

**ПРОУЧВАНЕ ВЪРХУ НЯКОИ ВЪЗРАСТОВИ ИЗМЕНЕНИЯ В
МОРФОЛОГИЯТА И ФИЗИОЛОГИЧНИТЕ ПОКАЗАТЕЛИ НА
СПЕРМАТОЗОИДИТЕ ПРИ ПАЦИЕНТИ С РЕПРОДУКТИВНИ ПРОБЛЕМИ**

В. Нечева⁽¹⁾, Г. Ингилизова⁽²⁾, И. Костов⁽³⁾

(1) Биологически факултет на СУ „Св. Климент Охридски”

(2) Болница „Вита” – София

(3) Университетска акушеро-гинекологична клиника „Майчин дом”

Резюме:

В настоящото изследване са извършени наблюдение и анализ на данните на четири от основните показатели в спермограмите на пациенти с репродуктивни проблеми – обем, концентрация, подвижност, отклонения в морфологията. Проследена е корелацията на тези показатели спрямо възрастта на пациентите. За целта 99 пациенти, наблюдавани в продължение на 1 година са разделени в три възрастови групи: от 20 до 29 години; от 30 до 39 години; на 40 и повече години. Приложен е семенен анализ според СЗО и оценка на морфологията по критериите на Крюгер. В резултат е установена статистически значима обратнопропорционална зависимост между възрастта на пациентите и обема на еякулата. Няма възрастово обусловено изменение в концентрацията и подвижността на сперматозоидите. Не са установени и съществени разлики в морфологията на сперматозоидите в отделните възрастови групи.

Ключови думи: *асистирана репродукция, сперматозоиди, морфология, семенен анализ*

Статистически анализи сочат, че 15% от двойките в репродуктивна възраст не постигат успех в опитите да имат дете през първата една година. В около 35-50% от случаите това се дължи на мъжки субфертилитет или стерилитет.

Изясняването на взаимовръзката между фертилността и възрастта е от нарастващо значение, тъй като все повече се увеличава броят на мъжете, които решават да станат родители на по-зряла възраст. Сперматогенезата, за разлика от овогенезата, продължава и в по-напреднала възраст и позволява тази тенденция да се засили. От 1980 до днес в САЩ има с 24% повече бащи между 35 и 54г. В Германия процентът на мъжете, станали за първи път родители над 35г се е повишил от 23.1% през 1990 г. до 38.5% през 2001г.

Функционални и органични разстройства на половата функция на мъжа могат да бъдат причина за намаляване или липса на оплодителна способност. Най-честата причина за безплодие у мъжа е патологичната сперматогенеза, за която голяма роля играят различните процеси в развитието на половия апарат на мъжа – хипоспадия, еписпадия, крипторхизъм (едностранен или двустранен), усукване на тестиса, инвагинална херния, варикоцеле. Честа причина са прекарани инфекции на тестиса, простатната жлеза, пикочния мехур и бъбреците. Непосредствено след прекаран възпалителен процес с висок фебрилитет се отчитат нарушения в сперматогенезата – олигозооспермия, астенозооспермия и тератозооспермия.

Нарушената сперматогенеза може да бъде последица на ендокринни заболявания – диабет, адипозогенитална дистрофия, затлъстяване, синдром на Клайнфелтер. Също тежки общи заболявания, остри и хронични инфекции – епидемичен паротит с орхит, туберкулоза, травми и прекарани операции в коремната област и половите органи.

В етиопатогенезата на мъжкия инфертилитет определена роля играят екзогенните патогенни фактори, влияещи върху сперматогенезата (например никотинът). Герминативният епител на тестиса се уврежда изключително лесно от

различни физични и химични съединения (пестициди, горещина, медикаменти, йонизиращи лъчения). Причина може да бъдат и травми на половата система.

В процеса на стареенето на всички нива на организация на организма, включително и в половата система, настъпват физиологични промени. С нарастване на възрастта се наблюдава спад в броя на Лайдиговите клетки, на Сертолиевите клетки, на серумните нива на тестостерон. (32, 33) Стареенето е свързано с нарушения, както във функцията на тестисите, така и в хипоталамусната регулация на гонадотропната секреция.

Оксидативният стрес също води до намаляване на оплодителния потенциал на сперматозоидите. Настъпват промени в семенните везикули, които произвеждат семенна течност. С напредване на възрастта при някои мъже простатата уголемява размера си (хипертрофира), притиска пикочния канал и причинява доброкачествена простатна хиперплазия. Каналчевата система може да загуби еластичността си (процес, наречен склероза). Епидидимисът, семенните мехурчета и простатната жлеза губят част от клетките на повърхността си, но продължават да изпълняват функциите си. Появяват се инфекции и възпаления на простатната жлеза (простатити). С възрастта зачестяват случаите на рак на простатата. При нормалния процес на стареенето се увеличават и възрастово обусловените придружаващи заболявания – хронични бъбречни, чернодробни, белодробни заболявания и др.

Целта на настоящото изследване е да се проследят изменения, свързани с възрастта, на четири от основните показатели (обем, концентрация, подвижност и морфология) в спермограмите на пациенти с репродуктивни проблеми.

В изпълнение на поставената цел са направени изследвания по следните задачи:

1. Определяне на обема на изследваните проби.
2. Преброяване на сперматозоиди при спазване на съответните изисквания, за да се определи концентрацията им в млн/мл.
3. Проследяване на подвижността на сперматозоидите в определен брой полета и изчисляване на общия процент на подвижност.
4. Оценка на морфологията на сперматозоидите в пробите по стриктните критерии на Крюгер и определяне на процента сперматозоиди с отклонение в морфологията.

Изследването обхваща 101 неселектирани пациенти, потърсили консултация в МБАЛ „Вита“ във връзка с безплодие през периода 2012-2013 г.. Всеки от тях е дал по една проба.

Семенният анализ се извършва според етапите, регламентирани в петото издание на СЗО. Семенните проби са събрани в стерилни контейнери чрез мастурбация след сексуално въздържание в период от 3-5 дни. Пробите се съхраняват на стайна температура (но не по-ниска от 20°C и не по-висока от 37 °C). Анализът се извършва след втечняване на семенната течност в рамките на 30 минути до 1ч. За изследване на описаните по-долу показатели се използва светлинен микроскоп (HUND). За определяне на концентрацията се използва броителна камера на Makler. Морфологията на сперматозоидите се оценява по стриктните критерии на Крюгер чрез поставяне на 5 µl от пробата върху предварително оцветено стъкло за клетъчна морфология „Testsimplers“. В изследването са включени 101 пациенти, от чиито спермограми се проследяват стойностите на четири показателя – обем (в мл), концентрация (в млн/мл), подвижност (в %) и отклонения в морфологията (в %). Възрастта на най-младият пациент е 20 години, а на най-възрастният – 55 години. Пациентите са разделени условно в три възрастови групи както следва: 1) от 20 до 29 години; 2) от 30 до 39 години; 3) на 40 и повече години.

Анализ на данните е направен с t-тест на Стюдънт, като се използват възможностите на MS Excel, за да се определи дали две извадки могат да се смятат за

получени от еднакви генерални съвкупности с еднакви средни стойности. Анализът се провежда последователно за всяка двойка възрастови групи при избрано равнище на значимост за двустранен тест 0,05 (Таблицы 1÷3):

	Обем (мл)	Концентрация (млн./мл)	Подвижност (%)	Отклонения в морфологията (%)
t-статистика	0,849092	0,679743	0,965959	0,598763
Брой наблюдения в 1-ва възрастова група*	30	30	30	23
Брой наблюдения във 2-ра възрастова група*	48	47	47	38
Стандартно отклонение в 1-ва възрастова група	2,008	28,837	0,093	0,046
Стандартно отклонение във 2-ра възрастова група	1,423	32,688	0,115	0,049
Изравняване на степените на свобода	48,38	69,60	73,08	50,74
t-таблично	2,0106	1,9944	1,9930	2,0076

Таблица 1. Наблюдавана t-стойност при 1-ва и 2-ра група при двустранно разпределение и две извадки с различни дисперсии по параметрите на оценката.

	Обем (мл)	Концентрация (млн./мл)	Подвижност (%)	Отклонения в морфологията (%)
t-статистика	0,13226	0,59237	0,44717	0,70414
Брой наблюдения в 1-ва възрастова група	30	30	30	23
Брой наблюдения в 3-та възрастова група	21	20	20	19
Стандартно отклонение в 1-ва възрастова група	2,008	28,837	0,093	0,046
Стандартно отклонение в 3-та възрастова група	1,341	34,903	0,141	0,044
Изравняване на степените на свобода	50,85	36,99	31,06	41,32
t-таблично	2,0076	2,0262	2,0395	2,0195

Таблица 2. Наблюдавана t-стойност при 1-ва и 3-ра група при двустранно разпределение и две извадки с различни дисперсии по параметрите на оценката.

	Обем (мл)	Концентрация (млн./мл)	Подвижност (%)	Отклонения в морфологията (%)
t-статистика	0,03111	0,81626	0,42975	0,91857
Брой наблюдения във 2-ра възрастова група	48	47	47	38
Брой наблюдения в 3-та възрастова група	21	20	20	19
Стандартно отклонение във 2-ра възрастова група	1,423	32,688	0,115	0,049
Стандартно отклонение в 3-та възрастова група	1,341	34,903	0,141	0,044
Изравняване на степените на свобода	42,22	35,33	31,51	42,32
t-таблично	2,0181	2,0301	2,0369	2,0181

Таблица 3. Наблюдавана t-стойност при 2-ра и 3-та група при двустранно разпределение и две извадки с различни дисперсии по параметрите на оценката.

За всички наблюдавани параметри изчислената t-стойност е по-малка от табличната, което не дава основание да се отхвърли нулевата хипотеза, т.е. с 90% на сигурност може да се смята, че извадките са получени от еднакви генерални съвкупности с еднакви средни стойности.

По отношение статистически значимите разлики в обема на изследваните проби беше установено, че при сравнение на резултатите от първата и втората възрастова група няма разлика в средния обем. Статистически значима разлика в средния обем съществува между първата и третата възрастова групи при равнище на значимост 0,159. Статистически значима разлика съществува и между втората и третата възрастова групи при равнище на значимост 0,033.

От анализа на данните се установява, че средната концентрация на сперматозоидите в семенна течност намалява с възрастта. Независимо, че средната концентрация по възрастовите групи намалява равнището на значимост показва, че няма основание да се отхвърля нулевата хипотеза (т.е. за равенство на средната концентрация). Резултатът е продиктуван най-вече от чувствителната вариация на концентрацията вътре в съответните възрастови групи (видимо от минималната и максимална стойност). Това дава основание да се смята, че има много други фактори, които предопределят концентрацията на сперматозоиди в семенната течност, които като цяло не са зависими от възрастта, а по-скоро от въздействия от околната среда, заболявания и др.

Изследваните на подвижността на сперматозоидите по възрастови групи показва тенденция към нейното намаляване с възрастта. И тук равнището на значимост показва, че няма основание да се отхвърля нулевата хипотеза (т.е. за равенство на средната подвижност по възрастови групи). Резултатът е продиктуван от чувствителната вариация на подвижността вътре в съответните възрастови групи. Това дава основание да се смята, че има много други фактори, които предопределят подвижността на сперматозоидите, като въздействия от околната среда, заболявания и др.

Данните за отклонение в морфологията на сперматозоидите по възрастови групи показва, че те са най-много във втората възрастова група. Статистическият анализ показва, че няма основание да се отхвърля нулевата хипотеза за равенство на средните отклонения в морфологията по възрастови групи. По-големите отклонения във втората възрастова група се дължи на по-голямата извадка в този случай. Данни от други

изследвания показват, че морфологията на сперматозоидите силно се влияе от различни фактори на средата, както и от настоящи или прекарани заболявания.

В резултат от изследванията установихме статистически значима обратнопропорционална зависимост между възрастта на пациентите и обема на еякулата. Този резултат се потвърждава от редица експерименти и на други автори.

В потвърждение на валидността на нашите резултати са изследванията и на Levitas et al. (2007), където се отчита понижаване на обема средно от 3,51 до 2.21 (съответно за възрастова група от 30 до 34 години и над 55г.). Според различни източници с възрастта обемът на спермата намалява с от 3% до 22%. (Kidd SA et al. 2001).

Този резултат може да бъде обяснен с възрастовите изменения в организма на мъжа. Намаляването на обема може да бъде свързано с промени в семенните мехурчета, които произвеждат по-голямата част от семенната течност. Проблеми, свързани с простатата (напр. гладкомускулна атрофия), също може да повлияят обема на спермата. Има и други хипотези за причините за намаляването на обема на семенните проби. Според някои изследвания тютюнопушенето оказва влияние на този показател, като зависимостта е обратнопропорционална на броя изпушени цигари. Съществуват и становища, според които обемът на семенната течност не се повлиява от възрастта на мъжа.

След направените изследвания установихме, че обемът на семенната проба е единственият показател, при който се наблюдават статистически достоверни разлики с нарастване на възрастта. Резултатите от анализа дават основание да се твърди, че обемът на еякулата намалява с увеличаване на годините на пациентите.

При останалите три показателя (концентрация, подвижност и отклонения в морфологията) статистическото равнище на значимост на резултата отхвърля тяхната зависимост от възрастта.

В процеса на работа и въз основа на получените данни пред нас възникна въпроса за събиране на допълнителна информация за начина на живот на изследваните лица, в частност такива, които имат критично отношение към оплодителните качества на спермата – например тютюнопушене, регулярна употреба на алкохол, спорт и здравословно хранене и пр. Разбираемо е, обаче, трудното събиране на такива данни, тъй като някои от тях са от личен характер и пациентите могат да откажат да ги споделят. Въпреки това, събирането и анализът на данни, свързани с репродуктивното здраве на населението, както и тяхното публикуване трябва да активно да продължи, не само заради чисто научната необходимост от такава информация, а и предвид тежката демографска ситуация в страната ни.