

Л.В.Осадчук¹, М.А.Клещев¹, Н.Н.Кузнецова², А.В.Осадчук¹

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕРМАТОЗОИДОВ У МОЛОДЫХ МУЖЧИН: СВЯЗЬ С ПОДВИЖНОСТЬЮ

¹ Отдел молекулярной генетики человека (зав. — академик РАН проф. М.И.Воевода), ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», г. Новосибирск; ² Медицинский центр «Эргин» (зав. — канд. мед. наук Н.Н.Кузнецова), г. Кемерово

Мужская фертильность связана с показателями сперматогенеза, в частности, с морфологическими характеристиками сперматозоидов. Цель настоящего исследования состояла в анализе морфологических характеристик сперматозоидов в связи с их подвижностью, а также в сравнении частоты встречаемости морфологических дефектов сперматозоидов у молодых мужчин с нормальным и ослабленным сперматогенезом. У мужчин ($n = 111$, возраст $21,0 \pm 0,2$ год) анализировали морфологические характеристики сперматозоидов по «строгим критериям» нормы, принятым ВОЗ (2010). Среди морфологических дефектов сперматозоидов преобладали дефекты головки (аморфная и вакуолизирующая головка), аномалии акросомы и средней их части. В группе у мужчин с пониженной подвижностью сперматозоидов (астенозооспермия) доля сперматозоидов с аномалиями акросомы оказалась выше, чем в норме. В группе у мужчин с пониженной концентрацией, долей подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов (олигоастенотератозооспермия) наблюдалась повышенная доля сперматозоидов с аномальной акросомой, вакуолизованными и склоненными головками, утолщением средней части сперматозоида и цитоплазматической каплей, закрученным и коротким хвостом по сравнению с нормой. В группе у мужчин с нормальными показателями сперматогенеза выявлена отрицательная связь между частотой встречаемости аномалий акросомы и долей подвижных сперматозоидов, в то время как в группе у мужчин с астенозооспермией связи между частотой встречаемости различных типов морфологических дефектов и долей подвижных сперматозоидов установлено не было. В группе у мужчин с олигоастенотератозооспермией была выявлена отрицательная связь между долей подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости склоненных головок, закрученных и коротких хвостов. Полученные данные указывают на связь между морфологическими характеристиками и подвижностью сперматозоидов. Повышенная частота морфологических аномалий акросомы может служить морфологическим маркером ослабленного сперматогенеза.

Ключевые слова: сперматозоиды, морфологические характеристики, подвижность, астенозооспермия, олигоастенотератозооспермия

Важную роль в оценке мужского репродуктивного потенциала играют морфологические характеристики сперматозоидов [1, 7, 8, 17, 18]. Сперматозоиды человека, в отличие от мужских гамет большинства видов животных, характеризуются большим морфологическим разнообразием и значительным числом атипичных форм. Например, у такого известного модельного объекта для биомедицинских исследований, как лабораторная мышь, доля атипичных сперматозоидов колеблется от 5 до 20% [2], у человека в эякуляте их более 80% [14, 17]. Морфологические аномалии зрелых сперматозоидов являются результатом сложного процесса их преобразований в ходе сперматогенеза. Доля сперматозоидов с морфологическими дефектами и специфическими структурными аномалиями может служить индикатором этого процесса и являться значимым предиктором успешного оплодотворения как *in vivo*,

так и *in vitro* [4, 5, 7, 19]. Морфологические характеристики сперматозоидов определяют результаты применения вспомогательных репродуктивных технологий, основанных на IVF (*in vitro* фертилизация). На успешность применения метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в яйцеклетку (ICSI) практически не влияют изменения — подвижность и концентрация сперматозоидов в эякуляте, но имеют значение морфологические характеристики сперматозоидов и их отклонения от нормы [7]. Морфологические изменения сперматозоидов часто связаны с нарушением конденсации хроматина, акросомной реакции и фрагментацией ДНК [4, 5, 10, 11, 21, 22]. Высокая доля морфологически аномальных сперматозоидов и особенно дефекты акросомы влияют на выживаемость эмбрионов и благополучный исход беременности [7, 17, 18].

Сведения об авторах:

Осадчук Людмила Владимировна (e-mail: losadch@bionet.nsc.ru), Клещев Максим Александрович (e-mail: max82cll@bionet.nsc.ru), Осадчук Александр Владимирович (e-mail: osadchuk@bionet.nsc.ru), отдел молекулярной генетики человека, Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

Кузнецова Наталья Николаевна (e-mail: erginmc@gmail.com), Медицинский центр «Эргин», 650000, г. Кемерово, ул. Н. Островского, 12

Формирование дефектов сперматозоидов интенсивно изучается, в том числе их связи с функцией. Морфологическая модель аномального сперматогенеза включает две категории: первая — это генетически детерминированные морфологические дефекты, вторая — вызванная факторами среды [17]. У некоторых мужчин среди морфологических дефектов сперматозоидов может преобладать какой-то один специфический тип с доказанной генетической детерминацией, например, отсутствие акросомы, синдром укороченного хвоста или макрозооспермия [7, 11, 12, 18]. Один из редких вариантов недостаточного развития акросомы, получивший название глобозоспермия (идентифицируется по укороченной округлой головке сперматозоида), ассоциирован с нарушением расположения хроматина и значительным повреждением целостности ДНК и может сопровождаться снижением фертильности вплоть до бесплодия [7, 9, 12]. Однако такие мутации, приводящие к мономорфной тератозоспермии, встречаются в человеческой популяции редко и составляют не более 1% у бесплодных мужчин [9]. Чаще всего нарушение процесса сперматогенеза, приводящее к тератозоспермии, обусловлено воздействием факторов среды, в таком случае в эякуляте присутствуют сперматозоиды с морфологическими дефектами в различных соотношениях. При некоторых патологических состояниях или при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды встречаемость отдельных типов морфологических аномалий сперматозоидов может меняться. Например, повышенное количество удлинённых головок сперматозоидов наблюдается у мужчин, страдающих урогенитальными инфекциями [19] или варикоцеле [18, 23]. Чрезмерное употребление алкоголя, курение, ожирение и даже психологический стресс увеличивают количество морфологически аномальных сперматозоидов [6, 7, 10, 13, 16, 20]. Установлено влияние эколого-географических факторов на морфологические характеристики сперматозоидов [6, 14]. В совокупности данные свидетельствуют о том, что сперматозоиды чувствительны к воздействию различных факторов среды и оценка морфологических изменений сперматозоидов может являться надёжным маркером потенциальной мужской фертильности, отражая в то же время влияние тератогенной компоненты окружающей среды.

У человека данные о количестве нормальных сперматозоидов и с аномальными формами сильно различаются, поскольку существует проблема определения признаков морфологически «нормального» сперматозоида [7, 8, 18, 24].

Исследование сперматозоидов, взятых с внутреннего зева матки и с блестящей оболочки яйцеклетки, т. е. тех сперматозоидов, которые участвуют в оплодотворении, показало, что они морфологически более однородны, чем в эякуляте, и имеют биологические особенности, помогающие им преодолеть цервикальную слизь, являющуюся для них селективным барьером. Внешний вид таких сперматозоидов был принят за стандарт нормы, что помогло сформулировать так называемые «строгие тайгенбергские критерии», согласно которым сперматозоид считается нормальным, если его головка, средняя часть и хвост соответствуют по форме и размеру сперматозоидам, прошедшим через цервикальный барьер [17, 18, 24]. В настоящее время в качестве стандартной методологии принято руководство ВОЗ 2010 г., предлагающее унифицированную классификацию морфологических признаков «нормального» и аномального сперматозоида, основанную на подсчете сперматозоидов с отчетливо выраженными особенностями формы и размеров головки, средней части и хвоста [8, 24]. Применение этой классификации усилило прогностическое значение морфологического статуса сперматозоидов при использовании вспомогательных репродуктивных технологий искусственного оплодотворения [7].

Цель настоящего исследования состоит в анализе морфологических характеристик сперматозоидов и поиске связи между ними и их подвижностью, а также в сравнении частоты встречаемости различных морфологических дефектов сперматозоидов у мужчин с нормальным и ослабленным сперматогенезом.

Материал и методы. Исследование проведено в г. Кемерово в конце марта—начале апреля 2013 г. на базе медицинского центра «Эргин». В нем участвовали мужчины-добровольцы, студенты высших учебных заведений, желающие проверить свое репродуктивное здоровье. К исследованию допускались мужчины в возрасте 18–25 лет при условии отсутствия на момент исследования любых заболеваний в стадии обострения, воздержания от половых контактов и употребления алкоголя в течение 2–3 сут до обследования. Каждый мужчина был ознакомлен с методами и целями исследования, после чего дал письменное согласие на обследование. Все испытуемые заполняли стандартную анкету, которая содержала вопросы о возрасте, национальности, употреблении табака и алкоголя, образовании и профессии, перенесенных заболеваниях. Всего обследовано 111 мужчин, по национальному составу преобладали люди славянской этнической принадлежности (81,8%), средний возраст составил $21,5 \pm 0,2$. Никто из испытуемых не имел детей.

Физикальный осмотр испытуемых проводил врач андролог, в ходе осмотра выявляли симптомы заболеваний репродуктивной сферы, измеряли рост и определяли массу тела. Сбор и анализ эякулята проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ [24]. Концентрацию сперматозоидов в эякуляте определяли с помощью камеры Горяева после окраски

аликвоты эякулята трипановым синим. Суммарную долю подвижных сперматозоидов категории А (с прогрессивным движением более 25 мкм/с) и В (с прогрессивным движением 2–25 мкм/с) оценивали с использованием анализатора основных показателей фертильности спермы SFA-500-2 (Биола, Россия). Исследование каждой пробы проводили трижды. Для подсчета сперматозоидов с морфологическими аномалиями мазки нативного эякулята высушивали, фиксировали в метаноле и окрашивали с использованием коммерческого набора Diff-Quick (Абрис+, Россия), который представляет собой патентованную товарную марку окрашивания по Романовскому (смесь метиленового синего и эозина).

Анализ морфологических характеристик сперматозоидов проводили по «строгим критериям» нормы [17, 19, 24]. Анализировали первые 200 сперматозоидов под световым микроскопом Axio Skop.A1 (Carl Zeiss, Германия) при ув. 1000. Размеры сперматозоида оценивали с помощью окулярного микрометра. У сперматозоида выделяли 3 морфологические части: головку, среднюю часть и хвост [1, 24]. К дефектам головки относили большую, маленькую, коническую, грушевидную, круглую, аморфную, вакуолизованную, двойную, аномальную акросому или ее отсутствие (и любую их комбинацию), к дефектам средней части — склоненную головку, асимметричное прикрепление головки, утолщенную, тонкую среднюю часть, наличие цитоплазматической капли (и любую их комбинацию). Дефектами хвоста считали короткий, изогнутый, закрученный, двойной (и любую их комбинацию). Длина головки в норме находилась в пределах 4,0–5,5 мкм, а ширина — 2,5–3,5 мкм, средняя часть — менее 1 мкм в ширину, хвост — 45 мкм в длину. По местоположению дефекта каждый сперматозоид был отнесен к одной из 7 групп: дефекты головки, средней части, хвоста, сочетанные дефекты головки и средней части, сочетанные дефекты средней части и хвоста, сочетанные дефекты головки и хвоста, сочетанные дефекты головки, средней части и хвоста (тройные). Определяли частоту встречаемости (%) сперматозоидов с каждым видом морфологического дефекта. Редко встречающиеся морфологические аномалии сперматозоидов, такие как большая, маленькая, двойная, иглоподобная головка или двойной хвост, рассматривали как минорные и не учитывали. Рассчитывали индекс тератозооспермии (TZI), который представляет собой отношение числа выявленных морфологических дефектов к числу дефектных сперматозоидов, и индекс дефектности сперматозоидов (SDI) — отношение числа морфологических аномалий к числу просчитанных сперматозоидов.

Проводили однофакторный дисперсионный анализ полученных данных с использованием пакета компьютерных программ STATISTICA (версия 6.0). Для всех показателей определяли среднее значение и его стандартную ошибку. Проверку изучаемых параметров на нормальность распределения проводили по критерию Колмогорова—Смирнова. Все параметры, распределение которых не соответствовало нормальному, были подвергнуты преобразованию (десятичное логарифмирование, арксинус, возведение в квадрат). В рамках дисперсионного анализа для сравнения групп применяли тест Дункана. Для выявления взаимосвязи между показателями применяли корреляционный анализ по Пирсону. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял $P < 0,05$.

Результаты исследования. Согласно рекомендациям ВОЗ заключение о потенциальной фертильности мужчины делается преиму-

щественно по трем показателям: концентрации сперматозоидов в эякуляте, их подвижности и морфологическим характеристикам. Нарушение сперматогенеза характеризуется снижением концентрации сперматозоидов в эякуляте (менее 15,0 млн/мл), доли подвижных сперматозоидов (менее 40%) и доли сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками (менее 4,0%) (одного, попарно или сразу всех) (табл. 1). Мужчины славянской этнической принадлежности не отличались от мужчин других этнических групп по основным показателям сперматогенеза, и все группы были объединены.

Ретроспективно, на основании концентрации, подвижности и морфологических характеристик сперматозоидов были сформированы 3 группы мужчин. Первая группа (48,7% от числа обследованных) характеризовалась нормальными показателями концентрации, подвижности и строения сперматозоидов (нормоспермия), т. е. удовлетворяла референтным значениям, предложенным ВОЗ для нормы. Во второй и третьей группах наблюдались разной степени нарушения сперматогенеза. Вторая группа (20,7% от числа обследованных) характеризовалась только сниженной подвижностью сперматозоидов (изолированная астенозооспермия) — третья (17,1% от числа обследованных) имела сочетанное снижение всех трех основных показателей сперматогенеза (концентрации, подвижности и морфологических характеристик) относительно референтных значений ВОЗ для нормы. Остальные 13 мужчин распределились на мелкие группы с попарным снижением концентрации, подвижности и морфологических изменений сперматозоидов.

В группе со сниженной подвижностью сперматозоидов (астенозооспермия) наблюдалось уменьшение доли морфологически нормальных сперматозоидов, концентрации сперматозоидов и повышение индексов TZI и SDI по сравнению с нормой ($P < 0,05$). В группе с сильным нарушением сперматогенеза (олигоастенотератозооспермия), когда снижены все основные параметры сперматогенеза — концентрация, подвижность и морфологические характеристики сперматозоидов, — наблюдалось значимое ($P < 0,01$) по сравнению с нормой увеличение индексов TZI, SDI и уменьшение битестиккулярного объема.

Основной вклад в морфологические аномалии сперматозоидов делает аморфная головка, доля которой значимо не различается у обследованных с нормальным и ослабленным сперматогенезом (табл. 2). Группа мужчин со сниженной подвижностью сперматозоидов характеризовалась значимо повышенной частотой встречаемости

Таблица 1

Показатели антропометрии и характеристика эякулята у молодых мужчин с нормальным и ослабленным сперматогенезом

Исследованные показатели	Все обследованные (n = 111)	Группы обследованных		
		с нормоспермией (n = 54)	с астенозооспермией (n = 23)	с олигоастенотератозооспермией (n = 19)
Возраст, лет	21,0±0,2	21,1±0,3	21,7±0,6	20,4±0,4
Рост, см	179,0±0,7	180,7±0,8	178,0±1,5	177,4±1,3
Масса тела, кг	75,6±1,0	76,4±1,3	73,7±2,3	78±3
ИМТ, кг/м ²	23,6±0,3	23,4±0,4	23,3±0,6	24,8±0,9
БТО, см ³	39,7±0,5	41,0±0,7	40,0±1,0	36,4±1,2* [#]
Объем эякулята, мл	3,60±0,20	3,9±0,3	3,3±0,3	3,1±0,3
Концентрация сперматозоидов в эякуляте, млн/мл	51±4	76±5	41±4*	7,7±1,8* [#]
Доля подвижных сперматозоидов (А+В), %	42,2±2,7	66,0±2,1	28,5±1,3*	6,4±1,9* [#]
Доля сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками, %	6,52±0,29	8,4±0,3	6,49±0,25*	2,56±0,28* [#]
TZI	1,540±0,020	1,440±0,010	1,510±0,020*	1,77±0,04* [#]
SDI	1,440±0,020	1,320±0,020	1,410±0,020*	1,73±0,05* [#]

* Различия между показателями в группе с ослабленным сперматогенезом и нормой; [#] в группе с астенозооспермией и олигоастенотератозооспермией значимы при (p<0,05).

Примечание. TZI — индекс тератозооспермии; SDI — индекс дефектности сперматозоидов; БТО — битестикулярный объем; ИМТ — индекс массы тела.

сперматозоидов с аномалиями акросомы (P<0,01), незначимым повышением доли сперматозоидов со склоненной головкой и утолщенной средней частью, что выразилось в значимом увеличении сочетанных аномалий головки и средней части (P<0,01) по сравнению с нормой.

Более широкий диапазон морфологических дефектов наблюдался в группе обследованных с олигоастенотератозооспермией. В этой группе была значимо выше, чем в норме, частота встречаемости сперматозоидов с аномальной акросомой с вакуолизированными и склоненными головками, утолщением средней части, наличием цитоплазматической капли, закрученного или короткого хвоста (P<0,01). Эта группа отличалась от группы с астенозооспермией более высокой долей дефектов акросомы, склоненных и вакуолизированных головок, цитоплазматических капель, утолщенной средней части, закрученных и коротких хвостов (P<0,05), что сопровождалось значимым увеличением доли сочетанных аномалий головки и хвоста, а также тройных аномалий (P<0,05).

Корреляционный анализ показателей сперматогенеза у всех обследованных позволил установить значимую (P<0,01) положительную взаимосвязь между концентрацией и долей подвижных сперматозоидов и сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками (табл. 3).

Была обнаружена значимая (P<0,01) отрицательная взаимосвязь между концентрацией, долей подвижных сперматозоидов и сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками TZI и SDI (см. табл. 3).

Корреляционный анализ показателей сперматогенеза в группе обследованных с нормальными характеристиками сперматогенеза продемонстрировал значимую положительную взаимосвязь между концентрацией, долей подвижных сперматозоидов и сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками, однако абсолютные значения коэффициентов корреляции были ниже (P<0,01), чем у всех мужчин (см. табл. 3). В этой группе наблюдалась значимая (P<0,01) отрицательная взаимосвязь между долей подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов и TZI и SDI с более низкими абсолютными значениями коэффициентов корреляции, чем у обследованных (см. табл. 3).

В группе мужчин с пониженной подвижностью сперматозоидов (астенозооспермия) доля подвижных сперматозоидов была положительно взаимосвязана с их концентрацией (P<0,01), но не коррелировала с долей морфологически нормальных сперматозоидов (табл. 4). Доля морфологически нормальных сперматозоидов была значимо (P<0,01) отрицательно связана с SDI.

Таблица 2

**Частота встречаемости различных типов морфологических дефектов сперматозоидов
у молодых мужчин с нормальным и ослабленным сперматогенезом ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)**

Морфологический дефект	Все обследованные (n = 111)	Группы обследованных		
		с нормоспермией (n = 54)	с астенозооспермией (n = 23)	с олигоастенотерато- зооспермией (n = 19)
Аморфная головка	59,93±1,13	58,39±1,15	59,90±1,91	64,28±4,01
Грушевидная головка	5,14±0,68	4,59±0,69	4,77±1,08	7,15±2,59
Круглая головка	6,71±0,49	6,77±0,65	7,10±1,07	6,08±1,06
Коническая головка	6,74±0,59	6,92±0,78	6,77±1,24	6,19±1,39
Вакуолированная головка	13,83±0,72	11,94±0,75	14,94±1,35	17,87±2,19*
Аномалии акросомы (или ее отсутствие)	20,36±1,25	15,13±1,13	21,89±2,23*	33,38±3,08**
Склоненная головка	6,52±0,41	5,20±0,41	6,15±0,64	10,69±1,06**
Цитоплазматическая капля	7,21±0,38	6,38±0,38	7,26±0,77	9,52±1,11*
Асимметричное прикрепление шейки к головке	13,88±0,51	13,50±0,73	14,61±0,82	14,07±1,16
Утолщенная средняя часть	12,73±0,61	11,26±0,72	12,52±0,90	17,08±1,69**
Закрученный хвост	8,28±0,50	7,52±0,63	6,93±0,76	12,07±1,25**
Короткий хвост	7,39±0,63	4,78±0,41	6,38±0,61	16,03±1,81**
Место расположения дефекта:				
головка	43,45±1,01	46,96±1,09	44,06±1,51	32,75±2,41**
средняя часть	5,05±0,30	5,50±0,40	4,95±0,52	3,70±0,84*
хвост	2,19±0,17	2,54±0,26	1,96±0,23	1,46±0,34**
сочетанные аномалии головки и средней части	26,57±0,67	24,70±0,86	28,29±1,16*	29,80±1,63*
сочетанные аномалии головки и хвоста	9,05±0,49	7,65±0,51	8,59±0,72	13,56±1,40**
сочетанные аномалии средней части и хвоста	0,29±0,04	0,25±0,05	0,33±0,09	0,36±0,12
сочетанные аномалии головки, средней части и хвоста (тройные)	6,59±0,63	3,94±0,36	5,19±0,56	15,80±1,71**

* Достоверность различий между группами с ослабленным сперматогенезом и нормой; # между группой с астенозооспермией и олигоастенотератозооспермией (p<0,05).

Примечание. Доля морфологически дефектных сперматозоидов рассчитывалась от общего количества просчитанных сперматозоидов.

Таблица 3

**Коэффициенты корреляции между основными показателями сперматогенеза у всех обследованных мужчин
(верхняя правая часть) и у группы мужчин с нормальным сперматогенезом (нижняя левая часть)**

Исследованные показатели	КС, млн/мл	ПС, %	МС, %	TZI	SDI
КС, млн/мл		0,84*	0,68*	-0,56*	-0,61*
ПС, %	0,66*		0,70*	-0,65*	-0,69*
МС, %	0,32*	0,34*		-0,76*	-0,85*
TZI	-0,07	-0,27*	-0,54*		0,99*
SDI	-0,15	-0,32*	-0,73*	0,97*	

Здесь и в табл. 4: * коэффициенты корреляции значимы при (P<0,05).

Примечание. КС — концентрация сперматозоидов; ПС — доля подвижных сперматозоидов; МС — доля морфологически нормальных сперматозоидов; TZI, SDI — индексы тератозооспермии и дефектности сперматозоидов соответственно; для статистических расчетов использованы трансформированные данные.

Таблица 4

Коэффициенты корреляции между основными показателями сперматогенеза у мужчин с ослабленным сперматогенезом (астенозооспермия — верхняя правая часть, олигоастенотератозооспермия — нижняя левая часть)

Исследованные показатели	КС, млн/мл	ПС, %	МС, %	TZI	SDI
КС, млн/мл		0,47*	0,33	0,10	0,03
ПС, %	0,66*		0,10	-0,31	-0,31
МС, %	0,30	0,42		-0,32	-0,49*
TZI	-0,27	-0,58*	-0,57*		0,98*
SDI	-0,28	-0,59*	-0,64*	0,99*	

В группе мужчин с сочетанным снижением концентрации, подвижности и морфологических характеристик сперматозоидов (олигоастенотератозооспермия) только доля подвижных сперматозоидов и концентрация были положительно взаимосвязаны ($P < 0,01$), но они не коррелировали с долей морфологически нормальных сперматозоидов (см. табл. 4). Доля морфологически нормальных сперматозоидов была значимо отрицательно связана с TZI и SDI ($P < 0,01$).

Статистический анализ взаимосвязи между долей подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости различных морфологических дефектов сперматозоидов у всех обследованных мужчин позволил установить следующие значимые отрицательные коэффициенты корреляции между долей подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости: 1) дефектов акросомы ($r = -0,55$, $P < 0,01$); 2) вакуолизованных и склоненных головок ($r = -0,24$, $r = -0,50$ соответственно, $P < 0,01$); 3) цитоплазматических капель и утолщения средней части сперматозоида ($r = -0,26$, $r = -0,33$ соответственно, $P < 0,01$); 4) закрученного и короткого хвоста ($r = -0,30$, $r = -0,58$ соответственно, $P < 0,01$).

В группе обследованных с нормальными показателями сперматогенеза (нормоспермия) выявлена значимая отрицательная связь между долей подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости аномалий акросомы ($r = -0,30$, $P < 0,01$). В группе мужчин с пониженной подвижностью сперматозоидов (астенозооспермия) значимой корреляции доли подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости различных типов морфологических дефектов не установлено. В группе мужчин с пониженными концентрацией, подвижностью и морфологическими характеристиками сперматозоидов (олигоастенотератозооспермия) значимые отрицательные коэффициенты корреляции выявлены между долей подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости склоненных головок ($r = -0,62$, $P < 0,01$), закрученных и корот-

ких хвостов ($r = -0,56$, $r = -0,66$ соответственно, $P < 0,01$).

Обсуждение полученных данных. В настоящее время оценка морфологических параметров сперматозоидов признана в качестве клинично-диагностического инструмента потенциальной мужской фертильности. Анализ строения сперматозоидов по «строгим критериям» нормы может служить надежным индикатором функциональной активности сперматозоидов [4, 7, 8].

Основные показатели сперматогенеза — концентрация, подвижность и морфологические характеристики сперматозоидов — тесно взаимосвязаны [3, 7, 18, 21], что подтверждается и проведенным нами исследованием: у всех мужчин с нормальными показателями сперматогенеза наблюдалась взаимосвязь между концентрацией, долей морфологически нормальных и прогрессивно подвижных сперматозоидов, однако у мужчин с ослабленным сперматогенезом эти связи были не обнаружены. Эти факты свидетельствуют о том, что морфологическая характеристика сперматозоидов является независимым показателем сперматогенеза, который весьма чувствителен к изменению условий среды.

В нашей работе доля морфологически нормальных сперматозоидов у всех обследованных сибирских мужчин совпала с данными, полученными у доноров сперматозоидов в Кливленде (США) с применением «строгих критериев» анализа морфологических характеристик [5]. Эти же авторы установили, что увеличение морфологических аномалий сперматозоидов сопровождается избыточной продукцией активных радикалов кислорода, что повреждает сперматозоиды и может приводить к бесплодию. Другими исследователями [14], которые также использовали «строгие критерии» для анализа морфологических характеристик сперматозоидов у мужчин, проживающих в Норвегии и Дании, получены данные, близкие к результатам настоящей работы. Однако в Финляндии и Эстонии эти же исследователи обнаружили более высокую долю морфологиче-

ски нормальных сперматозоидов, что они объяснили генетическими различиями, действием разных факторов среды или их комбинацией.

В настоящей работе у обследованных молодых мужчин среди морфологических аномалий сперматозоидов преобладали аморфная головка, аномалии (или отсутствие) акросомы и в меньшей степени — средней и хвостовой части сперматозоида, причем с высокой долей сочетанных аномалий головки и средней части. Спектр и частота встречаемости морфологических дефектов сперматозоидов у молодых мужчин в настоящем исследовании (г. Кемерово) аналогичны полученным ранее данным при обследовании мужчин г. Новосибирска [3].

Нами были выделены группы мужчин с нормальным и ослабленным сперматогенезом и установлены существенные различия между ними. В группе мужчин с астенозооспермией доля нормальных сперматозоидов не была ниже референтных значений, принятых для нормы, но доля морфологических аномалий акросомы была увеличенной. В то же время в этой группе не установлено связи между долей подвижных сперматозоидов и частотой встречаемости различных типов их морфологических дефектов, включая акросому. Учитывая, что формирование акросомы проходит в процессе спермиогенеза, а приобретение сперматозоидами подвижности и способности осуществлять акросомную реакцию формируется в придатках яичек [1], снижение подвижности и неправильное развитие акросомы может отражать нарушение функции как тех, так и других при действии многих факторов, включая урогенитальные инфекции и индивидуальный образ жизни [6, 7]. Часто после лечения антибиотиками и антиоксидантами, нормализации индивидуального образа жизни морфологические характеристики сперматозоидов и их подвижность восстанавливаются [7].

Вторая группа мужчин с ослабленным сперматогенезом (олигоастенотератозооспермия) характеризовалась высоким уровнем дефектности сперматозоидов, включая увеличение доли вакуолизированной и склоненной головки, аномалий акросомы, цитоплазматических капель, утолщения средней части и аномалий хвоста, что сопровождалось увеличением доли сочетанных аномалий. Повышение доли дефектных сперматозоидов может являться сигналом развивающихся репродуктивных нарушений, поскольку повышенная доля сперматозоидов с множественными морфологическими дефектами отражает глубокие нарушения в функционировании яичек. Об этом свидетельствуют результаты электронно-

микроскопического изучения сперматозоидов у мужчин с астенотератозооспермией [22]. Авторы обнаружили нарушение формирования средней части сперматозоидов и сопряженность сниженной подвижности сперматозоидов с повышением фрагментации ДНК. В настоящее время принята точка зрения, что одним из основных патогенетических механизмов, повреждающих сперматозоиды и вызывающих тератозооспермию, является избыток реактивных радикалов кислорода [4, 5, 15]. Уменьшение антиоксидантной активности семенной плазмы, в частности каталазы и 8-изопростана, может играть ключевую роль и служить биомаркером ослабленного сперматогенеза, включая астенозооспермию и олигоастенотератозооспермию [5, 15].

Выяснение влияния индивидуального образа жизни (курение, алкоголь, психологический стресс, ожирение) и эколого-климатических факторов (загрязнение окружающей среды) на морфологические характеристики сперматозоидов позволило бы идентифицировать морфологические маркеры, чувствительные к повреждающим агентам. Исследования такого рода требуют значительных по своей величине выборок, что обусловлено большим количеством факторов, их взаимодействием и сравнительно небольшой степенью влияния на сперматогенез каждого из них [6, 7, 13].

Итак, в настоящей работе установлено, что у молодых мужчин из общей популяции, проживающих в Западной Сибири, доля сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками совпадает с аналогичными показателями у мужчин из популяций США и скандинавских стран. Среди патологически измененных сперматозоидов преобладали аморфная головка, аномалии акросомы, сочетанные дефекты головки и средней части сперматозоида. Морфологическим маркером ослабленного сперматогенеза может служить повышенная частота морфологических аномалий акросомы. Полученные данные могут быть использованы при сравнительном анализе сперматогенеза в популяционном аспекте.

Работа выполнена в рамках государственного задания по проекту «Генетика человека и животных» № 0324-2015-0004.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрология: мужское здоровье и дисфункция репродуктивной системы / Под ред. Э. Нишлага, Г. М. Бере. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005.
2. Осадчук Л. В., Туликин А. Е., Морозов И. В. и др. Фенотипическая вариабельность сперматогенеза и поиск ассоциаций с генным полиморфизмом у мышей 13 инбредных линий // Генетика. 2012. № 8. С. 966–975.

3. Попова А. В., Клещев М. А., Осадчук А. В. и др. Морфологический анализ сперматозоидов и связь их аномалий с показателями спермограммы // Вестн. НГУ. Сер. «Биология. Клиническая медицина». 2011. Т. 9, № 3. С. 47–54.
4. Abu Hassan Abu D., Franken D.R., Hoffman B., Henkel R. Accurate sperm morphology assessment predicts sperm function // *Andrologia*. 2012. Vol. 44. P. 571–577.
5. Agarwal A., Roychoudhury S., Bjugstad K.B. et al. Oxidation-reduction potential of semen: what is its role in the treatment of male infertility? // *Ther. Adv. Urol.* 2016. Vol. 8, № 5. P. 302–318.
6. Auger F., Eustache G., Andersen A.G. et al. Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities // *Hum. Reprod.* 2001. Vol. 16. P. 2710–2717.
7. Chemes H.E., Rawe V.Y. Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men // *Hum. Reprod. Update*. 2003. Vol. 9. P. 405–428.
8. Cooper T.G., Noonan E., Eckardstein S. et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics // *Hum. Reprod. Update*. 2010. Vol. 16. P. 231–245.
9. De Braekeleer M., Nguyen M.H., Morel F. et al. Genetic aspects of monomorphic teratozoospermia: a review // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015. Vol. 32. P. 615–623.
10. Elshal M.F., El-Sayed I.H., Elsaied M.A. et al. Sperm head defects and disturbances in spermatozoal chromatin and DNA integrities in idiopathic infertile subjects: Association with cigarette smoking // *Clin. Biochem.* 2009. Vol. 42. P. 589–594.
11. Fischer M.A., Willis J., Zini A. Human sperm DNA integrity: correlation with sperm cytoplasmic droplets // *Urology*. 2003. Vol. 61. P. 207–211.
12. Harbuz R., Zouari R., Pierre V.A. Recurrent deletion of DPY19L2 causes infertility in man by blocking sperm head elongation and acrosome formation // *Amer. J. Hum. Gen.* 2011. Vol. 88. P. 351–361.
13. Jensen T.K., Swan S., Jørgensen N. et al. Alcohol and male reproductive health: a cross-sectional study of 8344 healthy men from Europe and the USA // *Hum. Reprod.* 2014. Vol. 29, № 8. P. 1801–1809.
14. Jørgensen N., Carlsen E., Nermoen I. et al. East-West gradient in semen quality in the Nordic-Baltic area: a study of men from the general population in Denmark, Norway, Estonia and Finland // *Hum. Reprod.* 2002. Vol. 17. P. 2199–2208.
15. Khosrowbeygi A., Zarghami N. Seminal plasma levels of free 8-isoprostane and its relationship with sperm quality parameters // *Indian J. Clin. Biochem.* 2008. Vol. 23, № 1. P. 49–52.
16. La Vignera S., Condorelli R.A., Vicari E. et al. Negative effect of increased body weight on sperm conventional and nonconventional flow cytometric sperm parameters // *J. Androl.* 2012. Vol. 33. P. 53–58.
17. Menkveld R. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen // *Asian J. Androl.* 2010. Vol. 12. P. 47–58.
18. Menkveld R., Holleboom C.A.G., Rhemrev J.R.T. Measurement and significance of sperm morphology // *Asian J. Androl.* 2011. Vol. 13. P. 59–68.
19. Menkveld R., Kruger T.F. Sperm morphology and male urogenital infections // *Andrologia*. 1998. Vol. 30 (Suppl. 1). P. 49–53.
20. Nordkap L., Jensen T.K., Hansen A.M. et al. Psychological stress and testicular function: a cross-sectional study of 1,215 Danish men // *Fert. Steril.* 2016. Vol. 105. P. 174–187.
21. Parinaud J., Vieitez G., Moutaffian H. et al. Relationships between motility parameters, morphology and acrosomal status of human spermatozoa // *Hum. Reprod.* 1996. Vol. 11. P. 1240–1243.
22. Piasecka M., Laszczyńska M., Gączarzewicz D. Morphological and functional evaluation of spermatozoa from patients with asthenoteratozoospermia // *Folia Morphol. (Warsz.)*. 2003. Vol. 62. P. 479–481.
23. Portuondo J.A., Calabozo M., Echanojauregui A.D. Morphology of spermatozoa in infertile men with and without varicocele // *J. Androl.* 1983. Vol. 4. P. 312–315.
24. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th ed. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2010.

Поступила в редакцию 17.08.2016
Получена после доработки 01.12.2016

SPERM MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS IN YOUNG MEN: ASSOCIATION WITH MOTILITY

L.V.Osadchuk¹, M.A.Kleshchev¹, N.N.Kuznetsova², A.V.Osadchuk¹

Male fertility is associated with the characteristics of spermatogenesis, particularly with sperm morphology. The aim of this study was to analyze morphological characteristics of sperm cells in relation to their motility, as well as to compare incidence of morphological sperm defects in young men with normal and impaired spermatogenesis. Morphological characteristics of sperm cells were analyzed in young men (n = 111, age: 21.0±0.2 years) according to WHO «strict criteria» (2010). Among morphological abnormalities of sperm cells, the head defects (amorphous or vacuolated head) and acrosome and midpiece abnormalities predominated. In the group of men with reduced sperm motility (asthenozoospermia), the proportion of sperm cells with abnormal acrosome was higher than in norm. In the group of men with reduced sperm concentration, reduced proportion of motile and morphologically normal sperm cells (asthenooligoteratozoospermia), the increased percentage of sperm cells with abnormal acrosome, vacuolated and bent heads, thickened midpiece, cytoplasmic droplet, coiled and short tail was observed. In the group of men with normal sperm parameters, there was a negative correlation between the incidence of acrosome abnormalities and the percentage of motile sperm cells, while in the group of men with asthenozoospermia no correlation was found between the incidence of any morphological defects and the percentage of motile sperm cells. In the group of men with asthenooligoteratozoospermia, negative correlation was detected between the percentage of motile sperm cells and the incidence of of bent heads, coiled and short tails.

The data obtained indicate a connection between morphological parameters and sperm motility. Increased incidence of acrosome morphological abnormalities may serve as a morphological marker of impaired spermatogenesis.

Key words: *sperm morphology and motility, asthenozoospermia, oligoasthenoteratozoospermia*

¹ Department of Human Molecular Genetics, Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, RAS Siberian Branch, Novosibirsk; ² «Ergin» Medical Center, Kemerovo