

DOI 10.37800/RM2020-1-24

MPHTI 76.29.43

ВЛИЯНИЕ ТЕРРИТОРИАЛЬНОГО ФАКТОРА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕРМАТОЗОИДОВ МУЖЧИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА ПО ДАННЫМ КЛИНИКИ «МАТЬ И ДИТЯ»

М.Т. Тугушев, Ю.В. Мякишева, А.М. Щелочков, И.В. Федосейкина,
О.Я. Сказкина, О.В. Шурыгина

Самарский государственный медицинский университет
Кафедра репродуктивной медицины, клинической эмбриологии и генетики Кафедра медицинской биологии,
генетики и экологии
Россия, Самара

АННОТАЦИЯ

Состояние репродуктивного здоровья населения является важнейшей составляющей социально-демографического развития страны. Актуальной проблемой является определение фертильности мужчин с целью выявления у них заболеваний половой системы и возможности продолжения рода. Мужское бесплодие – деликатная проблема, охотно отрицаемая и не признаваемая многими мужчинами. В связи с этим распространенность репродуктивной несостоятельности мужского населения сильно превышает официальные данные (данные ВОЗ), согласно которым около 25% семейных пар не достигают беременности в течение года, причем 40% из них по причине мужского бесплодия [3]. Как известно, мужское бесплодие проявляется отсутствием зачатия при регулярной половой жизни со здоровой женщиной детородного возраста в течение 1,5-2 лет без применения контрацептивов [2]. Учёными доказано, что на развитие патологии влияет возраст человека, наличие инфекционных заболеваний и многие другие факторы. Определение частоты встречаемости бесплодия у мужчин в районах Самарской области позволит выявить зависимость характеристик эякулята от экологической обстановки.

Целью исследования является оценка репродуктивного потенциала мужчин, проживающих в районах города Самары и Самарской области с различным уровнем антропогенной нагрузки.

Задачи исследования:

1. Выполнить макроскопическое и микроскопическое исследование эякулята мужчин, проживающих в различных районах Самарской области.
2. Определить влияние территориального фактора на морфофункциональные характеристики сперматозоидов.
3. Провести статистическую обработку полученных данных с целью установления их доказательного различия.

Материалы и методы исследования:

Для объективной оценки мужской фертильности проводилось исследование спермограмм. При микроскопическом анализе эякулята определялись характеристики его клеточных элементов (концентрация сперматозоидов, их подвижность, живые формы, морфологические характеристики), а также фиксировались его макроскопические параметры (разжижение, вязкость, внешний вид эякулята, объем, pH).

Исследование морфологии проводилось с помощью микроскопического метода (окрашивание по Папаниколау). При оценке окрашенных препаратов был использован иммерсионный объектив x100. Нормальными считались сперматозоиды с гладкой головкой овальной формы,

с четкой акросомной областью, занимающей 40-70% области головки, четко выраженной тонкой шейкой и жгутиком, диаметр которого одинаков на всем его протяжении. Все пограничные формы считались аномальными.

Для оценки процентного содержания клеток определенного класса подвижности и получения количественных данных по кинетике сперматозоидов проведен компьютерный анализ эякулята (CASA) с осуществлением контроля качества при подготовке образцов и при использовании инструментария. Для разделения сперматозоидов по классам подвижности анализировались треки не менее 200 подвижных сперматозоидов на образец. Оценка подвижности производилась только в образцах с концентрацией спермы $2 \cdot 10^6$ до $50 \cdot 10^6$ на мл. Контроль качества осуществлялся с помощью анализа нескольких репрезентативных полей зрения на одноразовую счетную камеру.

Подсчет живых форм был осуществлен с помощью оптического светового микроскопа с применением суправитального окрашивания эозином.

Для определения концентрации сперматозоидов использована счетная камера Горяева, имеющая микроскопическую сетку $3 \cdot 3$ мм, нанесенную на поверхность стекла. Каждая расчетная область поделена на 9 квадратов $1 \cdot 1$ мм, использование которых определялось степенью разведения и числом рассчитываемых сперматозоидов. Был осуществлен подсчет зрелых сперматозоидов с применением правила “2 стороны” в нескольких боль-

ших квадратах камеры. При условии допустимой разницы в двух подсчетах, концентрация сперматозоидов рассчитывается по формуле $C = (N/2R)*F$, где C - концентрация, N - сумма двух подсчетов, R - количество квадратов камеры, достаточных для подсчета минимум 200 сперматозоидов, F - фактор разведения.

Для максимально информативной оценки фертильности проводили распределение сперматозоидов по подвижности согласно категориям руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека (5 издание, 2010): прогрессивно подвижные (класс PR), непрогрессивно подвижные (класс NP) и неподвижные (класс IM). Также исследовали морфологические характеристики сперматозоидов, оценивая тип, локализацию и степень аномальности. Достоверность отличий значений по районам проживания оценивалась с помощью непараметрического метода с использованием Н-критерия Краскела-Уоллиса для трех несвязанных групп, при этом статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Проведен ретроспективный анализ 340 спермограмм мужчин в возрасте от 20 до 49 лет, обратившихся в клинику “Мать и дитя” и проживающих в различных районах г.о. Самара и Самарской области. Все пациенты были разделены на 14 территориальных групп, в каждой группе были изучены перечисленные параметры сперматозоидов. Определены медианы концентрации сперматозоидов, количество живых форм, проведен Мар-тест на наличие антиспермальных антител [1]. Статистический анализ данных с целью выявления влияния территориальных факторов на морфофункциональные характеристики сперматозоидов проведен с использованием компьютерной программы SPSS Statistics 22.

Результаты исследования и их обсуждение.

При анализе полученных результатов выявлено, что в спермограммах пациентов, проживающих на различных территориях Самары и Самарской области, медианы концентраций сперматозоидов составили от 74,38 млн/мл в г. Новокуйбышевск до 132 млн/мл в Кировском районе г.о. Самара. Средние показатели концентрации сперматозоидов в эякулятах представлены на рисунке 1.



Рисунок 1- Средние показатели концентрации спер-

матозоидов в эякулятах (млн/мл) пациентов, проживающих в различных районах Самарской области

При этом самые низкие показатели регистрируются у пациентов, проживающих в г. Тольятти и Кировском районе г.о. Самара, а самые высокие показатели отмечены среди пациентов Советского района г.о. Самара и г. Новокуйбышевск (рис. 2).



Рисунок 2 - Значения медиан живых форм сперматозоидов (%) обследуемых лиц, проживающих в различных районах Самарской области

Как известно, для успешного зачатия количество прогрессивно-подвижных форм должно составлять не менее 32%. Как видно на рисунке 3 этот показатель ниже только у пациентов г. Сызрань (29%), у остальных обследуемых данный показатель значительно превышает 32%.



Рисунок 3 - Значения медианы прогрессивно подвижных форм (%) обследуемых лиц, проживающих в различных районах Самарской области

Наибольшее количество подвижных форм сперматозоидов наблюдается у обследуемых, проживающих на территории Советского района, Куйбышевского района г.о. Самара и в г. Чапаевск. Значение медианы данного показателя составляет в перечисленных районах 46,56%, 44,85% и 43,15% соответственно.

Отмечается также, что медиана непрогрессивно подвижных (NP) форм наиболее высокое значение имеет среди пациентов, проживающих в Промышленном районе г.о. Самара, составляя 17,43%. Самая низкое ее значение - 13,57%, определено среди пациентов Самарского района г.о. Самара.

Медиана неподвижных форм (IM) достигает высоких показателей в г. Сызрань (54,8%).

При оценке значений медианы, отражающей показатели морфологии сперматозоидов, выявлено, что анализируемые параметры сперматозоидов соответствуют референтным величинам у пациентов всех изучаемых районов г.о. Самара и Самарской области. Однако, отметки в более 14 % достигли лишь 3% мужчин (рис. 4).



Рисунок 4 - Значения медианы показателей морфологии (%) обследуемых лиц, проживающих в различных районах Самарской области

В 71% случаев отмечены удовлетворительные показатели морфологии сперматозоидов, у 26% пациентов выявлены отклонения. Нормальные показатели морфологии сперматозоидов чаще регистрировались у пациентов, проживающих в Советском, Кировском районах г.о. Самара и в городах Чапаевск и Новокуйбышевск. Аномалии чаще всего встречались у жителей г. Сызрань и Железнодорожного района г.о. Самара.

Прямой MAR-тест на наличие IgA и IgG показал, что наибольшие значения выявлены у жителей г. Тольятти - 27,47%. Самые низкие значения антиспермальных антител выявлены среди жителей Куйбышевского района г.о. Самара, значение медианы при этом составило 4,19%. Значения медианы результатов MAR-теста представлены на рисунке 5.



Рисунок 5 - Значения медианы результатов MAR-теста (%) обследуемых лиц, проживающих в различных районах Самарской области

Таким образом по данным основных показателей спермограмм пациентов, проживающих в различных городах и районах Самарской области, отличающихся по степени антропогенной нагрузки установлено, что:

1. Самая высокая концентрация сперматозоидов в эякуляте выявлена по данным спермограмм у мужчин в Кировском районе г.о. Самара и г. Тольятти, а самая низкая – в Красноглинском районе г.о. Самара и в г. Новокуйбышевск.

2. Процент живых форм по данным спермограмм больше у мужчин Советского района, меньше – у мужчин Кировского г.о. Самара. По городам Самарской области наибольшая и наименьшая концентрации живых форм, соответственно, в Новокуйбышевске и Тольятти. Неподвижных сперматозоидов в эякуляте мужчин г.о. Самара больше всего в Самарском районе, а подвижных – в Советском. Показатели, характеризующие подвижность сперматозоидов, ниже всего в г. Сызрань, выше – в г. Чапаевск.

3. Больше всего морфологических отклонений сперматозоидов от нормы выявлено в спермограммах жителей г. Чапаевск и Советского района г.о. Самара. В спермограммах мужчин г. Тольятти самый высокий показатель MAR-теста.

4. Проведенный статистический анализ показал, что у пациентов, проживающих на различных территориях с разным уровнем техногенной нагрузки, выявляются определенные отклонения как в количестве, так и в морфологии сперматозоидов, но предложенная нами гипотеза о том, что активность сперматозоидов мужчин репродуктивного возраста зависит только от места их проживания, не подтвердилась в ходе статистического анализа спермограмм. Необходим комплексный подход, учитывающий не только место проживания, но и возраст, профессию, наличие сопутствующих заболеваний у пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всемирная организация здравоохранения & «Медико-генетический научный центр» РАМН (2012). Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека: Пятое издание. Всемирная организация здравоохранения.
2. Сосновская Т. С. Бесплодие как социально-демографическая проблема России // Научное сообщество студентов: Междисциплинарные исследования: Сб. ст по материалам Студ. Научно-практической конференции «21(32).
3. Здравоохранение в России. 2015: Стат. сб./Росстат.-М., 2015. - С.54.
4. Щелочков А. М. и др. Региональные показатели фертильности у мужчин Самарской области, а также факторы, являющиеся причинами их изменения //Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – №. 8.
5. Шурыгина О.В., Тугушев М.Т., Байзарова А.А., Стрючков С.В. Альтернативные критерии оценки качества спермы в программах вспомогательных репродуктивных технологий // Морфология. – 2017. – Т. 151, № 3. – С. 118-118а.
6. Петрищев В. С., Щелочков А. М. Оценка морфологии сперматозоидов согласно строгим критериям //Проблемы репродукции. – 2002. – №. 3. – С. 87-90.
7. Mortimer S. T, G. van der Horst, Mortimer D. T e future of computer-aided sperm analysis // Asian Journal of Andrology. – 2015. – No.17. pp. 1–9.
8. Билич Г.Л., Зигалова Е.Ю. Справочник по андрологии и сексологии [Текст]: Производств.-практич.изд., практич. рук-во / Г.Л. Билич, Е.Ю. Зигалова - 4-е изд., перераб., 2018 – 382 с.
9. Унгуряну Т.Н., Гржибовский А.М. Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела Уоллиса в программе Stata // Экология человека. - 2014. - №6.

REFERENCES

1. Vsemirnaya organizatsiya zdavoohraneniya & «Mediko-geneticheskiy nauchnyiy tsentr» RAMN (2012). Rukovodstvo VOZ po issledovaniyu i obrabotke eyakulyata cheloveka: Pyatoye izdanie. Vsemirnaya organizatsiya zdavoohraneniya.
2. Sosnovskaya T. S. Besplodie kak sotsialno-demograficheskaya problema Rossii// Nauchnoe soobshchestvo studentov: Mezhdistsiplinarnye issledovaniya: Sb. st po materialam Stud. Nauchno-prakticheskoy konferentsii «21(32).
3. Zdravoohranenie v Rossii. 2015: Stat. sb./Rosstat.-M., 2015. - S.54.
4. Schelochkov A. M. i dr. Regionalnyie pokazateli fertlnosti u muzhchin Samarskoy oblasti, a takzhe faktoryi, yavlyayuschiysya prichinami ih izmeneniya //Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. – 2012. – #. 8.
5. Shuryigina O.V., Tugushev M.T., Bayzarova A.A., Stryuchkov S.V. Alternativnyie kriterii otsenki kachestva spermyi v programmah vspomogatelnyih reproduktivnyih tehnologiy // Morfologiya. – 2017. – T. 151, # 3. – S. 118-118a.
6. Petrishev V. S., Schelochkov A. M. Otsenka morfologii spermatozoidov soglasno strogim kriteriyam //Problemyi reproduksii. – 2002. – #. 3. – S. 87-90.
7. Mortimer S. T, G. van der Horst, Mortimer D. T e future of computer-aided sperm analysis // Asian Journal of Andrology. – 2015. – No.17. pp. 1–9.
8. Bilich G.L., Zigalova E.Yu. Spravochnik po andrologii i seksologii [Tekst]: Proizvodstv.-praktich.izd., praktich.ruk-vo / G.L. Bilich, E.Yu. Zigalova - 4-e izd., pererab., 2018 – 382 s.
9. Unguryanu T.N., Grzhibovskiy A.M. Sravnenie treh i bolee nezavisimyyh grupp s ispolzovaniem neparametricheskogo kriteriya Kraskela Uollisa v programme Stata // Ekologiya cheloveka. - 2014. - #6.

ТҮЙІНДЕМЕ

**«АНА МЕН БАЛА» КЛИНИКАСЫНЫҢ ДЕРЕКТЕРІ БОЙЫНША РЕПРОДУКТИВТІ ЖАСТАҒЫ
ЕРЛЕР ШӘУЕТІНІҢ МОРФОФУНКЦИОНАЛДЫ СИПАТТАМАЛАРЫНА АУМАҚТЫҚ ФАКТОРДЫҢ
ӘСЕРІ**

**М.Т. Тугушев, Ю.В. Мякишева, А.М. Щелочков, И.В. Федосейкина,
О.Я. Сказкина, О.В. Шурыгина**

Самара мемлекеттік медицина университеті
Репродуктивті медицина, клиникалық эмбриология және генетика кафедрасы
Медициналық биология, генетика және экология кафедрасы
Ресей, Самара