



МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕРМАТОЗОИДОВ У СУБФЕРТИЛЬНЫХ МУЖЧИН

Первова Ю.В., Русакова Н.В., Старикова Т.В.

Медицинский университет РЕАВИЗ, Самара, Россия, e-mail: stv1591@gmail.com

Для цитирования:

Первова Ю.В., Русакова Н.В., Старикова Т.В. Морфофункциональная характеристика сперматозоидов у субфертильных мужчин. Морфологические ведомости. 2021;29(2):500. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29\(2\).500](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29(2).500)

Резюме. Мужские факторы бесплодия, включая снижение качества спермы, составляют 25–60% случаев бесплодия в целом, из них около 30% всех случаев относят к так называемому идиопатическому бесплодию. Указанное требует более детального изучения морфофункциональных характеристик сперматозоидов и их ультраструктурных компонентов. Цель исследования – изучение основных морфофункциональных характеристик сперматозоидов субфертильных мужчин репродуктивного возраста. Материал для исследования составили образцы спермы 85 пациентов в возрасте от 25 до 45 лет. В исследование были включены 25 клинически здоровых мужчин – группа сравнения; группу пациентов, обратившихся за помощью с целью оптимизации репродуктивного здоровья и планирования продолжения рода составили 60 мужчин. Рутинные исследования проводились с использованием фазово-контрастного микроскопа. Подсчет сперматозоидов проводился в камере Маклера. Изучение ультраструктуры сперматозоидов производили методом электронной микроскопии. Средние значения прогрессивно-подвижных сперматозоидов у группы субфертильных мужчин с проблемами репродуктивного здоровья составили $33,08 \pm 2,10\%$, что ниже, чем у пациентов группы сравнения – $54,35 \pm 2,58\%$. При ультраструктурном исследовании клеток спермы субфертильных мужчин обнаружена фрагментация ДНК сперматозоидов. Наибольший процент фрагментации ДНК выявлен у субфертильных мужчин-курильщиков, пожилых мужчин (более 22%). У группы пациентов с нормозооспермией в образцах среди сперматозоидов с нормальной формой головки выявлена аномальная морфология акросомы. Аномалии акросомы более чем в 50% случаев обнаружены у мужчин с идиопатическим бесплодием. Проведенное исследование мужчин с астено-тератозооспермией и мужчин с идиопатическим бесплодием указывает на наличие крупных (более 1/3 площади ядра) вакуолей в хроматине ядер сперматозоидов при нормальной форме головки, что уменьшает шанс наступления беременности. В группе мужчин с нормозооспермией – пациентов с идиопатическим бесплодием обнаружены сперматозоиды с отсутствующей постакросомной пластиной. Таким образом, сперматозоиды с аномалиями строения в различных количествах встречаются в эякуляте субфертильных мужчин, включая случаи идиопатического бесплодия. Субфертильность у мужчин может быть вызвана повышенным содержанием в эякуляте сперматозоидов с теми или иными аномалиями строения. Использование электронной микроскопии в обследовании мужчин с репродуктивными дисфункциями дает более полную картину в выяснении причин нарушений сперматогенеза.

Ключевые слова: спермограмма; сперматозоиды; ультраструктура сперматозоида; фертильность; бесплодие

Статья поступила в редакцию 21 октября 2020

Статья принята к публикации 6 июля 2021

THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF SPERMATOOZOA IN SUBFERTILE MEN

Pervova YuV, Rusakova NV, Starikova TV

Medical University REAVIZ, Samara, Russia, e-mail: stv1591@gmail.com

For the citation:

Pervova YuV, Rusakova NV, Starikova TV. The morphological and functional characteristics of spermatozoa in subfertile men. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2021;29(2):500. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29\(2\).500](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29(2).500)

Summary. Male factors of infertility, including a decrease in the quality of sperm, account for 25–60% of cases of infertility in general, of which about 30% of all cases are attributed to the so-called idiopathic infertility. This requires a more detailed study of the morphological and functional characteristics of spermatozoa and their ultrastructural components. The aim of the study was to study the main morphological and functional characteristics of spermatozoa in subfertile men of reproductive age. The material for the study was sperm samples from 85 patients aged 25 to 45 years. The study included 25 clinically healthy men – comparison group; the group of patients who asked for help in order to optimize reproductive health and planning for procreation consisted of 60 men. Routine examinations were performed using a phase contrast microscope. Sperm counts were performed in Makler's chamber. The study of the ultrastructure of the spermatozoa was carried out by the method of electron microscopy. The average values of percentage of progressively motile spermatozoa in the group of subfertile men with reproductive health problems were $33.08 \pm 2.1\%$, which is lower than in patients in the comparison group – $54.35 \pm 2.58\%$. An ultrastructural study of sperm cells in subfertile men revealed fragmentation of sperm DNA. The highest percentage of DNA fragmentation was found in subfertile male smokers and elderly men (more than 22%). In a group of patients with normozoospermia, abnormal acrosome morphology was revealed in samples of spermatozoa with a normal head shape. Acrosome abnormalities are found in more than 50% of men with idiopathic infertility. A study of men with astheno-teratozoospermia and men with idiopathic infertility indicates the presence of large (more than 1/3 of the nucleus area) vacuoles in the chromatin of sperm nuclei with a normal head shape, which reduces the chance of pregnancy. In the group of men with normozoospermia – patients with idiopathic infertility, spermatozoa with a missing postacrosomal sheath were found. Thus, spermatozoa with structural abnormalities are found in varying amounts in the ejaculate of subfertile men, including cases of idiopathic infertility. Subfertility in men can be caused by an increased content of spermatozoa in the ejaculate with certain structural anomalies. The use of electron microscopy in the examination of men with reproductive dysfunctions gives a more complete picture in elucidating the causes of spermatogenesis disorders.

Key words: spermogram; sperm; sperm ultrastructure; fertility; infertility

Article received 21 October 2020

Article accepted 6 July 2021

Введение. Бесплодие - глобальная проблема здравоохранения, затрагивающая 15% всех пар репродуктивного возраста. В последние несколько десятилетий во всем мире отмечается снижение фертильности мужчин [1-4]. Мужские факторы бесплодия, включая снижение качества спермы, обуславливают 25 – 60% этих случаев [5-7]. При этом около 30% всех случаев относят к так называемому идиопатическому бесплодию [8]. Указанное выше требует более детального изучения морфофункциональных характеристик сперматозоидов и их ультраструктурных компонентов [9].

Цель исследования: охарактеризовать морфологические и ультраструктурные особенности сперматозоидов у субфертильных мужчин.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находилось 85 пациентов в возрасте от 25 до 45 лет. В исследование были включены 25 клинически здоровых мужчин – группа сравнения; группа пациентов, обратившиеся за помощью с целью оптимизации репродуктивного здоровья и планирования продолжения рода – 60 мужчин. Исследования проводились с использованием фазово-контрастного микроскопа Nikon Eclipse E 200. Подсчет сперматозоидов проводился в камере Маклера. Взятие материала и исследование спермы проводили согласно стандартизованным методикам, предложенным экспертами ВОЗ [10]. Изучение ультраструктуры сперматозоидов проводили при увеличении 5000х (общий просмотр) и 16000х-18000х (исследование органоидов). Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием компьютерных программ SPSS 21 (IBM SPSS Statistics, USA, 2017 лицензия № 20130626-3). Описательные статистики для количественных показателей представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка средней, либо, в случаях существенных отклонений от нормального закона распределения – в виде медианы и квартилей. Критическое значение уровня значимости принимали равным 0,05.

Результаты исследования и обсуждение. Проведя подробный анализ подвижности спермиев, мы выявили, что

средние значения доли прогрессивно-подвижных сперматозоидов у мужчин с проблемами репродуктивного здоровья составляют $33,08 \pm 2,10\%$, что ниже нормальных значений этого показателя (таблица 1). Как известно, такие сперматозоиды не способны оплодотворить яйцеклетку в естественных условиях. В контрольной группе среднее значение прогрессивно-подвижных спермиев было равно $54,35 \pm 2,58\%$. Это свидетельствует о высокой оплодотворяющей способности сперматозоидов. Исходя из результатов нашего исследования, важно отметить, что процент неподвижных сперматозоидов у мужчин с репродуктивными дисфункциями был очень высоким ($48,94 \pm 2,07\%$). При таких показателях оплодотворение яйцеклетке возможно только с помощью вспомогательных репродуктивных технологий.

Известно, что при оплодотворении яйцеклетки важное значение имеет не только количество и подвижность сперматозоидов, но и их морфология. Только сперматозоиды с нормальной формой способны оплодотворить яйцеклетку. Аномалии тела и хвоста сперматозоидов снижают шансы на зачатие естественным путем. Доля патологичных сперматозоидов у пациентов с репродуктивными дисфункциями составила $61,92 \pm 1,96\%$ (таблица 1). Чаще всего отмечается патология головки и шейки сперматозоида. Несмотря на успехи в области вспомогательных репродуктивных технологий, невыясненными (идиопатическими) остаются 25 – 40% случаев мужского бесплодия.

Как известно, традиционное изучение показателей спермограммы является основным методом обследования мужчин при репродуктивных нарушениях. Однако показатели спермограммы могут значительно отличаться в группе фертильных и субфертильных мужчин и не представить полной картины об оплодотворяющей способности сперматозоидов. Ультраструктура сперматозоидов дает более полное представление о репродуктивных дисфункциях у мужчин. При ультраструктурном исследовании сперматозоидов была обнаружена фрагментация их ДНК. Наибольший процент (20%) выявлен у субфертильных мужчин, у курильщиков и

пожилых мужчин (22%), при этом нормативные показатели фрагментации ДНК составляют 15%. У группы пациентов с нормозооспермией среди сперматозоидов с нормальной формой головки выявлена аномальная морфология акросомы. Аномалии акросомы в 50% случаев обнаружены у мужчин с идиопатическим бесплодием. Результаты исследования мужчин с астенотератозооспермией и мужчин с идиопатическим бесплодием также указывают на наличие крупных (более 1/3 площади ядра) вакуолей в хроматине ядер сперматозоидов при нормальной форме головки, что уменьшает шанс наступления беременности. В группе мужчин с нормозооспермией (пациентов с идиопатическим

бесплодием) обнаружены сперматозоиды с отсутствующей постакросомной пластиной. Несмотря на то, что форма головки и структура хроматина этих сперматозоидов не отличаются от таковых у нормальных, подобные клетки не способны активировать ооциты. У пациентов с идиопатическим нарушением фертильности содержание сперматозоидов с незрелым хроматином составило 80-85%. Эти сперматозоиды имеют нормальную морфологию и нормальную подвижность. Полученные данные указывают на связь выявленной аномалии конденсации хроматина с нарушениями фертильности обследованных мужчин.

Таблица 1

Общие показатели эякулята исследованных групп мужчин ($M \pm m$)

Показатели	Субфертильные	Группа контроля	p<
Объем эякулята, мл	2,65±0,20	3,56±0,28	0,014
Вязкость, см	1,47±0,29	1,20±0,38	0,230
Количество клеток млн/мл	30,61±3,82	81,43±8,70	0,075
Общее количество сперматозоидов млн/мл	84,99±13,98	283,96±37,14	0,141
Доля нормальных клеток %	38,08±1,96	49,13±2,59	0,355
Доля патологических клеток, %	61,92±1,96	50,87±2,59	0,141
Доля клеток с патологией головки, %	20,58±0,80	16,52±1,15	0,075
Доля клеток с патологией шейки, %	18,46±0,88	15,43±1,13	0,011
Доля клеток с патологией хвоста, %	11,73±0,53	9,57±0,70	0,157
Доля клеток с сочетанной патологией, %	11,15±0,94	9,35±0,96	0,064
Доля прогрессивно подвижных клеток, %	33,08±2,10	54,35±2,58	0,757
Доля непрогрессивно подвижных клеток, %	17,98±1,44	17,83±1,77	0,157
Доля неподвижных клеток, %	48,94±2,07	27,83±2,35	0,362
Лейкоциты, число в поле зрения	1,26±0,24	1,39±0,28	0,088
Клетки сперматогенеза %	3,09±0,29	3,17±0,32	0,006

Заключение. Таким образом, в эякуляте субфертильных мужчин в различных количествах встречаются сперматозоиды с аномалиями строения. Субфертильность у них может быть вызвана повышенным содержанием в эякуляте сперматозоидов с различными аномалиями строения. Использование в обследовании мужчин с репродуктивными дисфункция-

ми различных методов исследования, включая ультраструктурные клеточные, дает более полную картину в выяснении причин нарушений сперматогенеза. Только комплексная оценка результатов, полученных несколькими взаимодополняющими методами и их взаимосвязей позволяет оценить фертильность мужчины.

Литература References

1. Bragina EE. Kolichestvennoe elektronno-mikroskopicheskoe issledovanie spermatozoidov pri diagnostike muzhskogo besplodiya. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya*. 2014;15(1):41-50. <https://doi.org/10.17650/2070-9781-2014-1-41-50> 2014. Russian.
2. Michael I. Heuristic Paradoxes of S.P. Kapitza Theoretical Demography. *European Researcher*. 2015;92(3):237-248.
3. Reame V. Obesogenic environment by excess of dietary fats in different phases of development reduces spermatogenic efficiency of Wistar rats at adulthood: correlations with metabolic status. *Biology of Reproduction*. 2014;91(6):111-113.
4. Salas-Huetos A. Dietary patterns, food POs and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies. *Hum Reprod Update*. 2017;23(4):371.
5. Lestari SW. Sperm Na⁺, K⁺-ATPase α 4 and plasma membrane Ca²⁺-ATPase (PMCA) 4 regulation in asthenozoospermia. *Syst Biol Reprod Med*. 2017;8(10):134.
6. Priya PH. Restraint stress exacerbates alcohol-induced reproductive toxicity in male rats. *Alcohol*. 2014;8(48):65-68.
7. McCabe MJ. Gonadotropin suppression in men leads to a reduction in claudin-11 at the Sertoli cell tight junction. *Hum Reprod*. 2016;31(4):875.
8. Rutinskiy AI. Osobennosti diagnostiki idiopатического мужского бесплодия. *Medikosotsial'nye problemy sem'i*. 2013;18(1):116-121. Russian.
9. Kravtsova NS, Rozhivanov RV, Kurbatov DG. Sovremennyye metody gormonal'noy stimuliruyushchey terapii narusheniy spermatogeneza u muzhchin. *Vestnik reproduktivnogo zdorov'ya*. 2010;12:9-13. Russian.
10. WHO laboratory manual for examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. M.: Izd-vo «MedPress»; 2010. 144s. Russian.

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования.

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Первова Юлия Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующий, кафедра естественно-научных дисциплин, Медицинский университет РЕАВИЗ, Самара, Россия; e-mail: sno1911@mail.ru

Русакова Наталия Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой, кафедра фармазии, Медицинский университет РЕАВИЗ, Самара, Россия; e-mail: 89171140924r@gmail.com

Старикова Татьяна Владимировна, старший преподаватель, кафедра естественно-научных дисциплин, Медицинский университет РЕАВИЗ; эмбриолог, Клиника профессора Флоровой, Самара, Россия; e-mail: stv1591@gmail.com

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Yuliya V. Pervova, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Natural Sciences, Private Medical University REAVIZ, Samara, Russia; e-mail: sno1911@mail.ru

Nataliya V. Rusakova, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacy, Private Medical University REAVIZ, Samara, Russia; e-mail: 89171140924r@gmail.com

Tatyana V. Starikova, Senior Lecturer, Department of Natural Sciences, Private Medical University REAVIZ & Embryologist, Professor Florova Clinic, Samara, Russia; e-mail: stv1591@gmail.com