

© Коллектив авторов, 2011  
УДК 611.37.018

*В.В. Климачев<sup>1</sup>, А.И. Неймарк<sup>2</sup>, В.Я. Гервальд<sup>1</sup>, И.П. Бобров<sup>1</sup>, А.М. Авдалян<sup>4</sup>,  
Н.И. Музалевская<sup>2</sup>, И.В. Гервальд<sup>1</sup>, Р.Т. Алиев<sup>2</sup> и Т.М. Черданцева<sup>3</sup>*

## ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ СТРУКТУР ПОЛОВОГО ЧЛЕНА ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup> Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. В.В. Климачев), <sup>2</sup> кафедра урологии и нефрологии (зав. — проф. А.И. Неймарк), <sup>3</sup> центральная морфологическая научно-исследовательская лаборатория (зав. — доц. Т.М. Черданцева), Алтайский государственный медицинский университет;

<sup>4</sup> лаборатория молекулярных методов диагностики (зав. — А.М. Авдалян), Алтайский филиал Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Барнаул

Целью работы было изучение возрастных изменений соединительнотканых структур полового члена (ПЧ). Исследованы фрагменты тканей ПЧ трупов 20 мужчин в возрасте 20–38 лет — I группа и от трупов 20 мужчин 41–59 лет — II группа. Критерии исключения материала из исследования: гипертоническая болезнь, сахарный диабет, атеросклероз внутренних подвздошных артерий, болезнь Пейрони, аномалии развития половых органов. С возрастом в пещеристом теле ПЧ отмечено увеличение содержания коллагеновых и аргирофильных волокон, их утолщение, снижение содержания эластических волокон, их истончение, а также уменьшение количества гладких миоцитов (ГМ). Средняя площадь ядрышка фибробластов и ГМ в исследованных группах не различалась. Средняя площадь ядрышка эндотелиальных клеток во II группе составила  $1,9 \pm 0,9$  мкм<sup>2</sup>, что ниже, чем в I группе, где этот показатель был  $2,1 \pm 0,9$  мкм<sup>2</sup>. Содержание коллагенов III и IV типа в обеих группах не различалось. Уменьшение площади ядрышка эндотелиальных клеток в пещеристых телах при старении может указывать на снижение активности данных клеток и свидетельствовать о развитии эндотелиальной дисфункции, что может быть одним из важных звеньев в морфогенезе нарушения эрекции у мужчин с возрастом.

**Ключевые слова:** *половой член, коллаген III и IV типов, эластические и коллагеновые волокна*

Большинство морфологических работ, посвященных изучению структурно-функциональной организации полового члена (ПЧ), касаются его сосудистого русла в норме и при эректильной дисфункции (ЭД) [5, 13]. Изменения соединительнотканых образований ПЧ меньше привлекали внимание исследователей, хотя снижение количества гладких миоцитов (ГМ) и увеличение содержания коллагеновых волокон в пещеристых телах ПЧ обуславливают развитие ЭД у мужчин с возрастом [16]. Поэтому цель настоящего исследования — изучение возрастных изменений соединительнотканых структур ПЧ.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на аутопсийном материале. Исследовали ткань ПЧ 20 мужчин в возрасте от 20 до 38 лет (средний возраст —  $29 \pm 6$  лет) — 1-я возрастная группа, и 20 мужчин в возрасте от 41 до 59 лет (средний возраст —  $50 \pm 5$  лет) — 2-я возрастная группа. Критерии исключения материала из исследования: наличие заболеваний, которые обуславливают развитие ЭД — сахарный диабет, гипертоническая болезнь, алкоголизм, атеросклероз внутренних подвздошных артерий, болезнь Пейрони и аномалии развития половых органов. Материал брали в Алтайском краевом бюро судебно-медицинской экспертизы (начальник — В.А. Башмаков) не позднее 6 ч после смерти и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм монтировали на стекла и окрашивали гематоксилином–эозином и по Ван-Гизону; аргирофильные волокна выявляли методом Гомори;

эластические волокна — резорцин-фуксином по Вейгерту и железным гематоксилином по Верхгофу. Для выявления гликозаминогликанов (ГАГ) использовали методы Хейла и Стивенса, а для выявления гликопротеинов ставили ШИК-реакцию по Мак-Манусу. Выявление кислых белков ядрышковых организаторов проводили по методу Y. Daskal и соавт. [12] в нашей модификации [1]. На трупном материале нам не удалось выявить гранулы серебра в ядрышках (из-за раннего окисления сульфгидрильных групп аргирофильных белков), поэтому для определения активности основных клеток пещеристых тел: ГМ, фибробластов (ФБ) и эндотелиальных клеток (ЭК) применен такой критерий, как суммарная площадь ядрышек. Многими исследователями доказано, что суммарная площадь ядрышка и количество гранул серебра на одно ядро имеют сильную прямую корреляционную связь и наряду с подсчетом количества гранул серебра на одно ядро могут быть использованы для определения морфофункциональной активности клеток [6]. Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с общепринятыми рекомендациями [14]. Использовали мышинные антитела к коллагену III типа (клон HWD 1.1) и IV типа (клон COL-94) (BioGenex, США) в разведении 1:30. Предобработку проводили пепсином 30 мин, инкубацию для коллагена III типа — 2 ч, для коллагена IV типа — 30 мин.

Морфометрическое исследование проводили с использованием системы компьютерного анализа изображения, состоящей из микроскопа Leica DNM проходящего света с подсоединенной цифровой камерой Leica EC3 (Leica, Германия), персонального компьютера на базе процессора Pentium 4 и программы UTHSCSA Image Tool 3.0 (США, 2007, свободно доступной в Интернете). Изображение вводили в компьютер непосредственно с микроскопа с помощью видеокамеры,

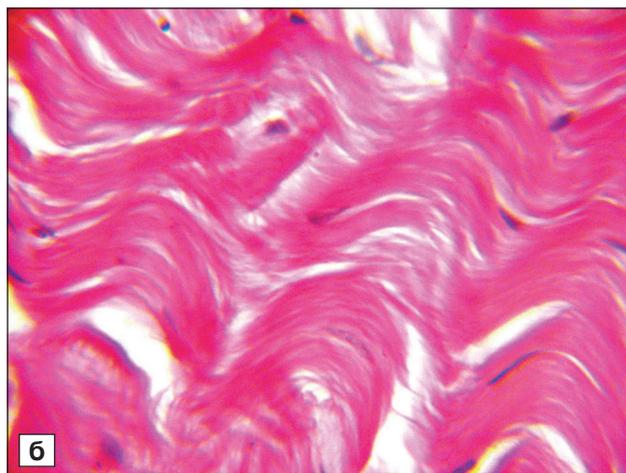
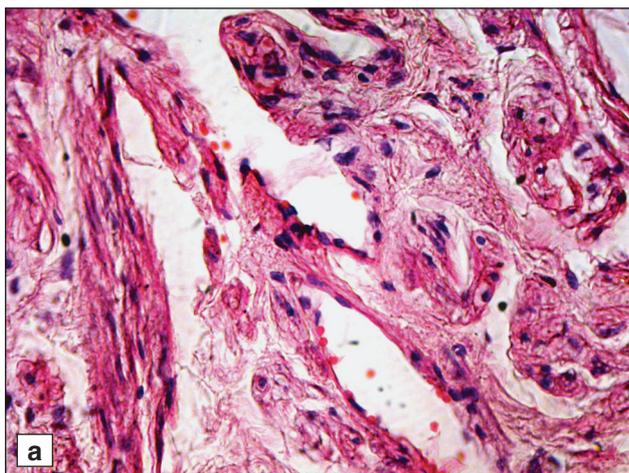


Рис. 1. Структуры полового члена мужчины 28 лет.

а — пещеристое тело; б — белочная оболочка. Окраска гематоксилином–эозином. Об. 40, ок. 10.

оцифровку изображения осуществляли встроенной платой видеозахвата Matrox. Каждое изображение сохраняли в формате Tiff на жесткий диск компьютера: размер изображения составлял 19×19 см, размер файла — 512×512 пикселей, 1,04 Мб. С каждого приготовленного препарата делали по 10 снимков. Перед анализом изображения в Image Tool 3.0 все полученные фотографии обрабатывали с помощью программы Adobe Photoshop, версия 9.0, где при помощи инструмента «Selective color» максимально отчетливо выводили красный, синий, желтый и черный цвет. Определяли толщину коллагеновых, аргирофильных и эластических волокон белочной оболочки и пещеристых тел ПЧ. В белочной оболочке измеряли длину (расстояние между двумя «вершинами» коллагеновых волокон, идущих волнообразно) и амплитуду волны коллагенового волокна. В тканях ПЧ определяли долю коллагеновых, эластических, аргирофильных волокон и ГМ.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью статистического пакета Stat Soft Statistica 6.0. Определяли среднее значение величин и стандартное отклонение (SD).

**Результаты исследования.** Строение пещеристых тел и белочной оболочки ПЧ у мужчин обеих исследованных групп при окраске препаратов гематоксилином–эозином (рис. 1) не различалось. При окраске по Ван-Гизону у мужчин 2-й группы визуально отмечено утолщение стенок сосудов (рис. 2).

Гистохимические методики также не позволили выявить особых изменений в тканях ПЧ. Содержание ГАГ и гликопротеинов в белочной оболочке и пещеристом теле ПЧ в исследованных группах не различалось.

При морфометрическом исследовании волокнистых структур ПЧ (таблица) во 2-й группе отмечено увеличение содержания коллагеновых волокон, утолщение их в трабекулах пещеристого тела, укорочение длины и уменьшение амплитуды волны коллагеновых волокон в белочной оболочке; снижение концентрации эластических волокон

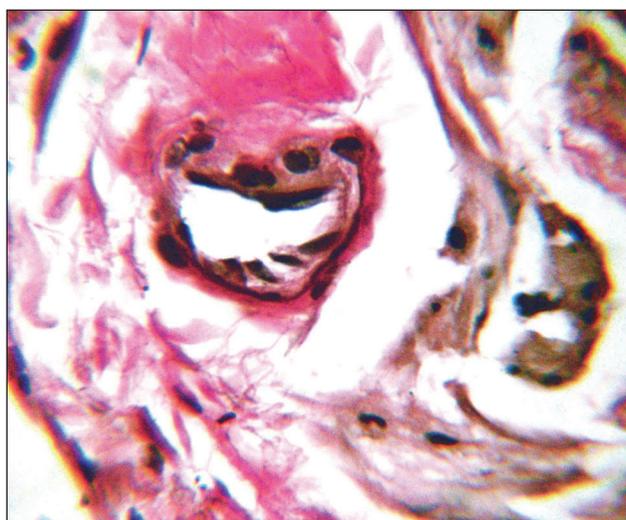


Рис. 2. Утолщенная стенка артерии полового члена мужчины 52 лет.

Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону. Об. 40, ок. 10.

как в белочной оболочке, так и в пещеристом теле, истончение эластических и огрубение аргирофильных волокон.

Содержание ГМ в трабекулах пещеристого тела у мужчин в 1-й и 2-й группе значительно различалось ( $P < 0,05$ ) и составляло соответственно  $44,6 \pm 1,4$  и  $41 \pm 3\%$ .

Коллаген IV типа определялся в пещеристом теле вокруг ГМ (рис. 3) и в базальных мембранах эндотелия сосудов. Коллаген III типа обнаружен в пещеристом теле в виде фибриллярно-гранулярных структур. В белочной оболочке коллаген IV типа не был обнаружен, коллаген III типа был представлен в виде гранулярного компонента. Содержание коллагена III и IV типов в тканях ПЧ в обеих возрастных группах значительно не различалось.

**Морфометрические характеристики волокнистых структур в тканях полового члена  
у мужчин различных возрастных групп ( $\bar{x} \pm SD$ )**

Волокна	Исследованные показатели	1-я группа		2-я группа	
		Белочная оболочка	Пещеристое тело	Белочная оболочка	Пещеристое тело
Коллагеновые	Относительное содержание, %	61,4±1,8	20,2±1,4	64±3*	22,2±1,6*
	Толщина, мкм	2,19±0,28	1,75±0,06	2,21±0,25	1,77±0,09*
	Длина волны, мкм	47,8±3,0 n=400	–	46±5* n=400	–
	Амплитуда волны, мкм	31,2±2,7	–	29,7±2,6*	–
Эластические	Относительное содержание, %	7,4±1,3	11,0±1,3	6,3±1,0*	8,2±2,2*
	Толщина, мкм	1,23±0,19	1,17±0,17	1,15±0,16*	1,09±0,16*
Аргирофильные	Относительное содержание, %	–	16,3±1,7	–	16,1±1,6
	Толщина, мкм	–	0,94±0,09	–	0,97±0,11*

\* Различия по сравнению с показателями в 1-й группе значимы при  $P < 0,05$ .

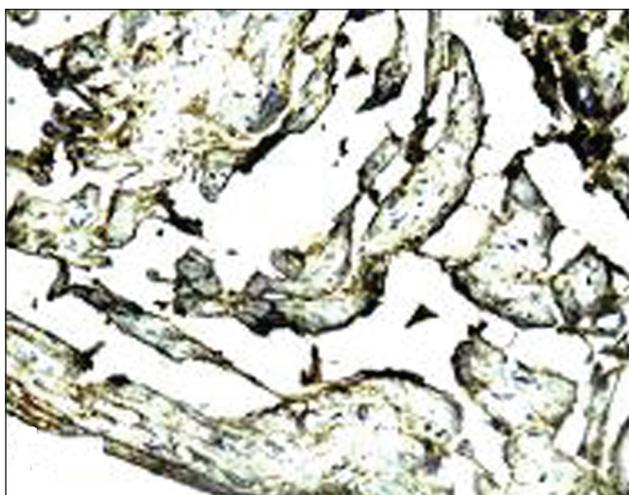


Рис. 3. Пещеристое тело полового члена мужчины 28 лет.

Экспрессия коллагена IV типа вокруг гладких миоцитов и в базальных мембранах эндотелия сосудов. Иммуногистохимическая реакция. Об. 40, ок. 10.

Измерения площади ядрышек ГМ и ФБ не выявили значимых различий в обеих возрастных группах, однако площадь ядрышка ЭК в 1-й и 2-й группе значимо различалась ( $P < 0,05$ ) и составила  $2,1 \pm 0,9$  и  $1,9 \pm 0,9$  мкм<sup>2</sup> соответственно.

Обсуждение полученных данных. С возрастом у мужчин нами обнаружено снижение доли ГМ в пещеристых телах ПЧ, что согласуется с данными других исследователей [11], и, как указывают ряд авторов [16], способствует возникновению ЭД. При этом в ПЧ происходят склеротические изменения, накопление коллагеновых волокон, снижение содержания эластических волокон, выполняющих важную роль в растяжении тканей ПЧ. Известно, что эластические

волокна легким растяжением пещеристых тел обеспечивают компрессию, адекватную для блокирования венозного оттока, тем самым участвуя в обеспечении венозной окклюзии как одного из механизмов эрекции [16]. Поэтому изменения эластических волокон ряд авторов [7, 10] рассматривают как важный фактор, способствующий развитию ЭД у мужчин с возрастом. При этом они указывают лишь на снижение относительного содержания эластических волокон в тканях ПЧ. Однако, по нашим данным, с возрастом, кроме этого, происходит истончение эластических волокон тканей ПЧ, которое, как известно, снижает эластичность и растяжимость кожного покрова с возрастом у людей [2] и у животных [15]. Все это позволяет сделать вывод, что изменения эластических волокон, наряду со снижением их относительного содержания в ПЧ, по-видимому, являются морфологическим субстратом нарушения его растяжимости с возрастом. В связи с этим у мужчин старше 40 лет возрастает риск развития ЭД, на что ранее указывал E. Wespes [16].

Уменьшение суммарной площади ядрышек ЭК свидетельствует о снижении их белково-синтетической функции. Это, на наш взгляд, позволяет говорить о так называемой эндотелиальной дисфункции [8]. При последней, по данным некоторых исследователей [9], ткани испытывают дефицит кислорода. Известно, что развивающаяся гипоксия активирует ФБ [4]; в наших исследованиях, как вероятный результат этого, мы видим увеличение содержания коллагеновых волокон в тканях ПЧ. На наш взгляд, снижение морфофункциональной активности ЭК (снижение суммарной площади ядрышек) [3] является морфологическим отражением эндотелиальной дисфункции.

В пещеристых телах ПЧ преобладает коллаген III и IV типов, а в белочной оболочке — I типа, который формирует жесткие волокна и обуславливает меньшую податливость, чем коллаген III типа, являющийся структурной основой нормальной растяжимости пещеристых тел во время эрекции [16]. Наше иммуногистохимическое исследование, направленное на выявление содержания коллагена III и IV типов, не обнаружило статистически значимых различий в тканях ПЧ между изученными группами. При гистохимическом исследовании мы обнаружили увеличение содержания коллагеновых волокон в пещеристом теле ПЧ вследствие накопления коллагена I типа, который является более «грубым». Все это приводит к снижению эректильной функции у стареющих мужчин, о чем свидетельствуют работы других исследователей [16].

Итак, с возрастом в тканях ПЧ происходит накопление коллагеновых волокон с одновременным снижением содержания ГМ и эластических волокон, что может обуславливать развитие слабой эрекции у мужчин при старении. Уменьшение с возрастом площади ядрышка ЭК в пещеристых телах может указывать на снижение активности данных клеток, свидетельствовать о развитии эндотелиальной дисфункции и быть одним из важных звеньев морфогенеза нарушения эрекции у мужчин. Нами не обнаружено изменений в содержании коллагена III и IV типов в пещеристых телах ПЧ с возрастом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бобров И.П., Авдалян А.М., Черданцева Т.М. и др. Модифицированный метод выявления аргирофильных белков области ядрышкового организатора на парафиновых срезах. *Морфология*, 2010, т. 138, вып. 5, с. 65–68.
2. Калантаевский К.А. *Морфология и физиология кожи человека*. Киев, Здоров'я, 1965.
3. Криворучко А.Ю. Активность областей ядрышковых организаторов в трофобласте при воздействии гипоксии. *Морфология*, 2007, т. 132, вып. 4, с. 64–67.
4. Серов В.В. и Шехтер А.Б. *Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология)*. М., Медицина, 1981.
5. Тиктинский О.Л., Новиков И.Ф. и Михайличенко В.В. *Заболевания половых органов у мужчин*. Л., Медицина, 1985.
6. Штейн Г.И. и Кудрявцев Б.Н. Морфометрическое исследование окрашенных серебром ядрышек в одноядерных и двухядерных гепатоцитах крысы. *Цитология*, 1997, т. 39, № 9, с. 775–782.
7. Akkus E., Carrier S., Baba K. et al. Structural alterations in the tunica albuginea of the penis: impact of Peyronie's disease, ageing and impotence. *Br. J. Urol.*, 1997, v. 79, p. 47–53.
8. Aversa A., Rossi F., Francomano D. et al. Early endothelial dysfunction as a marker of vasculogenic erectile dysfunction in young habitual cannabis users. *Int. J. Impot. Res.*, 2008, v. 20, p. 566–573.

9. Bacon C.G., Mittleman M.A., Kawachi I. et al. Sexual function in men older than 50 years of age: results from the Health Professionals Follow-up Study. *Ann. Intern. Med.*, 2003, v. 139, p. 161–168.
10. Brock G., Hsu G.L., Nunes L. et al. The anatomy of the tunica albuginea in the normal penis and Peyronie's disease. *J. Urol.*, 1997, v. 157, № 1, p. 276–281.
11. Conti G. and Virag R. Human penile erection and organic impotence: normal histology and histopathology. *Urol. Int.*, 1989, v. 44, № 5, p. 303–308.
12. Daskal Y., Smetana K. and Busch H. Evidence from studies on segregated nucleoli that nucleolar silver proteins C 23 and B 23 are in the fibrillar components. *Exp. Cell Res.*, 1980, v. 127, p. 285–291.
13. Mulhall J.P. and Damaser M.S. Development of a mathematical model for the prediction of the areas of venous leak. *Int. J. Impot. Res.*, 2001, v. 13, № 4, p. 236–239.
14. Nadji M. and Morales A.R. Immunoperoxidase, part I: the techniques and pitfalls. *Lab. Med.*, 1983, v. 14, p. 767–770.
15. Thurmond F. and Trotter J. Morphology and biomechanics of the microfibrillar network of sea cucumber dermis. *J. Exp. Biol.*, 1996, v. 199, i. 8, p. 1817–1828.
16. Wespes E. Smooth muscle pathology and erectile dysfunction. *Int. J. Impot. Res.*, 2002, v. 14, p. 17–20.

Поступила в редакцию 15.02.2011

#### AGE CHANGES OF THE CONNECTIVE TISSUE STRUCTURES OF HUMAN PENIS

*V.V. Klimachyov, A.I. Neimark, V.Ya. Gervald, I.P. Bobrov, A.M. Avdalyan, N.I. Muzalevskaya, I.V. Gervald, R.T. Aliyev and T.M. Cherdantseva*

This investigation was aimed at the study of age changes of penis connective tissue structures. Tissue fragments of penis were obtained from 20 cadavers of men at the age of 20–38 years in group I, and from 20 cadavers of men at the age of 41–59 years in group II. The criteria for the exclusion of material from the research were arterial hypertension, diabetes mellitus, atherosclerosis of internal iliac arteries, Peyronie's disease, and anomalies of genital organ development. It was shown that in the cavernous body of penis, aging was associated with the increased amount and thickening of collagen and argyrophilic fibers, decreased content and thinning of elastic fibers, and the reduced amount of smooth muscle cells (SMC). The average area of fibroblast and SMC nucleolus was not different in both groups studied. The average area of endotheliocyte nucleolus was equal to  $1.9 \pm 0.9 \mu\text{m}^2$  in group II, being lower than that one in group I, in which this index was equal to  $2.1 \pm 0.9 \mu\text{m}^2$ . No differences in the content of type III and IV collagen were found between the study groups. Age-associated decrease in the average area of endothelial cell nucleolus in the cavernous bodies may reflect the reduction of the activity of these cells and may indicate the development of endothelial dysfunction, which is one of the most important steps in the morphogenesis of age-related male erectile dysfunction.

**Key words:** *penis, type III and IV collagen, elastic and collagen fibers*

Department of Pathological Anatomy, Department of Urology, Central Morphological Research Laboratory, Altai State Medical University; Laboratory of Molecular Diagnostics, Altai Branch of RAMS N.N. Blokhin Russian Oncological Scientific Center, Barnaul