

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого" Министерства
здравоохранения Российской Федерации Кафедра урологии, андрологии,
сексологии ИПО

"Спермограмма как метод исследования"

Выполнил:
Клинический ординатор
Евпак Алексей Вячеславович

Красноярск 2021 г

Введение

Анализ жидкостей половых органов является важной диагностической процедурой, без которой невозможно представить работу врача-гинеколога или уролога.

Спермограмма – это лабораторное исследование спермы (эякулята) с целью выявления патологических изменений. В результате данного анализа чаще всего устанавливаются причины мужского бесплодия и урологические патологии.

При анализе спермы учитываются общие физические и химические показатели (цвет, запах, прозрачность, вязкость), клеточный состав, количество и активность сперматозоидов.

Для максимальной достоверности результатов спермограммы необходимо подготовиться к сдаче анализа.

Результаты анализа спермы способен правильно оценить только врач, так как это требует комплексного подхода. Свойства спермы могут значительно меняться под действием различных внешних и внутренних факторов, поэтому для подтверждения результата следует сделать повторную спермограмму. Сдача спермы на анализ не представляет особых сложностей и должна регулярно осуществляться каждым мужчиной, который ценит свое здоровье.

Определение, правила получения и доставки в лабораторию

Спермограмма – это метод лабораторной диагностики, который заключается в описании общих свойств и микроскопии нативных препаратов эякулята. В ряде случаев дополняется бактериологическими, биохимическими, иммуноферментными, цитогенетическими методами исследований.

Спермограмма проводится в специализированных медицинских учреждениях, при наличии оборудованной для этих целей лаборатории и специальной комнатой для сбора эякулята.

Правила получения и доставки:

1. Исследование следует проводить после полового воздержания, причем эти сроки должны быть не менее 2 – 3 суток и не более недели. Если требуется проведения серии спермограмм, то повторное исследование проводится не ранее чем через 7 дней. Однако желательно следующее исследование провести через 2 месяца.

2. Накануне не рекомендуется принимать лекарственные препараты, употреблять алкоголь, подвергаться воздействию солнца и других видов излучения, в том числе посещать сауну или баню.

3. Следует избегать чрезмерные физические нагрузки.

4. Сбор материала осуществляется путем мастурбации. Использование презервативов исключается, поскольку они обработаны спермицидами. Перед получением необходимо помочиться.

5. Полученный эякулят следует сразу же начать исследовать. Если в силу ряда причин это невозможно, то допускается доставка образца до лаборатории в течение 30-40 минут. Следует сказать, что контейнер со спермой во время транспортировки следует выдерживать при температуре тела (доставлять контейнер в нагрудном кармане рубашки). Горло контейнера должно быть широким.

Лабораторное исследование спермограммы

Исследование спермограммы включает в себя несколько этапов, то есть такие исследования, как:

1. макроскопическое,
2. микроскопическое,
3. бактериологическое,
4. биохимическое,
5. иммуноферментное,
6. цитогенетическое,
7. биологическое
8. определяется показатель плодовитости Фарриса.

Макроскопическое исследование эякулята

Макроскопическое исследование эякулята включает в себя следующие этапы:

- описание внешнего вида;
- определение времени разжижения,
- количества,
- pH,
- вязкости эякулята.

Внешний вид описывается по нескольким параметрам:

- цвет,
- прозрачность,
- запах,
- консистенция.

Время разжижения является важным пунктом исследования спермограммы. В норме сперма жидкая, однако через некоторый промежуток времени на воздухе она коагулирует и превращается в желеобразную массу. В половых путях женщины она разжижается. В условиях лаборатории данный процесс наступает через 40 – 60 минут при комнатной температуре.

При нахождении эякулята в термостате это время уменьшается до 10 – 20 минут. Замедленное время разжижения наблюдается при отсутствии в секрете простаты фибринолизина и фибриногеназы. Если разжижение не наступило, то эякулят обрабатывается трипсином (1 мг на 1 мл эякулята). Следует сказать, что дальнейшее исследование проводится после полного разжижения.

Сперма в норме характеризуется серовато-белым цветом с небольшой молочно-белой опалесценцией. В случаях длительного отсутствия половых контактов или мастурбации сперма может иметь желтоватый цвет. Примесь крови окрашивает эякулят в красный, розовый или бурый цвет. Зеленовато-желтый цвет характерен для примеси гноя. В результате приема некоторых лекарственных препаратов цвет спермы может варьировать.

Количество эякулята в норме составляет от 2 до 6 мл, и в среднем эта цифра равна 3 – 4 мл. Снижение количества эякулята (менее 2-х мл) называется гипоспермией. Малое количество эякулята (менее 1 мл) встречается при атрофических процессах в яичниках или же врожденном отсутствии семенных пузырьков (в сочетании с низким рН менее 6,8 и отсутствием фруктозы). Увеличение объема эякулята свыше 10 мл носит название гиперспермия и встречается при гиперфункции бульбоуретральных желез. Однако чаще всего причина гиперспермии неясна. В большинстве случаев гиперспермия не оказывает негативного влияния на фертильность. Полное отсутствие эякулята называется аспермией и встречается при окклюзиях семявыносящих протоков, ретроградной эякуляции, низком уровне гонадотропинов, хронических воспалительных заболеваниях предстательной железы и семенных пузырьков.

Прозрачность спермы обусловлена концентрацией сперматозоидов. Так, если в эякуляте содержится большое число сперматозоидов, он приобретает мутный, молочно-белый вид. И, наоборот, в бедной сперматозоидами сперме имеется стекловидная прозрачность.

Запах эякулята характерный, напоминает запах цветов каштана. Этот специфичный запах спермы придает секрет предстательной железы. Если имеется воспалительный процесс в придаточных половых железах, то тогда запах может быть гнилостным.

Консистенция эякулята или вязкость определяют после разжижения. Эякулят перемешивают и измеряют стеклянной пипеткой путем замера длины нити, которая образуется при пассивном вытекании эякулята из пипетки в течение 15 секунд. Также это возможно сделать и стеклянной палочкой, которую вначале опускают в емкость со спермой. Далее ее поднимают и измеряют длину нити, которая тянется за кончиком палочки. В норме длина нити не превышает 2 см. Повышенная вязкость может быть вариантом нормы. Однако если имеется повышенная вязкость вместе с увеличением времени разжижения, то это может указывать на различные воспалительные процессы в предстательной железе и семенных пузырьках. Также это возможно при наличии хронических инфекционно-воспалительных процессов, вызванных трихомонадами.

Кислотность эякулята измеряется прибором рН-метром или лакмусовыми индикаторными полосками. Измерение рН проводится сразу после разжижения. В норме этот показатель составляет от 7,2 до 8. Сдвиг в кислую сторону может указывать наличие хронических воспалительных заболеваний придаточных половых желез. В сочетании с азооспермией это встречается при обструктивных процессах семявыносящих путей. Кислая реакция спермы вместе с отсутствием фруктозы свидетельствует о том, что в эякулят не попадает щелочной секрет семенных пузырьков (закупорка протоков обоих семенных пузырьков). Резкий сдвиг в щелочную сторону указывает на наличие уреазообразующей мочевого инфекции и встречается при острых воспалительных заболеваниях.

Микроскопическое исследование эякулята

Микроскопическое исследование эякулята является самым важным звеном спермограммы. При микроскопии оценивается:

- концентрация сперматозоидов,
- их подвижность и
- строение;
- проводится подсчет и изучение иных клеточных элементов эякулята.

Количество и подвижность сперматозоидов изучается на прижизненных нативных препаратах без окраски. Для оценки жизнеспособности используются нативные препараты с прижизненной окраской. Морфология изучается после фиксации препарата и специального окрашивания. Исследование выполняется с помощью светового или фазово-контрастного микроскопа с рабочим увеличением (объектив 40х, окуляр 10х). Конденсор опущен.

Эякулят сразу же помещается в термостат при $+37^{\circ}\text{C}$. Микроскопия выполняется после полного разжижения, не позже чем через 60 минут. Концентрация сперматозоидов и их подвижность определяется при помощи счетной камеры Горяева. Счетная камера изготавливается из плотного предметного стекла. На ее поверхности имеется 225 квадратов (15 рядов по 15 квадратов). Эти квадраты называются «большими». Кроме того, на поверхности камеры имеется «малые квадраты», которые имеют размеры 0,05 мм. Между стенкой камеры (там, где нанесена сетка) и боковыми частями имеется зазор в 0,1 мм. После нанесения материала камера прикрывается и притирается покровным стеклом, что фиксирует определенный объем исследуемого материала. Камера Горяева и покровные стекла должны быть вымыты и обезжирены смесью Никифорова, подогреты до $+25^{\circ}\text{C}$. Кроме того, рекомендуется наносить часть материала и на обычные предметные стекла, обработанные таким же образом. Дело в том, что

опытный врач-лаборант при осмотре нативного препарата спермы на обычном предметном стекле может с большой долей достоверности определить основные показатели спермограммы.

После полного разжижения эякулят разводят физиологическим раствором также комнатной температуры в соотношении 5:1. Иногда разведение увеличивают, особенно если имеется молочно-белый цвет эякулята. Полученный материал несколько раз осторожно набирают и опорожняют в пипетку. Далее каплю эякулята подводят под покровное стекло. Материал должен равномерно распределиться по всей камере. После чего необходима стабилизация препарата. Для этого в течение 1 – 2 минут его оставляют на предметном столе микроскопа. Рекомендуется использовать предметный столик микроскопа с подогревом до $+37^{\circ}\text{C}$. В случае, если этого нет, возможно переместить приготовленную и заправленную эякулятом камеру в термостат на 15 минут при той же температуре. После этого переходят непосредственно к микроскопии.

Исследование не вызывает сложностей, если в большом квадрате камеры Горяева расположено не менее 30 – 40 сперматозоидов. Если это число более 150 – 200, то рекомендуется увеличить разведение в 2, а иногда и в 3 раза.

Если же наоборот клеточных элементов слишком мало, то тогда выполняется центрифугирование эякулята. Излишки жидкости удаляют пипеткой. Следует заметить, что возможно некоторое изменение морфологии в худшую сторону при проведении центрифугирования.

Для оценки достоверности полученного результата исследуют второй препарат. Подсчет ведется, исследуя около 200 – 300 клеток. При подсчете 50 клеток результат считается статистически недостоверным, если разница между двумя исследованиями составляет менее 5 клеток. При подсчете 100 клеток это значение равно 7. И при подсчете 250 клеток – 9.

Во время проведения микроскопического спермиологического обследования определяются следующие параметры:

1. Определение количества сперматозоидов.
2. Оценка подвижности сперматозоидов.
3. Оценка жизнеспособности сперматозоидов.
4. Оценка морфологии сперматозоидов.
5. Исследование «круглых» клеток.
6. Определение агглютинации сперматозоидов.
7. Оценка неклеточных структур.

Определение количества сперматозоидов

Определение количества сперматозоидов выполняется при микроскопии препарата в счетной камере. Для того, чтобы движения сперматозоидов не вызвали технических сложностей, необходимо провести их обездвиживание. Для этого используется раствор, который содержит 50 грамм бикарбоната соды (NaHCO_3), 10 мл 35% раствора формалина, разведенного в 1 литре воды. Это рекомендация ВОЗ. Обездвиживание происходит в камере Горяева. Также возможно использовать один препарат для оценки подвижности сперматозоидов и подсчета концентрации. Для этого после проведения оценки подвижности в тот же препарат вносится 96% раствор этилового спирта, путем поднесения смоченной фильтровальной бумаги к краю покровного стекла камеры.

Иногда используют жидкость Рубенкова, которая состоит из основного фуксина – 0,1 г, красителя Романовского – 0,02 мл, концентрированной карболовой кислоты – 0,2 мл, глицерина – 0,1 мл, этилового спирта ректификата – 2 мл, 1% раствора натрия хлорида – 100 мл. Эта жидкость кроме фиксации окрашивает сперматозоиды, что дает возможность оценить морфологию сперматозоидов – сперматограмму.

Камеру готовят для микроскопии, так же, как было описано ранее. Для более удобного исследования рекомендуется выдержать камеру Горяева во влажной среде специального устройства. Это необходимо для оседания клеточных элементов.

Исследование проводится путем микроскопии световым микроскопом (или фазово-контрастным) при увеличении 200х (объектив 20х и окуляр 10х). Подсчет сперматозоидов происходит внутри квадратов камеры Горяева. Если клетка расположена на границе между квадратами, то пользуются правилом подсчета только на одной стороне камеры (правой или левой). Подсчет проводится сперматозоидов, имеющих головку и жгутик. Если встречаются аномальные сперматозоиды, например, без жгутика, то они в подсчет не входят.

Техника подсчета следующая:

- если в одном большом квадрате камеры имеется более 40 сперматозоидов, то подсчету подлежат сперматозоиды, находящиеся в пяти больших квадратах;
- если количество клеток составляет от 10 до 40, то исследуются десять больших квадратов, и если имеется менее чем 10 сперматозоидов, то подсчитываются сперматозоиды, лежащие в 25 квадратах.

Принцип подсчета основан на том, что зная все размеры камеры, соответственно ее объем, можно определить концентрацию клеток, находящихся в данном объеме.

Итак, вначале определяется количество малых квадратов, которые расположены в пяти больших. Это число равно 80 ($16 * 5 = 80$). Далее определяется объем малого квадрата, который составляет $1/4000$ кубических миллиметра ($V = 0,05 \text{ мм} * 0,05 \text{ мм} * 0,1 \text{ мм} = 1/4000$ кубических миллиметра). После чего подсчитывается количество сперматозоидов в одном малом квадрате. Это число делят на число малых квадратов ($N/80$). Определяется число сперматозоидов в 1 кубическом миллиметре. Это выполняется так:

- в 1 кубическом миллиметре объема камеры содержится в 4000 раз больше сперматозоидов, чем в одном малом квадрате.

Формула подсчета числа клеток в 1 кубическом миллиметре следующая:

$$C = N * 4000/80 = N * 50 \text{ (сперматозоидов / кубический миллиметр).}$$

Поскольку 1 мл содержит 1000 кубических миллиметра, соответственно количество сперматозоидов в 1 мл определяется по формуле:

$$C (1 \text{ мл}) = (N * 50) * 10^3 \text{ (сперматозоидов / мл).}$$

В конце учитывается степень разведения эякулята:

$$C (\text{общее}) = N * 50000 * \text{степень разведения эякулята.}$$

При проведении подсчетов сперматозоидов в десяти или двадцати пяти больших квадратах следует помнить, что количество малых квадратов будет равно $16 * 10$ или $16 * 25$. И тогда в формулы подсчета вносятся значения 160 или 400.

Для того чтобы определить концентрацию сперматозоидов во всем эякуляте, необходимо умножить количество клеток в 1 мл эякулята на весь его объем. Для контроля необходимо провести второй подсчет из двух разных порций спермы. Если разница числа сперматозоидов составляет более 5%, то такой результат считают недостоверным и проводят исследование заново.

Нормы концентрации сперматозоидов

Нормы концентрации сперматозоидов рекомендованы ВОЗ в 1992 году и являются общепризнанными во всем мире.

Нижняя граница числа сперматозоидов 1 мл эякулята должна составлять 20 миллионов. Неоднократно наблюдали наступление беременности в тех случаях, если эта цифра была равна 10 – 12 миллионов.

Снижение числа сперматозоидов (менее 20 миллионов в 1 мл спермы) носит название олигозооспермия. Если в 1 мл эякулята содержится от 10 до 20 миллионов сперматозоидов, то такая олигозооспермия считается 1 степени. Если концентрация сперматозоидов составляет менее 10 миллионов в 1 мл, то это олигозооспермия 2 степени.

Если в эякуляте вообще отсутствуют сперматозоиды, то данное состояние называется азооспермией. При наличии единичных сперматозоидов, определенных после центрифугирования эякулята присваивается термин – криптоспермия.

Если в 1 мл эякулята число сперматозоидов превышает цифру 150 миллионов, то тогда данное состояние называется гиперспермией. По некоторым данным эта цифра равна 120 миллионам.

Оценка подвижности сперматозоидов

Оценка подвижности сперматозоидов выполняется путем микроскопии препарата спермы на обычном предметном стекле и камере Горяева. Опытный врач-лаборант начинает исследования с микроскопии нативного препарата на предметном стекле. Для получения точных значений подсчет проводится в счетной камере. Вначале просматриваются пять больших квадратов, которые расположены по диагонали. Если концентрация сперматозоидов мала (сумма клеток в пяти квадратах менее 150), то осмотру подлежит большее число квадратов. Также возможно использовать меньшую степень разведения эякулята.

Согласно критериям ВОЗ различают следующие варианты подвижности сперматозоидов:

1. а – сперматозоиды с быстрым поступательным движением (скорость движения таких сперматозоидов составляет более чем пять длин головок или половины хвоста за 1 секунду, при $+37^{\circ}\text{C}$). Стоит сказать, что определение этого параметра достаточно субъективно и в первую очередь зависит от опыта врача, проводившего исследование.

2. б – сперматозоиды с медленным поступательным движением (скорость движения таких сперматозоидов составляет менее чем пять длин головок или половины хвоста за 1 секунду, при $+37^{\circ}\text{C}$).

3. c – сперматозоиды с непоступательным движением (или же крайне медленным поступательным движением по прямой). Сюда же относят сперматозоиды, имеющие движение по кругу, даже если эта скорость велика.

4. d – неподвижные сперматозоиды.

Техника исследования следующая:

- вначале считаются сперматозоиды с подвижностью типов a и b. Это исследование рекомендуется выполнять в двух оптических плоскостях – верхней и нижней.

- Затем определяется число сперматозоидов с подвижностью типа c и d.

Значениями являются%. Формулы получения значений следующие:

- $a = a * 100 / (a + b + c + d),$
- $b = b * 100 / (a + b + c + d),$
- $c = c * 100 / (a + b + c + d),$
- $d = d * 100 / (a + b + c + d).$

Полученные значения округляют.

Еще одним важным критерием является определение длительности сохранения подвижности. При этом контейнер с образцом спермы выдерживается в термостате при стандартной $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 2-х часов. После чего проводятся повторное изучение подвижности сперматозоидов. За это время ухудшение показателей подвижности в норме составляет не более 20%.

Оценка достоверности исследования заключается в повторном исследовании. Для 50 исследуемых сперматозоидов допускается отклонение до 5 клеток в двух образцах спермы. Для 100 сперматозоидов эта цифра составляет менее 7 и для 250 – не более 9.

Нормы подвижности сперматозоидов

Чем больше число сперматозоидов с активной прогрессирующей подвижностью, тем выше фертильность спермы. В настоящее время в качестве норм подвижности рекомендуется использовать значения ВОЗ:

- Количество прогрессивно подвижных сперматозоидов (a + b) должно составлять не менее 50%. Число активно подвижных сперматозоидов (a) в норме считают не менее 25%.
- Неподвижных сперматозоидов (d) должно быть менее 50% и
- сперматозоидов с отсутствием поступательного движения (c) не более 2%.

Однако значения физиологической нормы могут быть весьма переменны, и наступление беременности происходит и при значительно худших показателях подвижности сперматозоидов, чем нормы ВОЗ.

Причины нарушения подвижности сперматозоидов

Снижение числа подвижных сперматозоидов называется астенозооспермией. Существует множество классификаций степени астенозооспермии:

- Если суммарный процент прогрессивно-подвижных сперматозоидов (a + b) составляет менее 50%, то такую астенозооспермию считают слабовыраженной.
- Если это значение меньше 40%, то говорят об умеренной астенозооспермии.
- И если имеется лишь 30% подвижных сперматозоидов, то тогда говорят о выраженной астенозооспермии.

Причин, которые в той или иной степени действуют на показатели подвижности, множество. Это могут быть как экзогенные, так и эндогенные факторы. Из экзогенных стоит выделить следующие:

- неблагоприятные факторы внешней среды,
- различные токсические влияния,

- колебания климатических показателей,
- злоупотребление алкоголем,
- курение,
- действие электромагнитного излучения,
- неблагоприятные условия работы.

Из эндогенных факторов в первую очередь стоит отметить различные аномалии строения и функционирования жгутикового аппарата сперматозоидов. Среди них известны генетические нарушения, которые изменяют нормальное строение аксонемы и ферментопатии, что приводит к нарушениям энергетических процессов, происходящих во время движений жгутиков. Часто это клеточные нарушения, например, патология митохондрий.

Кроме того, известно, что хронические воспалительные процессы придаточных половых желез (вызванные как специфической, так и неспецифической урогенитальной инфекцией) оказывают существенное отрицательное влияние на подвижность сперматозоидов. Это обусловлено токсическим влиянием продуктов воспаления, замещением соединительной тканью функционирующей части желез, а также уменьшением секреции в придатке яичка так называемых андроген-зависимых факторов, необходимых для обеспечения механизмов подвижности сперматозоидов. Также не исключен такой фактор, как аутоиммунный процесс, приводящий к нарастанию титра антиспермальных антител.

Оценка жизнеспособности сперматозоидов

Оценка жизнеспособности сперматозоидов проводится следующим образом: после разжижения сперма перемешивается пипеткой, далее на предметное стекло помещается капля неразведенного эякулята. На препарат наносится 1% водный раствор эозина.

Лучшим методом окраски считается окраска по Блуму. На предметное стекло рядом с каплей спермы помещают вдвое большую каплю 5% раствора эозина и каплю 10% водного раствора нигрозина, вдвое большую, чем капля

эозина. Сначала эякулят смешивают с каплей эозина, выжидают несколько секунд. Далее препарат смешивают с каплей нигрозина и снова выжидают. После чего делается мазок, аналогичный мазку крови. После высушивания приступают к микроскопии.

Препарат накрывается обычным покровным стеклом и через 2 минуты микроскопируется при увеличении 400х (объектив 40х, окуляр 10х). Конденсор микроскопа вначале опускается. Поскольку живые сперматозоиды не окрашиваются, а мертвые окрашиваются в розовый цвет, то достаточно просто их отличить друг от друга. Подсчитывается общее число сперматозоидов в поле зрения (желательно не менее 500). Далее конденсор поднимается и ведется подсчет мертвых сперматозоидов. Процентное содержание мертвых сперматозоидов определяется по формуле:

$$\text{Смертв.} = \text{С розовые} / \text{С общие} * 100\%.$$

В норме число живых сперматозоидов должно быть более 75%, однако неоднократно наблюдается наступление беременности и при меньших значениях. Повышение числа мертвых сперматозоидов свыше 25% носит название – некрозооспермия. Причины появления мертвых сперматозоидов различны и до конца не выяснены. Возможно, что это связано с патологией придатка яичка.

Иногда используется индекс нормальных подвижных сперматозоидов (ИНПС) определяется по формуле:

$$\text{ИНПС} = V * C * A * B / 10^6,$$

где V – это объем эякулята,

C – концентрация сперматозоидов,

A – процент сперматозоидов с прогрессивной подвижностью (a +b) и

B – процент морфологически нормальных сперматозоидов.

Если значения индекс нормальных подвижных сперматозоидов больше или равен $6 \cdot 10^4$, то это говорит о нормальной фертильности.

Оценка морфологии сперматозоидов

Оценка морфологии сперматозоидов (сперматограмма) проводится на неокрашенных препаратах, после обездвиживания в счетной камере. Морфологическая структура сперматозоидов является важным критерием диагностического звена, поскольку наряду с подвижностью этот параметр определяет фертильность спермы. Исследование желательно проводить при помощи фазово-контрастного микроскопа. Анализируется тот же препарат, что и для оценки подвижности клеток.

Проводится подсчет общего числа сперматозоидов в 5 больших квадратах камеры. При этом вначале можно определить число сперматозоидов с ненарушенной подвижностью и нормальным морфологическим строением. Затем изучается процент этих сперматозоидов от общего числа. Также для исследования готовится окрашенный препарат (мазок). Для этого используют предметные стекла, которые обезжириваются путем обработки 70° спиртом. На высушенное стекло наносится капля эякулята после полного разжижения. Капля разносится по поверхности стекла с помощью другого, краем, под углом в 45° . Необходимо этот процесс осуществлять деликатно, что бы не допустить раздавливания препарата. Распределение материала на стекле происходит за счет капиллярных сил.

Микроскопия вначале проводится при малом увеличении. В норме в поле зрения микроскопа должно быть не менее 30 сперматозоидов, равномерно распределенных по стеклу. Окраска препарата выполняется гематоксилин-эозином. Также используется метод окраски по Папаниколау, Шору и Май-Грюнвальду-Гимзе. Исследование наиболее информативно при окраске по Папаниколау.

Мазки микроскопируют при большом увеличении 900х (иммерсионный объектив 90х, окуляр 10х). Процент морфологически нормальных сперматозоидов определяется по формуле:

$$N/C * 100\%,$$

где С это число всех подсчитанных сперматозоидов,

N – число сперматозоидов с нормальной морфологией.

Общее число аномальных сперматозоидов вычисляется следующим образом:

$$C - N.$$

Эта цифра принимается за 100% для подсчета в процентном соотношении сперматозоидов с различной формой аномалии.

Например, для подсчета сперматозоидов с аномалией головки в процентах используется формула:

$$G/C - N * 100\%,$$

где G – это число сперматозоидов с атипией головки,

С – это число всех подсчитанных сперматозоидов,

N – число сперматозоидов с нормальной морфологией.

Точно таким же образом идет подсчет числа сперматозоидов с патологией шейки и жгутика.

Затем определяется индекс тератозооспермии (количество дефектов, разделенное на общее число аномальных сперматозоидов).

Варианты морфологии сперматозоидов

Морфологически нормальными сперматозоидами считают такие сперматозоиды, которые имеют овальную головку, хорошо различимую акросому и жгутик. Головка может быть заострена.

В мире общепринятым определением нормального сперматозоида является правило Kruger, которое гласит: «нормальный сперматозоид – это такой, который обнаруживается в верхнем отделе цервикального канала женщины через 8 часов после полового акта». Данное утверждение основано на том, что при этой локализации сперматозоида в половых путях женщины уже произошел естественный отбор нормальных форм сперматозоидов из всего пула.

Во время проведения исследования выделяют так называемые патологические формы сперматозоидов, которые могут быть представлены следующими вариантами:

1. С атипичным строением головки.

В свою очередь различают аномалии размеров головки – макроцефалия (большая головка) и микроцефалия (маленькая головка). Могут быть варианты аномалий формы головки (каплевидная, круглая, веретенообразная, грушевидная, аморфная, резко-заостренная). Здесь же могут встречаться сперматозоиды с неправильным строением акросомы (слишком маленькая акросома, занимающая менее 40% площади головки; несимметричная акросома; вакуолизированная акросома). Головка сперматозоида может быть резко вакуолизирована, что также считается аномалией. Нередки сперматозоиды с двумя (и более) головками, а также сперматозоиды, имеющие множество ядер.

2. С атипичной шейкой.

Среди них различают сперматозоиды с утолщенной шейкой. Также аномальными считаются сперматозоиды, у которых угол между головкой и жгутиком менее 180° .

3. Имеющие цитоплазматические капли в области шейки или головки (более половины головки).

4. С атипичным строением жгутика.

Среди них выделяют короткий жгутик. Также могут быть сперматозоиды с изломанной формой жгутика, неравномерной толщины, закрученными жгутиками.

5. Имеющие более одного дефекта (сочетают в себе несколько аномалий одновременно).

По критериям ВОЗ число морфологически нормальных сперматозоидов не должно быть менее 30%. Повышение числа патологических форм носит название тератозооспермия. Абсолютно точные причины тератозооспермии неясны. Возможно, что это связано с наличием вирусных инфекций, ферментопатий, хромосомных нарушений.

Исследование «круглых» клеток

Под «круглыми» клетками понимают все клеточные структуры эякулята, кроме сперматозоидов. К ним относятся:

1. Лейкоциты.
2. Макрофаги.
3. Незрелые половые клетки.
4. Эпителиальные клетки.
5. Дегенеративные клеточные формы.
6. Эритроциты (выявляются только при патологиях).

Это исследование выполняется путем микроскопии окрашенных препаратов или же нативных препаратов в счетной камере. Для окраски рекомендуется использовать метод Май-Грюнвальда-Гимзе.

Лейкоциты

При микроскопии эякулята определяют и подсчитывают клетки — лейкоциты. Исследование выполняется при микроскопии нативных и

окрашенных препаратов. При этом нейтрофильные лейкоциты выглядят с несколько неровным выраженным контуром. Иногда встречаются комплексы агрегатов лейкоцитов – скопления клеток от нескольких штук до нескольких десятков. Их определение говорит о наличии активного воспалительного процесса придаточных половых желез.

Абсолютное значение рекомендуется подсчитать в камере Горяева (а не в полях зрения). Для этого идет подсчет общего числа нейтрофильных лейкоцитов в пяти больших квадратах. Общая концентрация определяется по следующей формуле:

$$C = L * 50\,000,$$

где С это концентрация нейтрофилов в 1 мл экулята,

L – число нейтрофилов в 5 больших квадратах.

Клиническое значение лейкоспермии

В норме в эякуляте должно быть не более 1000000 лейкоцитов в 1 мл. Повышение этого числа носит название лейкоспермия. Лейкоспермия является признаком воспалительных процессов, которые могут возникать на любом участке, начиная от места созревания сперматозоидов до всех отделов семявыносящих путей и придаточных половых желез.

Чаще всего лейкоспермия является признаком наличия бактериальных урогенитальных инфекций. Поэтому в таких случаях показано проведение всестороннего бактериологического исследования эякулята, секрета простаты, уретры, мочи. Для этих целей проводят культуральные исследования (бактериологические посевы) и ПЦР-диагностику (в различных модификациях, таких как РНК-NASBA-тест).

В результате воспаления происходит образование активных кислородных радикалов, которые оказывают неблагоприятное влияние на клеточные мембраны сперматозоидов. Также наблюдается снижение их подвижности.

Если при спермограмме была обнаружена лейкоспермия, то рекомендуется провести и вирусологическое исследование, включающее в себя ПЦР- и ИФА-диагностику.

Клиническое значение определения незрелых половых клеток

В норме в эякуляте должно быть не более 4% незрелых половых клеток, причем большую часть занимают сперматиды. Это значение ведется от общего числа клеток эякулята. Увеличение числа незрелых половых клеток говорит о том, что происходит блокирование процессов мейоза. Также это может указывать на нарушение спермиогенеза. Причины, которые приводят к этим нарушениям, многогранны и могут быть обусловлены генетикой, мутациями, токсическими влияниями, неблагоприятными экзогенными факторами.

Для более точной оценки процесса сперматогенеза, кроме спермограммы, применяется гистологическое исследование ткани яичка, полученное путем биопсии.

Исследование эритроцитов и других клеточных элементов в эякуляте

При обнаружении эритроцитов в эякуляте при спермограмме следует заподозрить патологический процесс.

Появление эритроцитов в сперме носит название гемоспермия. Она может быть истинной и ложной. При ложной примесь крови появляется в сперме из-за микротравм слизистой уретры или, например, после массажа простаты. При микроскопии они видны в виде нитей или скоплений.

Истинная гемоспермия характеризуется тем, что эритроциты попадают в эякулят в результате заболевания (чаще в зоне семенного бугорка). Это может быть симптомом воспалительных заболеваний предстательной железы, семенного бугорка, семенных пузырьков, а также опухолей этой же локализации. В этих случаях сперма равномерно окрашена кровью. При микроскопии эритроциты расположены диффузно. Однако стоит заметить,

что гемоспермия может быть и у здоровых людей после длительного отсутствия половых контактов.

В норме в эякуляте может встречаться небольшое число эпителиальных клеток, которые являются слущенными клетками почек, мочевого пузыря, простаты, уретры. Для их подсчета используются нативные препараты. Большого клинического значения эти клетки не имеют.

Также в эякуляте могут быть обнаружены клетки макрофаги, которые поглощают и фагоцитируют сперматозоиды. Определение этих клеток также не имеет большого клинического значения.

Достаточно редко выявляются гигантские клетки, которые могут быть истинными и ложными (псевдогигантские клетки). Истинные характеризуют воспалительный процесс. Псевдогигантские клетки представляют собой неразделившиеся сперматозоиды.

Окраска по методу Май-Грюнвальду-Гимзе

Технология приготовления препарата, окрашенного данным методом следующая:

1. Полученный мазок на предметном стекле фиксируется метанолом, после чего на него наносится раствор Май-Грюнвальда в течение 3-х минут.
2. Затем добавляется дистиллированная вода (на 1 минуту).
3. Полученный раствор удаляется без использования проточной воды (путем сливания раствора с поверхности стекла).
4. Далее на мазок наносится раствор Гимзе (0,3 мл краски Гимзе, разведенной в 10 мл дистиллированной воды).
5. Препарат промывается в дистиллированной воде.
6. Высушивание при комнатной температуре.

При данной окраске хорошо дифференцируются «круглые» клетки эякулята. Ядра окрашиваются в красно-фиолетовый цвет, цитоплазма – в светло-голубой. Гранулы нейтрофильных лейкоцитов окрашиваются в

коричневый цвет, гранулы базофилов – в ярко-синий или фиолетовый. Эритроциты имеют розоватую окраску. У сперматозоидов имеется следующая окраска: акросома – розовая, головка – интенсивно-голубая и жгутик – бледно-голубой.

Агглютинация сперматозоидов

Под агглютинацией сперматозоидов понимают такое явление, как склеивание сперматозоидов между собой. Данный процесс хорошо визуализируется при исследовании нативных и окрашенных препаратов.

Выделяют истинную и ложную (неспецифическую) агглютинацию. Под вторым типом понимают слипание сперматозоидов с эпителиальными клетками, макрофагами, с фрагментами разрушенных клеток или комками слизи.

При истинной же агглютинации происходит прилипание сперматозоидов друг к другу, причем это слипание может быть разным – некоторые сперматозоиды соединяются головками, некоторые хвостами, а некоторые в виде головка-хвост. Причины процесса точно не ясны. Однако, если имеется большое значение, то это может говорить о наличии иммунологических причин бесплодия. Также это встречается при аутоиммунных процессах и хронических воспалениях. Иногда умеренное слипание наблюдается в сперме здоровых, фертильных мужчин.

Существуют некие условные критерии для оценки агглютинации сперматозоидов. Результат выдается в количестве плюсов «+»:

1. «+» – небольшие единичные группы слипшихся сперматозоидов (не более 5 в группе).
2. «++» – группы агглютинирующихся сперматозоидов составляют значение 10 – 20 клеток. Группы единичны.
3. «+++» – определяются более 5 групп, склеенных сперматозоидов, причем в группе их число достаточно большое (несколько десятков).
4. «++++» – в этом случае имеются множество полей зрения, занятых слипшимися сперматозоидами.

Оценка неклоточных структур

При микроскопии эякулята нередко определяются неклоточные структуры. К ним относятся:

- лецитиновые зерна,
- кристаллы Беттхера,
- амилоидные тельца,
- слизь.

Лецитиновые зерна представляют собой мелкие образования округлой формы. Имеют белесоватый цвет. В норме их достаточно много. Уменьшение числа лецитиновых зерен свидетельствует о наличии хронического воспалительного процесса в предстательной железе.

Кристаллы Беттхера – бесцветные структуры, имеющие удлиненную форму. При окраске раствором Люголя окрашиваются в синий цвет. По своей сути это продукт кристаллизации секрета предстательной железы. Большое их количество также говорит о наличии хронического простатита.

Амилоидные тельца являются аналогами конкрементов округлой формы. Центр образований может быть мелкозернистым, желтого цвета. Эти образования образуются в случаях длительного отсутствия семяизвержений. Иногда могут быть и при простатите.

В норме в эякуляте отсутствует слизь. При наличии большого числа слизи стоит заподозрить хронический воспалительный процесс в семенных пузырьках и в предстательной железе. Возможно, что наличие слизи может приводить к нарушениям подвижности сперматозоидов из-за того, что вязкая слизь окружает сперматозоиды и затрудняет их движение.

Показатель плодовитости Фарриса

Показатель плодовитости Фарриса определяется по формуле:

$$I = V * N * M/100,$$

где V – это объем эякулята, мл; N – число сперматозоидов в 1 мл;

М – процент подвижных сперматозоидов.

В норме показатель должен составлять не менее 200.

Заключение

Все данные спермограммы необходимо индивидуально интерпретировать, т. к. спермограмма не только «зеркало» репродуктивной функции, но и «зеркало» образа жизни.

Исследование эякулята – это одно из самых субъективных лабораторных исследований, а его результат – спермограмма во многом зависит от уровня квалификации спермиолога.

В некоторых организациях для исследования эякулята широко применяют специальные приборы – спермоанализаторы. Но спермограмма, выполненная на аппарате обязательно должна дублироваться исследованием спермиолога, так как аппараты могут «путать» некоторые морфологические структуры между собой. Например, головки сперматозоидов и мелкие лейкоциты.

В заключение следует отметить, что ни один из нормативных показателей эякулята не указывает минимальных значений, при которых возможно наступление беременности.

Список использованных источников

1. Ромашкина К.И. Мужское здоровье и долголетие. М. – 2008 г.
2. Шафеев Р.А. Что такое спермограмма, анализ спермограммы. М. – 2005 г.
3. Печурин И.Н., Еркович А.А. Мужское бесплодие. М. – 2007 г.
4. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. М.: Медицина, 2006. – 544 с.