали, что строение сперматогенного эпителия плодов в возрасте 20 недель и старше соответствовало организации, характерной для 14-16 недельного возраста [11].

Все чаще для оценки морфологических изменений в яичках применяются молекулярные маркеры, выявляемые при использовании иммуногистохимических методик.

По результатам иммуногистохимических исследований в семенниках плодов определяются три популяции клеток. Клетки первой популяции экспрессируют белки OCT4 и SKIT (маркеры первичных половых клеток), у клеток второй популяции они отсутствуют (промежуточные клетки), а клетки третьей популяции начинают экспрессию MAGE-A4 (один из маркеров сперматогоний) и расцениваются как пресперматогонии [13].

Oct-4 (Octamer-binding-4) — маркер плюрипотентности. Данный белок участвует в самообновлении недифференцированных эмбриональных стволовых клеток. Широко используется как маркер для стволовых клеток [14,15].

К числу маркеров ППК на ранних стадиях также относится фактор роста стволовых клеток — лиганд к тирозинкиназному рецептору C-kit (Kit). C-kit (рецептор фактора стволовых клеток) обнаружен в сперматогониях и клетках Лейдига, а также в клетках кроветворной системы, желудочно-кишечного тракта, в меланоцитах [16].

Белок MAGE-A4 экспрессируется в таких опухолях, как меланома, плоскоклеточный рак, раке легких и молочной железы, а также в ткани семенников и плаценты [17].

Для оценки воздействия повреждающего действия гипоксических факторов в тканях в последнее время часто применяются следующие иммуногистохимические маркеры: антитела к HIF-1  $\alpha$ , CAIX.

Гипоксия-индуцируемый фактор-1 HIF-1  $\alpha$  является ядерным фактором, необходимым для активации транскрипции в ответ на гипоксию, который регулирует несколько генов, участвующих в эритропоэзе, обмене железа, ангиогенезе и метаболизме глюкозы. HIF-1  $\alpha$  синтезируется в разных тканях, в том числе и в нервной ткани. Повышенная экспрессия HIF-1  $\alpha$  зарегистрирована при всех онкологических заболеваниях человека. Появляется все больше сведений о том, что активация HIF является протектирующим моментом при ишемических заболеваниях сердца [19,20].

Карбоангидраза IX (CAIX) - фермент, катализирующий обратимую реакцию гидратации диоксида углерода. Карбоангидраза экспрессируется в основном в кишечнике, и её уровень эктопически повышается во многих типах опухолей, таких как карцинома почки, немелкоклеточный рак легких, рак молочной железы и рак шейки матки. Одним из механизмов, лежащим в основе гиперэкспрессии карбоангидразы IX в опухолевых тканях, является гипоксия [21].

В исследовании по изучению экспрессии данных маркеров в различных тканях плода было показано, что в процессе эмбриогенеза практически все ткани эмбриона экспрессируют маркеры гипоксии [18]. Однако конкретных сведений как экспрессируются данные маркеры в тканях яичек не указано.

Исследования С.Н. Потапова и А.Ф. Яковцовой [22] с использованием маркеров апоптоза и пролиферации в тканях яичек плодов и новорожденных детей от матерей с различной степенью выраженности преэклампсии показали, что преэклампсия легкой степени тяжести оказывает стимулирующее влияние как на процессы апоптоза, так и на пролиферацию сперматогоний, клеток Сертоли и Лейдига, при этом процессы пролиферации превалируют над апоптозом. Средней степени тяжести и тяжелая преэклампсия усиливает процессы апоптоза, одновременно снижая уровень пролиферации в указанных клетках. Изучение сосудистого компонента семенных желез выявило усиление ангиогенеза и сосудистой проницаемости во всех группах наблюдений. При этом усиление ангиогенеза было прямо пропорционально степени тяжести преэклампсии.

В настоящее время важное значение придается иммуногистохимическим исследованиям андрогенового рецептора для выявления репродуктивных нарушений, и в частности, функциональных основ мужского бесплодия [23,24,25].

В эмбриональный период андрогены определяют дифференцировку наружных гениталий. В яичках AP экспрессируются в клетках Лейдига, клетках Сертоли, перитубулярных клетках [26].

Авторы отмечают, что мутации этого гена приводят к нарушению развития и внутренних и наружных органов мужской половой системы [27].

К сожалению, данные об изменении экспрессии маркеров рецепторов андрогенов в яичках плода при наличии гипоксии в анамнезе отсутствуют в литературе.

Известно, что гипоксия оказывает влияние на уровень половых гормонов в организме плода, что не может не влиять на развитие гонад. Показателем гормональной активности и физиологического созревания яичек служит уровень в сыворотке крови основного андрогенного гормона – тестостерона.

Имеются сведения об изменении уровня половых гормонов (тестостерона, хорионального гонадотропина) в сыворотке крови новорожденных у матерей с гипоксией. Так, при гипоксии легкой и средней степени тяжести отмечали увеличение содержания тестостерона в крови, что объясняли активацией клеток Лейдига в семенниках и функции коры надпочечников. Выявленный андрогенный «всплеск» расценивали как реакцию организма, направленную на повышение его устойчивости. При тяжелой гипоксии отмечался более низкий уровень тестостерона, что расценивали как истощение компенсаторных возможностей организма вследствие угнетения функциональной активности гонад и коры надпочечников [28,29,30,31].

При гипоксии плода в его крови и в околоплодных водах выявлено увеличение концентрации катехоламинов и других биологически активных веществ, критические уровни которых обуславливают развитие метаболического ацидоза [32].

Исследования Воробьевой Т.Б [6] показали, что при внутриутробной гипоксии и асфиксии новорожденного в пуповинной сыворотке и ткани плаценты уменьшается концентрация эмбриоспецифических (альфа-фетопротеин) и плацентарных (трофобластический бета-глобулин и термостабильная щелочная фосфатаза) белков, которые играют важную роль в развитии и созревании плода.

В литературе имеются экспериментальные данные о влиянии хронической гипоксии на количество потомства и их соматометрические показатели, но данные по влиянию хронической гипоксии на мужскую репродуктивную систему в эксперименте немногочисленны [3,34].

При экспериментальном исследовании в условиях действия экстремальных дестабилизирующих факторов в семенниках резко увеличивалось количество канальцев с деструкцией сперматогенного эпителия и компонентов гематотестикулярного барьера. Увеличивалось количество канальцев с полным отсутствием развивающихся половых клеток. В интерстиции семенников на фоне активизации фибриллогенеза уменьшалась численность клеток Лейдига при одновременном повышении количества эндокриноцитов со сниженной способностью к синтезу стероидов, что сопровождалось снижением уровня тестостерона в сыворотке крови [35].

При моделировании гипоксии в эксперименте отмечалось снижение массы тела, массы яичек новорожденных крыс по сравнению с контролем. При гистологическом исследовании наблюдали интерстициальный отек, уменьшение размеров канальцев. В интерстиции находились клетки Лейдига, содержащие липидные капли [36].

При проведении количественного анализа генеративной и инкреторной функций семенников при окислительном стрессе, индуцированном адаптацией к низким сезонным температурам было установлено, что окислительный стресс вызывает уменьшение численности клеток Лейдига. Оставшиеся клетки Лейдига проявляли признаки функционального напряжения, и обеспечивали синтез тестостерона на уровне интактных животных, вследствие чего выраженные нарушения генеративной функции семенников при адаптации к низким температурам отсутствовали [37].

Таким образом, проведенный обзор литературы по данной тематике показал, что сведений по изучению морфофункционального состояния яичек плодов при действии гипоксии в антенатальном периоде крайне мало, поэтому использование современных молекулярных методов в морфологической оценке созревания гамет и выявление наиболее уязвимых генераций сперматогенного эпителия позволит уточнить некоторые стороны патогенеза нарушения репродуктивной функции при воздействии любого повреждающего фактора, в том числе и гипоксии [36].

#### Литература

1. Данилова Т.И., Тихомирова В.Ю., Мельникова Е.А., Хлудеев В.Н. Крипторхизм и современный подход к профилактике мужского бесплодия. Тихоокеанский медицинский журнал 2006; (4): 59-60.
2. Герасимович Г.И. Онтогенез и врожденные аномалии женских половых органов. Минск: БГМУ, 2010; 60 с.

3. Марковский В.Д., Сорокина И.Д., Мирошниченко М.С., Плитень О.Н., Шапкин О.С. Влияние различных вариантов гипоксии на количество крысят в помете и их соматометрические показатели (экспериментальное исследование). *Экспериментальная и клиническая медицина* 2014; 3(64): 91-94).
4. Damian Hutter, John Kingdom, Edgar Jaeggi. Causes and Mechanisms of Intrauterine Hypoxia and Its Impact on the Fetal Cardiovascular System: A Review. *International Journal of Pediatrics* 2010; (2010): 1-9.
5. Пешкова И.А. Факторы, влияющие на репродуктивное здоровье детей. *Успехи современного естествознания* 2007; (6): 89-91.
6. Воробьева Т.Б. Иммунохимическая характеристика внутриутробной гипоксии плода при перенесенной беременности. *Астраханский медицинский журнал* 2011; 6(3): 222-223.
7. Gideon Fait, Yoav Yaron, Daniel Shenhar, et al. Sonographic detection of undescended testes in the third trimester. *J Ultrasound Med* 2002; (21):15-18.
8. Гаврилова Т.В. Возможности ультразвукового исследования в диагностике врожденных пороков развития плода. *Бюллетень медицинских Интернет конференций*, 2013; 3 (3): 661.
9. Коростышевская А.М., Макагон А.В. МРТ плода: новое слово в пренатальной диагностике. *Медицинская визуализация* 2009; (1): 132-140).
10. Солопова А.Е., Синицын В.Е., Хуисман Т. АГМ. Возможности МРТ в антенатальной диагностике аномалий развития центральной нервной системы плода. *Российский электронный журнал лучевой диагностики* 2011; 1(3): 32-43).
11. Артифксов М.С., Артифксов С.Б., Халецкая О.В., Артифксова А.А. Принципы профилактики полового развития у мальчиков. *Андрология и генитальная хирургия* 2009; б/н: 93-94).
12. Буньков К.В., Кузьменков А.Ю., Савченков А.Л. Сравнительные морфометрические исследования яичек у плодов антенатального периода. *Проблемы репродукции* 2013 (6): 66-71.
13. Kerr CL, Hill CM, Blumenthal PD, et al. Expression of pluripotent stem cell markers in the human fetal testis. *Stem Cells* 2008;26(2):412-421.
14. Zayed AE, Abd-Elnaeim MM, Abd-Elghaffar SKh, et al. Prenatal development of murine gonads with special reference to germ cell differentiation: a morphological and immunohistochemical study. *Andrologia* 2007;39(3): 93-100.
15. Molyneaux KA, Zinszner H, Kunwar PS, et al. The chemokine SDF1/CXCL12 and its receptor CXCR4 regulate mouse germ cell migration and survival. *Development* 2003; (130): 4279-4286.
16. Grewal N, Gittenberger-de Groot AC, DeRuiter MC et al. Bicuspid aortic valve: phosphorylation of c-Kit and downstream targets are prognostic for future aortopathy. *Eur J Cardiothorac Surg* 2014;46(5):831-839.
17. Schneider F, Redmann K, Wistuba J, et al. Comparison of enzymatic digestion and mechanical dissociation of human testicular tissues. *Fertil Steril* 2015; 104(2): 302-311.
18. Shu-Yuan Liao, Michael I Lerman, Eric J Stanbridge. Expression of transmembrane carbonic anhydrases, CAIX and CAXII, in human development. *BMC Developmental Biology* 2009; 9(22): 1-16.
19. Semenza GL, Neufeldt MK, Chi SM, et al. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3 to the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; (88): 5680-5684.
20. Richard J Young, Andreas Möller. Immunohistochemical Detection of Tumour Hypoxia. *Histology Protocols* 2009; (611): 151-159.
21. Pawel Sadlecki, Magdalena Bodnar, Marek Grabiec et al. The Role of Hypoxia-Inducible Factor-1 $\alpha$ , Glucose Transporter-1, (GLUT-1) and Carbon Anhydrase IX in Endometrial Cancer Patients. *BioMed Research International* 2014 (2014): 1-11.
22. Потапов С.Н., Яковцова А.Ф. Иммуногистохимические особенности семенных желез плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией. *Проблемы эндокринной патологии* 2010; (01): 68-75.
23. Rey RA1, Musse M, Venara M, et al. Ontogeny of the androgen receptor expression in the fetal and postnatal testis: Its relevance on Sertoli cell maturation and the onset of adult spermatogenesis. *Microsc Res Tech* 2009; 72(11): 787-795.
24. Arenas MI1, Royuela M, Lobo MV, et al. Androgen receptor (AR), estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and estrogen receptor-beta (ER-beta) expression in the testis of the newt, *Triturus marmoratus marmoratus* during the annual cycle. *J Anat* 2001;199(4):465-472.
25. Connolly F, Rae MT, Bittner L, et al. Excess Androgens in Utero Alters Fetal Testis Development. *Endocrinology* 2013;154(5):1921-1933.
26. Райгородская Н.Ю. Физиологические периоды развития половой системы мальчиков (обзор). *Бюллетень медицинских интернет-конференций* 2014; 4(1): 76-80.
27. Курило Л.Ф. Аномалии развития половой системы вследствие генных мутаций. *Клиническая и экспериментальная морфология* 2014; (2): 58-65
28. Rae MT, Rhind SM, Fowler PA. Effect of maternal undernutrition on fetal testicular steroidogenesis during the CNS androgen-responsive period in male sheep fetuses. *Reproduction* 2002; (124): 33-39.
29. Steier JA, Ulstein M, Myking OL. Human chorionic gonadotropin and Testosterone in Normal and Preeclamptic Pregnancies in Relation to Fetal sex. *Obstet Gynecol* 2002; 100(3): 552-556.
30. Liu JX, Du JZ. Hypoxia alters testis development in neonatal rats. *Neuro Endocrinol Lett* 2002; 23(3):231-237.
31. Клименко Т.М. Половые гормоны и гипоксическое поражение мозга у новорожденных: клиничко-биохимические детерминанты. *Здоровье ребенка* 2007; 4(7): 48-50.
32. Додхоев Д.С. Механизмы задержки внутриутробного развития ребенка при хронической плацентарной недостаточности: дис....докт.мед.наук. Душанбе, 2009; 181 с.).
33. Borday C, Merlet J, Racine C, et al. Expression and localization of aromatase during fetal mouse testis development. *Basic Clin Androl* 2013; 1(23):12.
34. Карпова И.Ю., Паршиков В.В., Миронов А.А., и др. Изучение влияния хронической гипоксии на течение беременности и развитие потомства в эксперименте. *Медицинский альманах* 2011; 6 (19): 55-57.
35. Шевлюк Н.Н., Стадников А.А., Боков Д.А. и др. Гипоталамо-гипофизарно-гонадная система млекопитающих при воздействии на организм дестабилизирующих факторов различной интенсивности. *Вестник Оренбургского Государственного Университета* 2007; (78):185-187.
36. Jian-Xiang Liu, Ji-Zeng Du. Hypoxia alters testis development in neonatal rats. *Neuroendocrinology Letters* 2002; (23): 231-237.
37. Саяпина И.Ю. Количественный анализ функциональной активности семенника крыс при окислительном стрессе, индуцированном адаптацией к низким температурам. *Вестник новых медицинских технологий* 2011; 18(2): 155-157.