

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра генетики

**ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ
ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ**

МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 241 группы

Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Комиссаровой Алины Михайловны

Научный руководитель:

Зав. кафедрой генетики,

док. биол. наук, доцент



О.И. Юдакова

Зав. кафедрой генетики:

док. биол. наук, доцент



О.И. Юдакова

Саратов 2021

ВВЕДЕНИЕ

Проблема бесплодия является не только медицинской, но и социальной проблемой. По данным министерства здравоохранения, можно наблюдать существенный прирост пациентов с диагностированным бесплодием за 1 год.

Бесплодие может быть вызвано рядом различных факторов как в мужской, так и в женской репродуктивной системе.

В мужской репродуктивной системе причинами бесплодия могут быть: обструкция репродуктивного тракта; гормональные расстройства; нарушение сперматогенеза; аномалии сперматозоидов и др.

При мужском бесплодии одним из основных анализов является спермограмма. Исследование необходимо для оценивания фертильности спермы мужчины.

Однако, на сегодня не проводилось исследований по выявлению возможных «маркерных» признаков, по которым можно было бы прогнозировать результат ЭКО с использованием биоматериала мужчин, имеющих проблемы с естественным зачатием.

Целью настоящей работы был поиск возможных «маркерных» показателей спермограмм мужчин с проблемами репродуктивного здоровья, по которым можно было бы прогнозировать результативность процедуры ЭКО.

Для достижения указанной цели были поставлены и решены следующие задачи:

- 1) провести сравнительный анализ показателей спермограмм здоровых мужчин и мужчин с проблемами репродукции;

- 2) провести сравнительный анализ показателей спермограмм мужчин с проблемами репродукции, у которых после использования их биоматериала в ЭКО наступали беременности, и мужчин с проблемами репродукции и отрицательными результатами ЭКО.

1 Проблемы мужского репродуктивного здоровья

В данном разделе ВКР представлен обзор литературных данных по проблемам мужского репродуктивного здоровья. Отражена фертильность мужчин в разных регионах, были рассмотрены причины увеличения частоты мужского бесплодия, так же освещены вопросы касающиеся какие бывают формы мужского бесплодия и их более детальное описание. Также был рассмотрен раздел посвященный иммунологической несовместимости партнеров и другим формам бесплодия. Был рассмотрен вопрос посвященный диагностике мужского бесплодия, более детально рассмотрен один из способов диагностики это – спермограмма. Психологические аспекты бесплодия также играют важную роль в вопросе проблем мужского репродуктивного здоровья. Раскрыт вопрос лечения мужского бесплодия в зависимости от типа нарушений. Рассмотрены методы вспомогательных репродуктивных технологий такие как искусственная инсеминация, экстракорпоральное оплодотворение и суррогатное материнство.

2 Материалы и методы

Материалом исследования послужили спермограммы 189 пациентов банка репродуктивных клеток и тканей ООО «Репролаб». Пациенты с проблемами репродуктивного здоровья были поделены на две группы: 1. «Стерильные», при использовании их биоматериала в ЭКО не наступали беременности (100 человек); 2. «Фертильные», использование биоматериала в ЭКО приводило к рождению нормальных детей (30 человек). В качестве контроля, использовали спермограммы здоровых мужчин, которые являются донорами спермы этого центра (58 человек).

Препараты спермы приготавливали в соответствии с рекомендациями ВОЗ, по методике Г. Папаниколау. Оценку морфологии сперматозоидов использовали по строгим критериям Т. Крюгера.

3 Результаты исследования

3 Результаты исследования

3.1 Результаты сравнительного анализа спермограмм здоровых мужчин и мужчин с проблемами естественного зачатия детей

Сравнительный анализ спермограмм показал, что у здоровых мужчин средние значения всех параметров, кроме объема эякулята выше, чем у пациентов с проблемами репродуктивного здоровья (таблица 1). Объем эякулята у здоровых мужчин варьировал от 2,4 до 3,3 мл, а у больных – от 2,7 до 3,31 мл. У здоровых мужчин концентрация сперматозоидов варьировала от 86 до 95 млн/мл, когда у больных мужчин этот показатель составил от 36 до 80 млн/мл. Подвижность сперматозоидов в группе здоровых мужчин составила от 64 до 71%, тогда как у больных – 43 – 51%. Общее количество сперматозоидов также было выше у здоровых мужчин, чем у больных (227-287 млн/мл и 14-248 млн/мл, соответственно). По данному показателю наблюдалось особенно сильное варьирование значений у больных мужчин (CV=92%).

Высокие значения коэффициентов вариации практически всех изученных признаков свидетельствуют об их высокой вариабельности как у здоровых, так и больных пациентов (таблица 1). В следствие такого широкого диапазона варьирования параметров, различия между средними значениями параметров спермограмм являются статистически не достоверными (таблица 1), и поэтому не могут достоверно указывать на фертильность или стерильность мужчин.

Достоверные различия между здоровыми и больными мужчинами выявлены только по показателю «морфология сперматозоидов». Так, частота встречаемости нормальных гамет в группе здоровых мужчин оказалась достоверно выше (8,3%) (при $p \leq 0,5$), чем у больных (5,3%) (таблица 1).

Таким образом, при оценке фертильности пациента необходимо учитывать совокупность всех параметров спермограмм, обращая особое

внимание на показатель «морфология сперматозоидов». Недостоверность различий между средними значениями параметров спермограмм и широкий диапазон варьирования этих значений у здоровых и больных мужчин свидетельствует о том, что спермограмма не может являться единственным основанием для постановки диагноза «стерильность».

Таблица 1 – Параметры спермограмм здоровых и больных пациентов

№ выборки пациентов	Параметры спермограммы				
	Объем эякулята, мл.	Концентрация спермато- зоидов, млн/мл	Подвижность спермато- зоидов, %	Общее количество спермато- зоидов, млн/мл	Морфология спермато- зоидов, %
Здоровые					
1	2,4±1,0	95,0±19,7	71,1±6,8	227,5±93,0	8,3±1,2
2	3,3±0,9	86,6±16,3	66,3±6,1	287,2±88,0	8,0±1,0
3	2,5±1,5	91,5±15,6	64,5±5,4	245,0±178,3	8,3±0,5
Среднее значение	2,7±1,2	90,6±15,4	67,3±6,1	248,7±119,8	8,3±0,9*
Коэффициент вариации	44,0	16,9	9,0	48,1	10,8
Больные					
1	3,3±1,4	80,9±53,3	51,8±15,9	271,0±237,0	5,6±2,0
2	2,7±1,2	46,0±37,0	43,8±17,0	111,8±108,2	4,5±1,8
3	2,7±1,2	36,7±26,9	51,5±18,9	121,1±109,2	4,7±2,0
Среднее значение	2,9±1,0	54,2±38,6	48,9±17,2	164,1±151,0	5,0±1,9*
Коэффициент вариации	34,4	67,8	35,1	92,0	38,0

Примечание: Средние значения по данному показателю достоверно различаются по результатам однофакторного дисперсионного анализа при * $p \leq 0,5$;

3.2 Результаты сравнительного анализа спермограмм пациентов с проблемами репродукции, у которых ЭКО дало положительные и отрицательные результаты

Для того, чтобы определить можно ли по результатам анализа спермограмм прогнозировать успешность результатов ЭКО, пациенты с проблемами репродукции были поделены на две группы:

Таблица 2 – Параметры спермограмм пациентов с проблемами репродуктивного здоровья

№ Выборки	Параметры спермограммы				
	Объем эякулята, мл.	Концентрация спермато- зоидов, млн/мл	Подвижность спермато- зоидов, %	Общее количество спермато- зоидов, млн/мл	Морфология спермато- зоидов, %
С положительным результатом ЭКО					
1	4,2±1,4	92,4±60,9	48,6±14,9	385,4±334,0	6,3±2,0
2	3,4±1,2	115,2±51,4	52,2±11,6	369,5±167,6	5,6±1,5
3	3,5±1,1	82,6±41,8	59,5±19,1	287,6±213,8	5,3±1,9
Среднее значение	3,6±1,2	96,7±52,0	53,5±15,4	344,2±239,2	5,7±1,8
Коэффициент вариабельности	35,2	53,7	28,7	69,4	31,5
С отрицательным результатом ЭКО					
1	2,4±1,5	37,3±30,8	44,9±17,4	81,7±57,5	4,7±2,1
2	2,8±1,5	55,3±38,7	43,9±16,1	159,7±157,0	4,9±2,0
3	3,9±1,0	34,7±21,4	50,9±20,1	87,6±62,6	4,7±2,0
Среднее значение	2,6±1,3	41,5±32,4	47,5±17,8	109,0±92,0	4,8±2,0
Коэффициент вариабельности	50,0	78,0	37,4	84,4	41,6

Примечание: Изучено 3 повторности по 10-40 человек. Средние значения по указанным признакам не достоверно различаются по результатам однофакторного дисперсионного анализа.

1) с положительными результатами ЭКО после использования их биоматериала; 2) с отрицательными результатами ЭКО после использования их биоматериала.

Сравнительный анализ спермограмм пациентов показал, что в группе мужчин с положительным результатом ЭКО средние значения всех параметров выше по сравнению с таковыми у мужчин с отрицательным ЭКО (таблица 2). Вместе с тем, как и при сравнении больных пациентов со здоровыми мужчинами было установлено значительное варьирование всех параметров в обеих группах.

Объем эякулята был незначительно выше у мужчин в группе пациентов с положительным результатом ЭКО и варьировал от 3,4 до 4,2 мл, у мужчин с отрицательным результатом ЭКО этот показатель варьировал от 2,8 до 3,9 мл. В группе с положительными результатами ЭКО концентрация сперматозоидов составила от 82 до 115 млн/мл, когда у мужчин с отрицательным результатом ЭКО этот показатель составил от 34 до 55 млн/мл. Подвижность сперматозоидов в группе мужчин с положительным результатом ЭКО варьировала от 48 до 71%, у мужчин с отрицательным результатом ЭКО – от 43 до 50%. Общее количество сперматозоидов у мужчин из группы с положительным результатом ЭКО колебалось от 287 до 375 млн/мл, в группе с отрицательными результатами – от 87 до 157 млн/мл. (В отличие от результатов анализа спермограмм здоровых и больных мужчин, при сравнении спермограмм пациентов с положительным и отрицательным результатом ЭКО не обнаружено достоверных различий ни по одному из показателей, включая «морфологию сперматозоидов».

Несмотря на то, что пациенты с положительным и отрицательным результатом ЭКО не отличались по количественному показателю «морфология сперматозоидов», а, следовательно, имели одинаковую частоту встречаемости гамет нормального строения, в этих группах пациентов были

обнаружены отличия по частоте встречаемости разных типов аномальных сперматозоидов (таблица 3).

Таблица 3 – Морфологические особенности сперматозоидов пациентов с бесплодием

№ выборки	Количество сперматозоидов с патологией развития, %				
	головки	шейки	хвоста	с вакуолями	без шейки или хвоста
с положительными результатами ЭКО					
1	31,1±10,0	31±11,8	25,8±8,7	18,9±8,0	31,0±11,0
2	25,8±10,0	25,9±14,9	40,8±17,2	17,1±7,7	25,9±12,5
3	27,5±10,0	30,7±18,1	36,5±11,2	24,3±11,4	30,7±18,1
Среднее значение	30,1±10,0	29,2± 14,3	34,3±12,3	20,1±9,0	29,2±13,8*
Коэффициент вариабельности	33,2	48,9	35,8	44,7	47,2
с отрицательными результатами ЭКО					
1	42,0±7,8	18,5±7,6	34,7±6,8	24,1±9,0	52,9±8,2
2	37,0±8,7	23,7±10,3	34,4±6,5	23,7±9,9	58,1±8,6
3	38,8±7,3	20,5±12,5	35,9±6,3	24,2±7,4	56,4±8,4
Среднее значение	39,2±7,5	20,9±10,1	35,0±6,5	24,0±8,7	55,8±8,4*
Коэффициент вариабельности	19,1	48,3	18,0	36,2	15,0

Примечание Средние значения по данному показателю достоверно различаются по результатам однофакторного дисперсионного анализа при * $p \leq 0,5$;

У пациентов с проблемами репродукции наблюдались различные виды нарушения морфологии сперматозоидов: аномальная головка, шейка, хвостик; гаметы с чрезмерным количеством вакуолей; сперматозоиды без хвостика или шейки (рис.1)

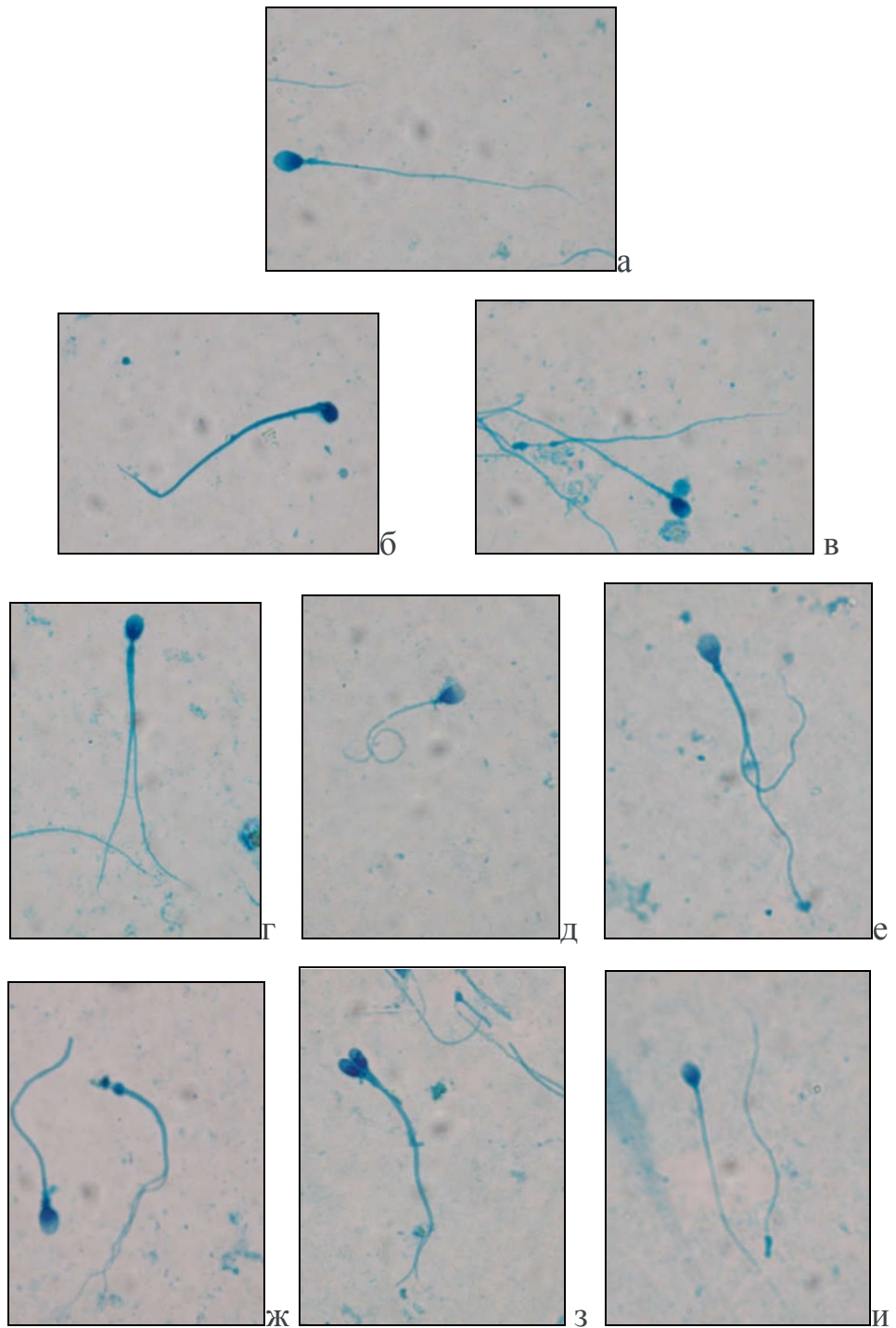


Рисунок 1 – сперматозоиды человека: а – нормального строения; б, в, ж, з, и, р, с, т – с патологией головки; г, д, е, н, о, п – с патологией хвостика; к, л, м – с патологией шейки; у, ф – агрегация сперматозоидов

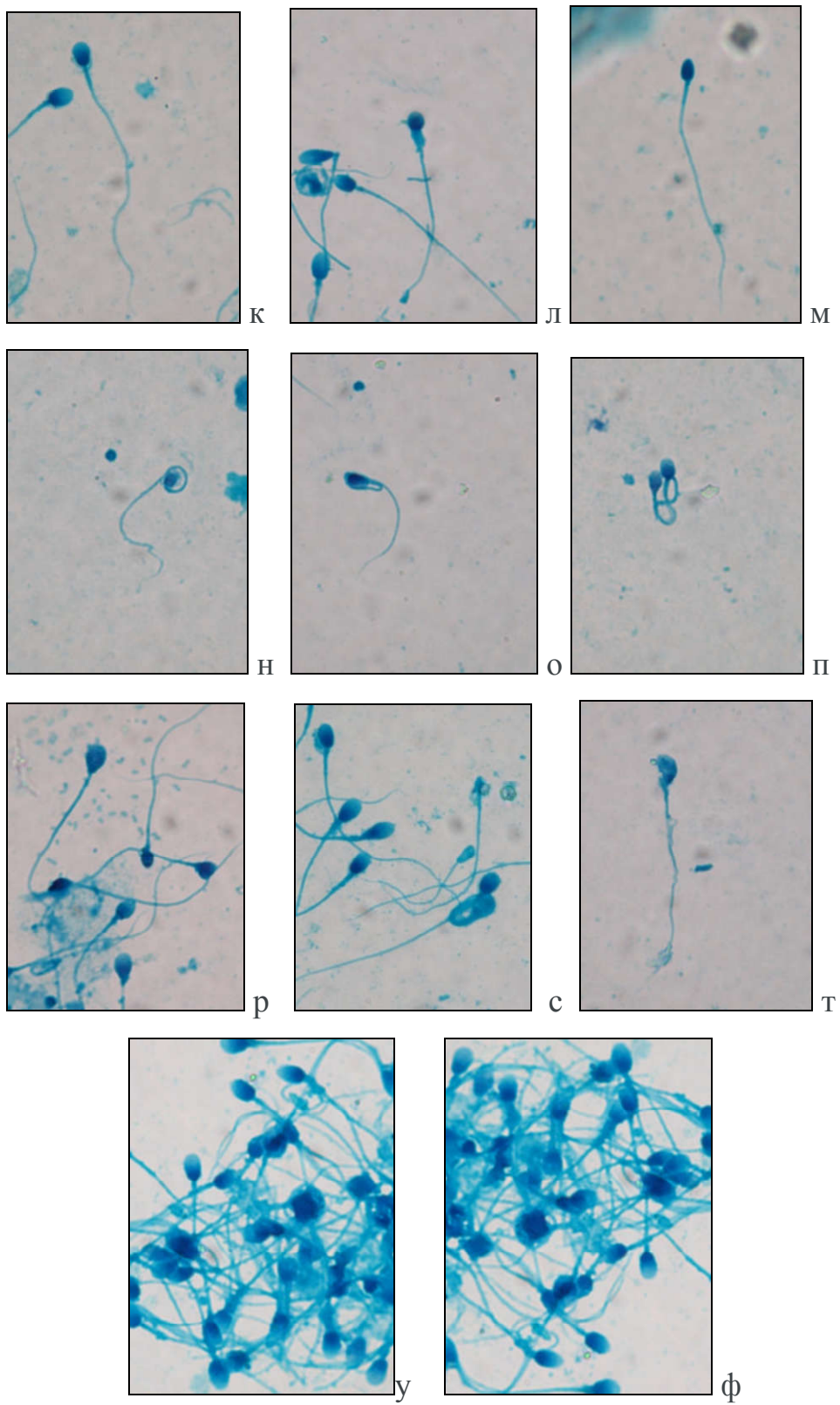


Рисунок 1 – продолжение

Анализ частоты встречаемости разных типов аномалий гамет показал, что у мужчин с отрицательным результатом ЭКО сперматозоидов без шейки или хвостика присутствует достоверно больше, чем в группе мужчин с положительными результатами ЭКО (таблица 3). Таким образом, результаты проведенного сравнительного анализа позволяют констатировать, что ЭКО может быть неэффективными, если у пациентов частота встречаемости гамет с патологией шейки и хвоста превышает 50%.

ВЫВОДЫ.

1. Спермограммы здоровых мужчин и пациентов с проблемами репродукции достоверно отличаются только по показателю «морфология сперматозоидов» (8,3 и 5,3%, соответственно, при $p \leq 0,5$). По другим показателям спермограммы достоверных различий не обнаружено.
2. Количественные показатели спермограмм демонстрируют большой диапазон варьирования параметров (коэффициент вариации 15-92%) как у здоровых мужчин, так и у мужчин с проблемами репродуктивного здоровья. Недостоверность различий и широкий диапазон варьирования показателей спермограмм свидетельствует о том, что спермограмма не может является единственным основанием для постановки диагноза «стерильность».
3. Показатели спермограмм у исследованных мужчин с проблемами репродуктивного здоровья и положительным и отрицательным результатом ЭКО достоверно не отличаются.
4. У мужчин с проблемами репродуктивного здоровья и отрицательными результатами ЭКО достоверно выше частота встречаемости сперматозоидов с отсутствием шейки и хвоста. Это позволяет констатировать, что при частоте встречаемости гамет без шейки или хвоста выше 50%, нельзя гарантировать положительный результат ЭКО.