

<https://doi.org/10.34883/PI.2025.15.1.007>
УДК 616.69-008.8-076.1



Маркович А.О. ✉, Ниткин Д.М., Батуревич Л.В., Алехнович Л.И.
Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Сравнительная морфологическая оценка структурных элементов эякулята при использовании различных методов окрашивания микроскопических препаратов

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, обработка, написание текста – Маркович А.О., Ниткин Д.М., Батуревич Л.В.; написание текста и редактирование – Алехнович Л.И.

Подана: 05.11.2024

Принята: 27.01.2025

Контакты: sasha.kalacheva.97@mail.ru

Резюме

Введение. В настоящее время частота встречаемости бесплодных браков составляет 10–15%, причем около 25% семейных пар не достигают беременности в течение 1 года лечения по поводу бесплодия, и около 5% пар так и остаются бесплодными. С каждым годом отмечается рост заболеваний органов репродуктивной системы у мужчин. Комплексное и поэтапное клинико-лабораторное исследование пациентов с мужской инфертильностью позволяет дифференцированно и своевременно назначить лечение и оценить его эффективность в динамике.

Цель. Поиск новых методов окраски препаратов эякулята для морфологической оценки сперматозоидов, клеток сперматогенеза, лейкоцитов и остаточных телец.

Материалы и методы. Микроскопические препараты эякулята 30 пациентов фиксировались и окрашивались следующими красителями: красителем-фиксатором эозином метиленовым синим типа Лейшмана, набором красителей Spermac Stain, гематоксилинами по Папаниколау и Гаррису.

Результаты. Проведена оценка информативности окрашенных микропрепаратов эякулята с использованием красителя Spermac Stain, гематоксилина Гарриса, гематоксилина по Папаниколау, эозина метиленового синего типа Лейшмана.

Заключение. Краситель Spermac Stain, хорошо известный и давно применяемый в Республике Беларусь, а также гематоксилин Гарриса являются наиболее эффективными методами окрашивания препаратов эякулята. Чуть хуже окрашивались препараты гематоксилином по Папаниколау. Окрашивание же эозином метиленовым синим типа Лейшмана оказалось недостаточным для последующей качественной оценки морфологических особенностей структурных элементов спермы.

Ключевые слова: эякулят, сперматозоид, морфологическое исследование, набор красителей, круглые клетки

Alexandra O. Markovich ✉, Dmitry M. Nitkin, Lyudmila V. Baturevich,
Larisa I. Alekhovich
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Comparative Morphological Evaluation of Structural Elements of Ejaculate Using Different Methods of Staining Microscopic Preparations

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study, collection of material, processing, writing the text – Markovich A., Nitkin D., Baturevich L.; writing the text and editing – Alekhovich L.

Submitted: 05.11.2024

Accepted: 27.01.2025

Contacts: sasha.kalacheva.97@mail.ru

Abstract

Introduction. Currently, the incidence of infertile marriages is 10–15%, with about 25% not achieving pregnancy within 1 year of infertility treatment, and about 5% of couples remain infertile. Every year, there is an increase in diseases of the reproductive system in men. A comprehensive and step-by-step clinical and laboratory study of patients with male infertility allows for differentiated and timely treatment and evaluation of its effectiveness over time.

Purpose. The aim of this study is to search for new methods for staining ejaculate preparations for morphological evaluation of spermatozoa, spermatogenesis cells, leukocytes and residual bodies.

Materials and methods. Microscopic ejaculate preparations from 30 patients were fixed and stained with the following dyes: Leishman-type eosin methylene blue fixative, Spermac Stain, Papanicolaou and Harris hematoxylin.

Results. The information content of stained ejaculate micropreparations was assessed using Spermac Stain, Harris hematoxylin, Papanicolaou hematoxylin, and Leishman methylene blue eosin.

Conclusion. Spermac Stain, a well-known and long-used dye in the Republic of Belarus, and Harris hematoxylin are the most effective methods for staining ejaculate preparations. Preparations were stained slightly worse with Papanicolaou hematoxylin. Staining with Leishman methylene blue eosin was insufficient for subsequent qualitative assessment of the morphological features of the structural elements of sperm.

Keywords: ejaculate, spermatozoon, morphological study, set of dyes, round cells

■ ВВЕДЕНИЕ

Мужское бесплодие – это проблема, затрагивающая многие страны мира [1]. При выяснении причины нарушения фертильности у мужчин в первую очередь проводится спермиологическое исследование. Классическая спермограмма заключается в определении макроскопических свойств семенной жидкости (вязкость, объем, цвет, pH) и микроскопическом исследовании, включающем исследование подвижности (кинезисграмму), подсчет количества, определение жизнеспособности и

морфологических характеристик сперматозоидов. Морфологические особенности сперматозоидов существенно влияют на фертильность мужчин [2]. Поэтому одним из критериев оценки качества спермы, рекомендованных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), является количество сперматозоидов с нормальными морфологическими признаками. При микроскопическом исследовании эякулята проводят подсчет количества мужских половых клеток с дефектами в строении головки, шейки и хвостика (жгутика) [3]. Морфологические особенности сперматозоидов учитываются при проведении вспомогательных репродуктивных технологий – экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ).

Согласно рекомендациям ВОЗ, для морфологического исследования препараты эякулята окрашивают по Папаниколау, Шорру или с помощью краски Diff-Quik [3, 4]. Но поиск новых методов окраски продолжается, так как предложенные не позволяют получить достаточно качественно окрашенные микроскопические препараты семенной жидкости. Остается актуальной стандартизация процедуры окрашивания спермы, которая позволила бы улучшить морфологическую оценку сперматозоидов с использованием компьютерных технологий и визуализацией окрашенных клеток на большом экране компьютера.

В представленной статье приводятся результаты применения новых методов окраски препаратов эякулята, дается их оценка для возможного использования в рутинной лабораторной практике.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поиск новых методов окраски препаратов эякулята для морфологической оценки сперматозоидов, клеток сперматогенеза, лейкоцитов и остаточных телец.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Микроскопические препараты эякулята 30 пациентов фиксировались и окрашивались следующими красителями: красителем-фиксатором эозином метиленовым синим типа Лейшмана, набором красителей Spermac Stain, гематоксилинами по Папаниколау и Гаррису.

Приготовленные мазки эякулята просматривались и оценивались в проходящем свете при объективе $\times 100$ и окуляре $\times 10$ с иммерсионным маслом. В препаратах эякулята проводилась оценка качества окрашивания головки, шейки и хвостика сперматозоидов и возможности дифференцировки круглых клеток (клеток сперматогенеза, лейкоцитов и остаточных телец).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке качества окрашивания препаратов семенной жидкости наилучший результат показали краситель Spermac Stain, хорошо известный и давно применяемый в Республике Беларусь, а также гематоксилин Гарриса. Чуть хуже окрашивались препараты гематоксилином по Папаниколау. Окрашивание же эозином метиленовым синим типа Лейшмана по сравнению с предыдущими красителями оказалось недостаточным для последующей качественной оценки морфологических особенностей структурных элементов спермы.

При использовании красителя Spermac Stain четко визуализировались все элементы сперматозоида (головка, шейка, хвостик), хорошо просматривалась граница между акросомой и ядром. В то время как круглые клетки в препаратах, окрашенных данным методом, дифференцировались плохо. При этом качество окрашивания элементов сперматозоидов, по нашему мнению, часто зависит от свойств эякулята (наличия лейкоцитов, слизи и других патологических элементов).

При применении гематоксилина Гарриса ядра сперматозоидов окрашивались в светлые сине-фиолетовые цвета, акросомальная часть, шейка и хвостик – в розовый. Граница между акросомой и ядром хорошо просматривалась. При этом четко визуализировались и дифференцировались круглые клетки.

Окраска гематоксилином по Папаниколау имеет свои достоинства и недостатки. При использовании данного метода окраски хорошо окрашивались хвостики сперматозоидов, клетки сперматогенеза и другие элементы эякулята, а также наблюдался чистый фон мазка, что облегчало микроскопическое исследование. Но при этом часто плохо окрашивались головки и шейки сперматозоидов, что является существенным минусом использования данного метода окрашивания.

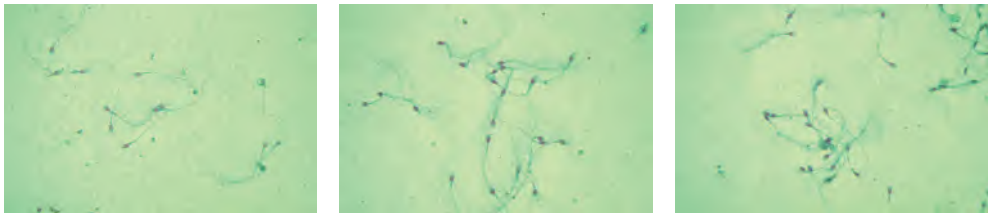
Самые большие затруднения в морфологической оценке эякулята отмечались при исследовании препаратов спермы, окрашенных эозином метиленовым синим типа Лейшмана. При данном способе окрашивания головка сперматозоидов и ее структурные элементы прокрашивались плохо, отмечался грязный фон мазка за счет частичного выпадения краски в осадок. Дифференциация клеток сперматогенеза, лейкоцитов и остаточных телец также была затруднена. В то время как хвостик и шейка сперматозоидов визуализировались достаточно хорошо.

На рисунке представлены фотографии препаратов эякулята, окрашенных разными красителями.

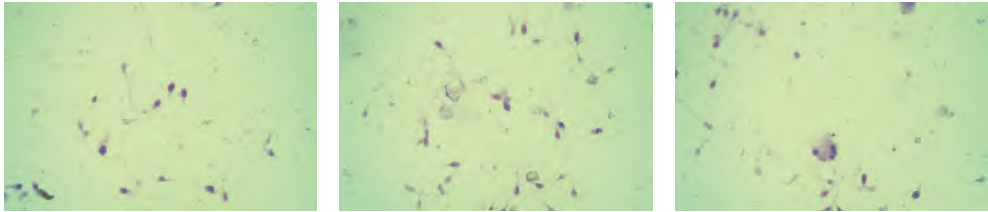
■ ВЫВОДЫ

Сравнение методов окрашивания препаратов эякулята, таких как краситель-фиксатор эозин метиленовый синий типа Лейшмана, набор красителей Spermac Stain, гематоксилин по Папаниколау и гематоксилин Гарриса, показало:

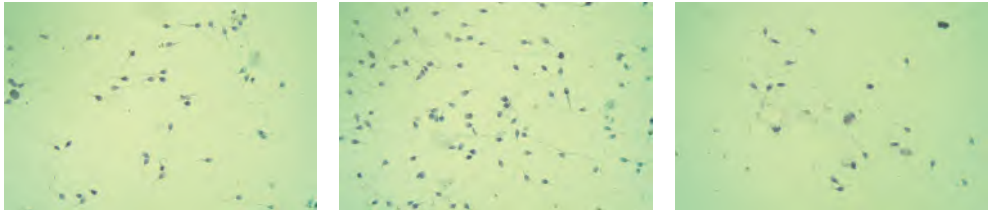
1. Оценка морфологических характеристик сперматозоидов лучше всего осуществлялась в препаратах эякулята, окрашенных набором красителей Spermac Stain либо гематоксилином Гарриса.
2. Четкая дифференциация круглых клеток (клеток сперматогенеза, лейкоцитов и остаточных телец) отмечалась при окрашивании препаратов гематоксилином по Папаниколау, рекомендуемым ВОЗ, но при этом не всегда наблюдалось достаточное прокрашивание структурных элементов сперматозоидов.
3. Изучение морфологических особенностей мужских половых клеток в препаратах эякулята, окрашенных красителем-фиксатором эозином метиленовым синим типа Лейшмана, было затруднено.
4. Сравнительное изучение качества окрашивания микропрепаратов эякулята показало необходимость продолжения поиска эффективных методов окраски, улучшающих морфологическую оценку и эффективность диагностического поиска у пациентов с мужским бесплодием.



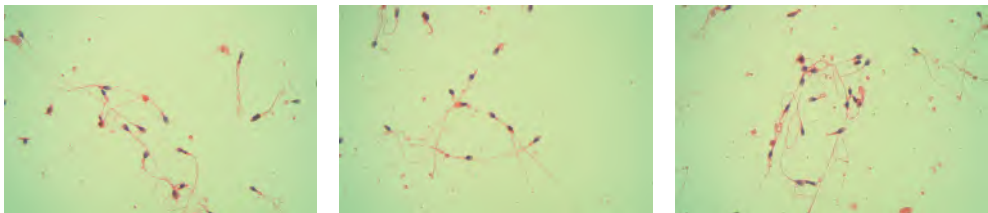
A



B



C



D

Фотографии препаратов эякулята, окрашенных разными красителями: А – препараты эякулята, окрашенные красителем Spermac Stain; В – препараты эякулята, окрашенные красителем-фиксатором эозином метиленовым синим типа Лейшмана; С – препараты эякулята, окрашенные гематоксилином по Папаниколау; D – препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Гарриса
Photographs of ejaculate preparations stained with different dyes: A – Ejaculate preparations stained with Spermac Stain dye; B – Ejaculate preparations stained with the fixative dye eosin methylene blue Leishman type; C – Ejaculate preparations stained with Papanicolaou hematoxylin; D – Ejaculate preparations stained with Harris hematoxylin

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nitkin D., Rakevich M., Yuraga T., Baturevich L., Romanyuk A. *Male infertility: methods of diagnostics and conservative treatment: training and methodological manual*. Minsk: BelMAPO. 2016:43 p.
2. *WHO Manual for the Examination and Processing of human semen*. World Health Organization. 2021;6:49–60.
3. *WHO Guidelines for Laboratory Examination of Human Ejaculate and Interaction of Sperm with Cervical Mucus: translated from English*. Moscow: Capital Print. World Health Organization. 2010;5:54 p.
4. Kolomiets A., Baturevich L. Comparative analysis of ejaculate staining methods. *News of medical and biological sciences*. 2024;24(2):124–129.