

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ СРАВНИТЕЛЬНЫЕ СООТНОШЕНИЯ КАНАЛЬЦЕВО-СТРОМАЛЬНОГО И ЭПИТЕЛИАЛЬНО-СТРОМАЛЬНОГО ИНДЕКСОВ ЯИЧЕК ПЛОДОВ

Буньков К.В.

MORPHOMETRIC COMPARATIVE RATIO TUBULAR-STROMAL AND EPITHELIAL-STROMAL INDEX TESTES FETUS

Bunkov K.V.

Областное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Смоленский областной институт патологии» (директор - профессор А.Е. Доросевич), отделение клинической патологии №2 (зав. отделением - профессор Д.В. Козлов); кафедра патологической анатомии (зав. кафедрой – профессор А.Е. Доросевич) ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

В статье приведены результаты исследований микроморфологических параметров: площади интерстициальной соединительной ткани, извитых семенных канальцев и сперматогенного эпителия; их соотношения в зависимости от возраста, локализации и топографического расположения яичек. Проведен анализ сопоставления индексов паренхиматозно-стромального соотношения с последующим сравнением их при категоризации выборочной совокупности на отдельные подгруппы.

Ключевые слова: морфометрия, соотношение, сравнительный анализ, яичко.

The article presents the results of research micromorphological parameters: area interstitial connective tissue, convoluted seminiferous tubules and seminiferous epithelium and their ratio depends on the age, location and topographical location of the testes. The analysis comparing indices parenchymal-stromal ratio and comparing them with the categorization of sample into separate subgroups.

Key words: morphometry, value, comparative analysis, testicle.

Введение. Известно, что в процессе развития яичко претерпевает морфологические изменения, которые связаны с процессом его опущения в мошонку. Изменения тканей яичек в процессе дифференцировки наблюдаются на каждом этапе их развития. Определенный интерес в понимании закономерности происходящих изменений следует рассматривать с позиций парности органа, а именно симметричности изменений в

обоих яичках. Подобный взгляд на изменения в яичках актуален и в условиях их патологии.

Так, в литературе приведен анализ проспективного обследования полового развития при крипторхизме с учетом как пораженного, так и контрлатерального нормального яичка [1], сравнительный анализ комплексного обследования яичек при крипторхизме с отдаленными результатами после орхиопексии [2], исследование мезенхимальных трансформаций тканей яичка с учетом формы крипторхизма [3], и других морфологических изменений при абдоминальной фиксации яичка, с позиций временного фактора [4].

Кроме того, имеются сведения по сравнительной морфологии правого и левого яичек плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела при индуцированном и самопроизвольном прерывании беременности [5]. Получены данные о характеристике гистофизиологических процессов в зависимости от стадий перемещения яичка в мошонку [6] и сравнительного микроморфометрического анализа составляющих компонентов тканей яичка у млекопитающих [7]. При этом особое значение придается рассмотрению процессов с позиций возрастного аспекта, как в антенатальном [8], так и постнатальном периодах.

Такой подход при исследовании обсуждаемой проблемы с позиций взаимосвязанности, позволяет объективно рассмотреть совокупность физиологических и патологических процессов происходящих в яичках, причем необходимо оценивать исследуемые признаки и с позиций гистофизиологической идентичности.

К сожалению, до настоящего времени не рассмотрены особенности связей между морфометрическими показателями правого и левого яичка, в частности между площадью извитых семенных канальцев и интерстициальной тканью в том и другом яичке.

Цель исследования - выявить особенности паренхиматозно-стромальных взаимоотношений в правом и левом яичках в зависимости от их локализации при опускании в мошонку у плодов различного возраста.

Задачи:

1. Сформировать категории деления – КДп.
2. Измерить в полученных подгруппах, площадь компонентов паренхиматозно-стромального соотношения: интерстициальной соединительной ткани, извитых семенных канальцев, сперматогенного эпителия.

3. Сравнить между собой составляющие паренхиматозно-стромального соотношения: канальцево-стромальный индекс (КСИ), эпителиально-стромальный индекс (ЭСИ), используя непараметрический критерий Краскела-Уоллиса, с последующим применением апостериорного анализа критерия Данна.

4. Осуществить количественную оценку статистической связи, между изучаемыми параметрами и их соотношениями, используя коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Материал и методы исследования. Изучено 18 пар яичек у 18 плодов и по 1 непарному (правому) яичку в двух случаях, то есть - 38 яичек у 20 плодов антенатального периода. Возрастной диапазон составил от 20 до 41 недели гестационного возраста. Забор материала производился на базе отделения клинической патологии детского возраста ОГБУЗ «СОИП». Материал забирали с учетом того, чтобы от момента смерти до времени забора материала не прошло более 12 часов. При заборе материала учитывали: возраст плода, локализацию яичек (правое/левое) и стадию опускания яичка. Основной точкой, определяющей стадию опускания, считался нижний полюс яичка: при пальпации его в мошонке - локализация считалась мошоночной, у наружного пахового кольца – паховой, у внутреннего пахового кольца (до входа в паховый канал) – абдоминальной. Ретракция яичка при пальпации выше его места на момент обнаружения, в нашем исследовании не превышала его топографической локализации, изначального местоположения. Это исключало возможность неправильной интерпретации их локализации. Патогистологическое исследование тканей яичек производилось в отделении клинической патологии №2 ОГБУЗ «СОИП». Материал фиксировали по общепринятым методикам с использованием забуференного нейтрального 10% водного раствора формалина от 5 до 24 часов. Депарафинированные гистологические срезы толщиной 7-8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по методам ван Гизона и Маллори для выявления компонентов соединительной ткани. Исследования выполнялись на светооптическом микроскопе «Axiostar plus» (Carl Zeiss, Германия), совмещённом с видеокамерой «Progres C10 Plus» (Jenoptic Jena, Германия). Документирование результатов осуществлялось при помощи компьютерной программы «Видео

Тест 4.0. Морфология» - (Санкт-Петербург), при данном увеличении микроскопа x1000 (окуляр x10, объектив x100) составила 38495,18 мкм². Хранение результатов исследования и первичная обработка материала проводилась в базе данных Microsoft Excel 2000.

Морфометрию осуществляли в произвольно выбранном участке, центром которого служил капилляр. В каждом поле зрения измерялась площадь извитых семенных канальцев, площадь сперматогенного эпителия, площадь интерстициальной соединительной ткани. Таким образом, проведено 400 измерений. Морфометрию осуществляли в произвольно выбранных участках гистотопографически удаленных друг от друга и неперекрывающихся между собой, центром каждого из которых служил капилляр. После изучения параллельных срезов, окрашенных по дополнительным методикам, в произвольно выбранном участке находили гистотопографически удаленные друг от друга сосуды микроциркуляторного русла - капилляры, что исключало возможность «перекрывания» периваскулярных зон разных капилляров. Для полного и унифицированного отображения преобладания одного показателя относительно другого, было введено понятие индекса соотношения. Использовали два индекса – канальцево-стромальный (КСИ) и эпителиально-стромальный (ЭСИ). Статистическая обработка данных осуществлялась пакетом Microsoft Excel 2000. Формулы и методы статистического анализа использовали из руководств [9, 10]. Оценка согласия распределения показателей с нормальным законом осуществлялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова, а также с помощью критерия Лиллиефорса, который учитывает уменьшение числа степеней свободы. Гипотезы проверялись на уровне значимости $\alpha=0,05$. Для описания центральной тенденции использовали медиану (Me), первый и третий квартиль. Множественные сравнения проводили с помощью аналога дисперсионного анализа для непараметрических распределений - критерия Краскела-Уоллиса, с последующим применением в качестве апостериорного анализа критерия Данна. Для анализа линейной связи вычисляли коэффициент корреляции Спирмена (r) и проверяли его значимость на заданном уровне $\alpha=0,05$. Для оценки силы связи полученный коэффициент корреляции Спирмена (r) оценивали по шкале Чеддока.

Для проведения статистического анализа исследуемые выборки были подвергнуты категоризации, которая является одним из способов группировки. Группировка – метод статистического исследования, позволяющий количественно оценить типичность и вариацию в изучаемом статистическом распределении.

Начальная выборочная совокупность представлена 20-ю плодами антенатального периода соответствующими 21-й недели гестационного возраста. Объемом выборки - по 10 полей зрения, ($n=10$ правого и левого яичка, в сумме $n=20$), 22 ($n=20$), 24 ($n=20$), 25 ($n=20$), 26 ($n=20$), 27 ($n=30$), 28 ($n=60$), 29 ($n=20$), 30 ($n=20$), 32 ($n=30$, по $n=15$), 37 ($n=20$), 38 ($n=20$), 39 ($n=20$), 40 ($n=20$), 41 ($n=40$) Ведено понятие категории деления. Категория деления – КД_п подразумевает деление статистические группы с заданным показателем, относительно которого осуществляется деление исходной выборочной совокупности на подгруппы, а именно возраста, топографического расположения и локализации яичка.

Первая категория деления (КД₁) - подразумевает деление выборочной совокупности в зависимости от локализации яичка - его естественного перемещения (опускания) в мошонку с учетом его топографического расположения (правое $n=10$; левое $n=10$, в сумме $n=20$) и недели гестационного возраста. Так, при абдоминальной локализации правого яичка выборка составила: 21 ($n=10$), 22 ($n=10$), 24 ($n=10$), 28 ($n=10$), 41 ($n=10$), при абдоминальной локализации левого яичка 21 ($n=10$), 22 ($n=10$), 24 ($n=10$), 28 ($n=10$), 41 ($n=10$); при паховой локализации правого яичка 25 ($n=10$), 27 ($n=10$), 28 ($n=10$), при паховой локализации левого 28 ($n=10$); при мошоночной локализации правого яичка 25 ($n=5$), 26 ($n=10$), 27 ($n=10$), 28 ($n=10$), 29 ($n=10$), 30 ($n=10$), 32 ($n=15$), 37 ($n=10$), 38 ($n=10$), 39 ($n=10$), 40 ($n=10$), 41 ($n=10$), при мошоночной левого яичка 25 ($n=5$), 26 ($n=10$), 27 ($n=10$), 28 ($n=10$), 29 ($n=10$), 30 ($n=10$), 32 ($n=15$), 37 ($n=10$), 38 ($n=10$), 39 ($n=10$), 40 ($n=10$), 41 ($n=10$).

Вторая категория деления (КД₂) – исходная выборочная совокупность разделена на три группы в зависимости от естественного перемещения в мошонку и 6 подгрупп в зависимости от топографии яичка – правое/левое; (абдоминальное правое ($n=50$), абдоминальное левое ($n=50$), паховое правое ($n=30$), паховое левое ($n=10$), мошоночное правое ($n=120$), мошоночное левое ($n=120$)).

Третья категория деления (КД₃) - подразумевает разделение всей выборочной совокупности на три подгруппы, в зависимости от естественного перемещения в мошонку (абдоминальное ($n=100$), паховое ($n=40$), мошоночное ($n=240$), без учета его топографии (правое/левое).

В результате категоризации из исходных выборок образованы категоризированные статистические распределения, которые и подлежали дальнейшему статистическому анализу.

Результаты исследования и их обсуждение. Отличительной особенностью выборочной совокупности при абдоминальной локализации яичка, как правого, так и левого, явилось значи-

тельное преобладание межканальцевой соединительной ткани, вплоть до полного отсутствия в поле зрения извитых семенных канальцев. Сперматогенный эпителий извитых семенных канальцев представлен клетками Сертоли и подтипами половых клеток в большей своей массе не поддающихся идентификации подтипов, но с хорошо определяемыми крупными округлыми клетками с выявляемым ядром и с наличием в нем ядрышек, а также эухроматина и гетерохроматина – гоноцитов.

Результаты морфометрического исследования по полученным КСИ и ЭСИ в КД₁, при абдоминальном расположении правого яичка характеризовалась однородностью и не имела различий как по КСИ ($P^2=8,80>H=8,20$) так и по ЭСИ ($P^2=8,80>H=6,75$). В свою очередь в контрлатеральном – левом яичке исключалась однородность по ЭСИ ($P^2=8,00<H=10,61$), со значимым различием между 22 и 40 неделями антенатального периода, тогда как при КСИ ($P^2=12,00>H=11,46$) характеризовалась однородностью.

Проверка на однородность КСИ и ЭСИ правого яичка при паховой локализации в КД₁ показало, отсутствие значимых различий только по ЭСИ ($P^2=2,40>H=1,74$, $p>0,05$).

Сравнительный анализ для мошоночной локализации правого и левого яичек при КД₁ проводился для 12 случаев, соответствующих 25, 26, 27, 28, 29, 30, 32, 37, 38, 39, 40, 41 неделям гестационного возраста. Значимые отличия начали себя проявлять четырьмя случаями правого яичка по КСИ, соответствующими 38, 39 неделям гестационного возраста со значимыми отличиями с группой 40 и 41 неделями гестационного возраста ($p<0,05$). Следует отметить, что случаи соответствующие 38 и 39 неделям, как и 40 и 41 недели характеризовались однородностью ($p>0,05$), на фоне всей выборочной совокупности при КД₁. По ЭСИ значимые отличия в правом яичке были выявлены между 25 и 39 неделями (25/39) и 26 и 39 неделями (26/39) гестационного возраста. Между случаями соответствующими 25 и 26 недель и со всеми остальными случаями различий не было обнаружено ($p>0,05$). В свою очередь в левом яичке значимые различия ($p<0,05$) были обнаружены между 26 и 40 - 41 (26/40-41), 29/41, 38/41, 39/40-41 неделями гестационного возраста как в КСИ, так и ЭСИ.

Дальнейший анализ проводили в категории деления 2 (КД₂). Множественный сравнительный анализ в КД₂ показал значимые различия ($p<0,05$) по КСИ и ЭСИ в подгруппе левого яичка между группами абдоминальной и мошоночной локализации (табл. 1; 2), что не наблюдалось в подгруппе правого яичка, а все случаи данной выборочной совокупности не имели различий между собой

Таблица 1.

Результаты статистического анализа КСИ левого яичка выборочных совокупностей КД₂

			1*	2**	3***
Возраст	n	ΣR	R:70,200	R:61,300	R:101,39
1	50	3510,00		1,000000	0,001128
2	10	613,00	1,000000		0,058209
3	120	12167,00	0,001128	0,058209	

Примечание: * - абдоминальная локализация; ** - паховая локализация; *** - мошоночная локализация

Таблица 2.

Результаты статистического анализа ЭСИ левого яичка выборочных совокупностей КД₂

			1	2	3
Возраст	n	ΣR	R:72,620	R:73,900	R:99,333
1	50	3631,00		1,000000	0,006963
2	10	739,00	1,000000		0,414234
3	120	11920,00	0,006963	0,414234	

Примечание: 1- абдоминальная локализация; 2 – паховая локализация; 3 – мошоночная локализация

Таблица 3.

Результаты статистического анализа КСИ правого яичка выборочных совокупностей КД₂

			1	2	3
Возраст	n	ΣR	R:85,860	R:93,267	R:108,41
1	50	4293,00		1,000000	0,061933
2	30	2798,00	1,000000		0,599935
3	120	13009,00	0,061933	0,599935	

Примечание: 1- абдоминальная локализация; 2 – паховая локализация; 3 – мошоночная локализация

Таблица 4.

Результаты статистического анализа ЭСИ правого яичка выборочных совокупностей КД₂

			1	2	3
Возраст	n	ΣR	R:87,960	R:109,60	R:103,45
1	50	4398,00		0,316369	0,335546
2	30	3288,00	0,316369		1,000000
3	120	12414,00	0,335546	1,000000	

Примечание: 1- абдоминальная локализация; 2 – паховая локализация; 3 – мошоночная локализация

(табл. 3; 4).

Третья категория деления (КД₃) подразумевала разделение всей выборочной совокупности на три подгруппы, в зависимости от естественного спуска в мошонку (абдоминальная, паховая, мо-

шоночная), без учета его топографического расположения (правое/левое). При сравнительном анализе тех групп по методу Данна, значимые различия были обнаружены между группами по КСИ ($p < 0,05$), абдоминальной и мошоночной

Таблица 5.
Результаты статистического анализа КСИ и ЭСИ выборочных совокупностей при КД₃

			1	2	3
КСИ	n	ΣR	R:155,39	R:163,05	R:209,70
1	100	15539		1,000000	0,000098
2	40	6522	1,000000		0,038643
3	240	50329	0,000098	0,038643	
ЭСИ	n	ΣR	R:159,88	R:194,45	R:202,60
1	100	15988		0,277536	0,003253
2	40	7778	0,277536		1,000000
3	240	48624	0,003253	1,000000	

Примечание: 1- абдоминальная локализация; 2 – паховая локализация; 3 – мошоночная локализация

Таблица 6.
Характер и сила корреляционных связей между КСИ и ЭСИ правым и левым яичком антенатального периода при КД₂

Абдоминальная КСИ ЭСИ			Правое яичко					
			Паховая		Мошоночная			
			КСИ	ЭСИ	КСИ	ЭСИ		
Левое яичко	Абдом.	КСИ	0,4303					
		ЭСИ		0,4369				
	Паховая	КСИ			0,3090			
		ЭСИ				0,1636		
	Мошон.	КСИ					0,3274	
		ЭСИ						0,2800

локализацией, паховой и мошоночной, тогда как по ЭСИ различия ($p < 0,05$) были обнаружены между абдоминальной и мошоночной локализацией (табл. 5). В таблице 7 приведены основные результаты микрофометрических показателей тканей яичка при КД₃.

В результате сопоставления индексов соотношений антенатального периода при КД₃ между ними выявлены корреляционные связи. Выявление связей осуществляли, только между подгруппами правого и левого яичка между одноименными индексами соотношений (ЭСИ правое яичко/ЭСИ левое яичко; КСИ правое яичко/КСИ левое яичко) в каждой группе соответствующей анатомической локализации физиологического перемещения яичка. Вместе с тем, обнаруженные корреляции преимущественно оказываются умеренными и в отдельных случаях слабыми, но все имеют положительную тенденцию (табл. 6).

Таким образом, сравнительный анализ между правым и левым яичком проводимый с целью обнаружения сходства протекающих процессов

затрагивающих составляющие интерстициальной соединительной ткани, извитых семенных канальцев – сперматогенного эпителия, показал ряд данных, указывающих на определенную симметричность и умеренную зависимость между контрлатеральными железами половой системы и косвенном взаимодействии, через показатели морфометрического соотношения, в их развитии и в зависимости от его расположения по отношению к его естественному спуску. Сила корреляционной связи максимальных значений, относительно всей выборочной совокупности, достигает максимальных значений при абдоминальной локализации яичек (КСИ $r = 0,4303$; ЭСИ $r = 0,4369$). При паховой и мошоночной локализации происходит уменьшение силы корреляции по сравнению с абдоминальной локализацией яичек и прослеживается не симметричность силы корреляционной связи показателей между КСИ и ЭСИ (табл. 6).

Выводы:

1. Между правым и левым яичком в процессе его естественно опускания в мошонку происходят

Таблица 7.

Результаты морфометрических показателей тканей яичка в зависимости от его локализации, измеренных в абсолютных величинах (мкм²) и их соотношения при КД₃

	n	Медиана	Минимум	Максимум	25 квар- тиль	75 квар- тиль
Абдоминальная локализация						
ИНТ (мкм ²)	100	23754,83	7806,11	38495,18	19128,77	26871,17
ИСК (мкм ²)	100	14740,36	0,00	30689,07	11624,01	19366,41
СЭ (мкм ²)	100	11493,51	0,00	21322,11	8212,93	14574,34
КСИ	100	0,62	0,00	3,93	0,43	1,01
ЭСИ	100	0,49	0,00	2,46	0,31	0,75
Паховая локализация						
ИНТ (мкм ²)	40	22237,83	7673,57	31858,65	19505,23	26255,70
ИСК (мкм ²)	40	16257,35	6636,53	30821,61	12239,49	18989,95
СЭ (мкм ²)	40	12427,26	5121,23	19844,82	9606,55	14290,25
КСИ	40	0,73	0,20	4,02	0,47	0,97
ЭСИ	40	0,65	0,16	2,59	0,51	0,76
Мошоночная локализация						
ИНТ (мкм ²)	240	19681,17	4177,25	36820,81	14708,26	24495,36
ИСК (мкм ²)	240	18814,02	1674,37	34317,93	13999,83	23786,92
СЭ (мкм ²)	240	12721,38	643,55	24389,60	9733,90	16208,74
КСИ	240	0,96	0,04	8,22	0,57	1,62
ЭСИ	240	0,64	0,01	5,35	0,40	1,09

Примечание: ИНТ- площадь интерстициальной соединительной ткани, ИСК – площадь извитых семенных канальцев, СЭ – площадь сперматогенного эпителия, КСИ – канальцево-стромальный индекс, ЭСИ- эпителиально-стромальный индекс. n-объем выборки

синхронные изменения одноименных показателей и их соотношений, что указывает на определенную симметричность и умеренную зависимость между контрлатеральными железами половой системы.

2. В левом яичке при анализе канальцево-стромального индекса значимые различия начинают себя проявлять на более ранних сроках гестации, тогда как при анализе эпителиально-стромального индекса изменения в правом и левом яичке наблюдаются практически синхронно.

3. Категоризация деления позволяет более углубленно рассмотреть соотношения морфометрических показателей тканей яичка с позиций физиологического расположения яичек его и топографической локализации.

4. При анализе показателей соотношений морфометрических данных яичек, выявлены значимые различия в дистальных хронологических отрезках гестационного возраста (ранние и поздние сроки) и его локализации по отношению к перемещению в мошонку.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Морозов Д.А., Болотова Н.В., Седова Л.Н. Половое развитие мальчиков, оперированных по поводу крипторхизма. // Детская хирургия. №5, 2010, с.46-50.
2. Морозов Д.А., Городков С.Ю. Никитина А.С. Орхиопексия при одностороннем крипторхизме: отдаленные результаты. // Детская хирургия №4, 2007, с. 12-14.
3. Морозов Д.А., Богомоллова Н.В., Никитина А.С., Диагностика мезенхимальных нарушений при одностороннем крипторхизме. // Детская хирургия, №3, 2007, с.27-30.
4. B y c h k o v V. A. , K i r p a t o v s k i i I. D. , Z h a m y n c h i e v É. K. Morphological changes of testicular tissues in rats of different age groups, depending on the time of being in the abdominal cavity. // Urologia. 2013, (3), с.43-6.
5. Перетятко Л.П., Кулида Л.В., Проценко Е.В. Морфология плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела. – Иваново: ОАО «Издательство «Иваново». – 2005. с. 161-172.

6. Кузьменков А.Ю., Буньков К.В., Доросевич А.Е. Роль направляющей связки яичка. // Саратовский научно-медицинский журнал. Т 9, №1, 2013, с. 20-25.

7. Costa, D. S., Paula T.A., Pinto da Matta S.L. Cat, Cougar, and Jaguar Spermatogenesis: a Comparative Analysis. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Vol.49, n. 5, 2006, pp. 725-731.

8. B. Narasinga Rao, M. Pramila Padmini. Prenatal histogenesis of human fetal testis. // *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*. 2012 Vol. 2 (2), pp. 112-116.

9. С. Гланц. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — М., Практика, 1998. — 459 с.

10. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. // Для инженеров и научных работников.

— 2-е изд., испр. — М.: ФИЗМАТЛИТ, 2012. — 816 с.

Авторская справка:

Буньков Кирилл Вадимович - врач-патологоанатом, отделения клинической патологии №2 (зав. отделением - профессор Д.В. Козлов), областного государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Смоленский областной институт патологии» (директор - профессор А.Е. Доросевич). Ассистент кафедры патологической анатомии (зав. кафедрой – профессор А.Е. Доросевич) ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. E-mail: grei.dorian2015@yandex.ru, тел. рабочий 8-(4812)-38-31-02, тел. моб: 8-951-706-43-29