

А. О. МАРКОВИЧ¹, Л. В. БАТУРЕВИЧ², Д. М. НИТКИН²

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ ЧЕЛОВЕКА В МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ, ОКРАШЕННЫХ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

¹ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

² Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Бесплодие – одна из мировых проблем, затрагивающая многие страны мира [1]. На первом этапе обследования мужчин спермиологическое исследование является обязательным. Классическая спермограмма включает себя концентрацию и общее количество сперматозоидов, кинезисграмма, определение жизнеспособности и морфологических характеристик спермиев. Морфологические особенности сперматозоидов влияют на фертильность мужчин [2]. Поэтому одним из критериев оценки качества спермы, рекомендованных Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), является количество сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками. Так как предложенные методы окраски эякулята с целью дальнейшей оценки морфологических характеристик сперматозоидов не удовлетворяют в полной мере, то остается актуальной стандартизация процедуры окрашивания спермы. В представленной статье приводятся результаты новых методов окраски эякулята при спермиологическом исследовании, дается им оценка для возможного использования в рутинной лабораторной практике.

Ключевые слова: эякулят, сперматозоид, морфологическое исследование, головка, шейка, хвостик.

Введение. Рост патологии репродуктивных органов мужчин наблюдается во многих странах и сопровождается снижением фертильности [3]. При первичном обследовании пациентов с подозрением на бесплодие исследование эякулята является первоочередным. Основными показателями спермограммы являются такие показатели, как количество сперматозоидов, их концентрация, кинезисграмма. Однако оценка морфологических характеристик сперматозоидов не менее важна и существенно определяет оплодотворяющую способность мужских половых клеток [4]. Поэтому одним из критериев оценки качества спермы, рекомендованных ВОЗ, является количество сперматозоидов с нормальными морфологическими характеристиками [2]. При исследовании морфологии сперматозоидов подсчитывают количество половых клеток с дефектами в строении головки, средней части и хвостика. Морфологические характеристики спермиев учитываются и при вспомогательных репродуктивных технологиях, таких как ИКСИ, ЭКО.

В 5-ом издании Руководства по проведению спермиологических исследований (WHO, 2010) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) содержится рекомендация использовать окрашивание по Папаниколау, Шорру или с помощью краски Diff-Quik [4]. Материалы, изложенные в Руководстве ВОЗ, рекомендованы для применения, но не исключают использование в рутинной лабораторной практике других новых методов окраски, которые могут быть более удобными и информативными [4].

Морфологические характеристики эякулята важны при оценке фертильности мужчин и при поиске причин бесплодия. Но оценка морфологии сперматозоидов напрямую зависит

от способа и качества окраски микроскопического препарата. Качественное окрашивание позволяет дифференцировать клеточные элементы эякулята, оценить особенности структурных элементов сперматозоидов при микроскопии. Равномерно окрашенный, не содержащий артефакты (скопления краски и не дифференцируемые элементы), содержащие хорошо просматриваемые участки мазка и хорошо окрашиваемые клеточные структуры (цитоплазмы, ядра, ядерного хроматина и др.) считается мазком качественно окрашенным. Традиционно в клинико-диагностических лабораториях нашей страны препараты мазков эякулята окрашивают азур-эозином по Романовскому. Во некоторых лабораториях для морфологической оценки эякулята используют краситель Spermac Stain. Красители Diff-Quik, гематоксилин по Папаниколау, Шорру, рекомендованные при спермиологическом исследовании ВОЗ, не получили широкое использование в Республике Беларусь.

Поиск новых методов окраски эякулята, позволит улучшить оценку морфологических характеристик сперматозоидов в рутинной лабораторной практике, стандартизировать процедуру окрашивания спермы, что в перспективе повысит качество спермиологического исследования, а значит улучшит диагностику и лечение мужского бесплодия. Качественные новые методы окраски препаратов эякулята, позволяющие улучшить морфологическую оценку сперматозоидов, важны и для базового исследования, и для компьютерного анализа изображения спермиев в препаратах.

В настоящей статье мы приводим результаты сравнительной оценки морфологических характеристик сперматозоидов человека в микроскопических препаратах, окрашенных различными методами, с целью возможного использования этих методов в рутинной лабораторной практике.

Цель исследования – сравнение использования различных методов окраски препаратов эякулята для морфологической оценки сперматозоидов для подбора более информативного и простого метода окраски в рутинной лабораторной практике.

Материалы и методы исследования. Мазки эякулята 30 пациентов фиксировались и окрашивались гематоксилином Майера, гематоксилином Гарриса, гематоксилином Вейгерта, азур-эозином Романовского-Гимзе, азур-эозином по Нохту, красителем-фиксатором эозин метиленовый синий типа Лейшмана, набором красителей Spermac Stain, окраской по Папаниколау.

Приготовленные мазки просматривались и оценивались на световом микроскопе под иммерсией и большим увеличением (10×100). Сравнение окраски сперматозоидов при оценке морфологических характеристик осуществлялось по разработанной нами системе, представленной в таблице 1.

Таблица 1. Система сравнительной оценки методов окрашивания препаратов эякулята

Элементы сперматозоидов	Шкала оценки		
	3 (+++)	2 (++)	1 (+)
Головка	Яркое окрашивание. Четкие контуры. Четко видна граница между ядром и акросомой.	Окраска ненасыщенного цвета. Нечеткие контуры. Нет четкой границы между акросомой и ядром. Акросома и ядро одного цвета.	Окраска тусклая или отсутствует. Нет четких контуров. Или окрасился только контур ядра (цитоплазматическая мембрана).
Шейка	Яркое окрашивание, более темного цвета чем ядро. Четкие контуры.	Окраска не насыщенного цвета. Сливается с хвостом и ядром.	Отсутствует окрашивание или окрашены только контуры (цитоплазматическая мембрана).

Окончание таблицы 1.

Хвост	Яркое окрашивание темного цвета. Четкие контуры.	Бледное окрашивание. Сливается с шейкой.	Прозрачный, не окрашен. Не виден.
Круглые клетки	Окраска яркая, четкая граница ядра. Клетки хорошо дифференцируются.	Окраска бледная. Нет четкой границы ядра клетки. Клетки плохо дифференцируются.	Не окрасились или имеют вид бесструктурных не дифференцируемых элементов.

В препаратах эякулята проводилась оценка качества окрашивания головки, шейки и хвостика сперматозоидов, и возможность дифференцировки круглых клеток. Каждому оцениваемому элементу присваивали от 1 до 3 баллов согласно критериям, представленным в таблице 1. В одном препарате оценивали до 200 сперматозоидов и 5–10 круглых клеток. Находили среднее значение баллов каждого оцениваемого элемента в одном мазке одного пациента, и затем в мазках всех пациентов, окрашенных определенным красителем. Методы окраски сравнивались по количеству набранных баллов.

Результаты и их обсуждение. Мазки эякулята (по несколько мазков одного пациента) готовились на чистых предметных стеклах. Часть мазков после полного высыхания при комнатной температуре фиксировались неразведенным раствором фиксатора-красителя эозин метиленовый синий по Май-Грюнвальду в течение 3 минут, а часть мазков подвергалась влажной фиксации: препарат слегка подсушивался до исчезновения влажного блеска, а затем помещался в 96 % раствор этанола на 15 минут. После фиксации препараты промывались водопроводной водой и окрашивались.

Окраска красителем азур-эозин по Романовскому.

Перед окраской готовили рабочий раствор красителя: смешивали 9 мл дистиллированной воды, 1 мл азур-эозина по Романовскому и 0,1 мл фосфатного буфера.

Фиксированные фиксатором-красителем по Май-Грюнвальду мазки эякулята помещали в свежеприготовленный рабочий раствор красителя на 25 минут. По истечению времени препараты промывали водопроводной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных красителем азур-эозин по Романовскому представлены на рисунке 1.

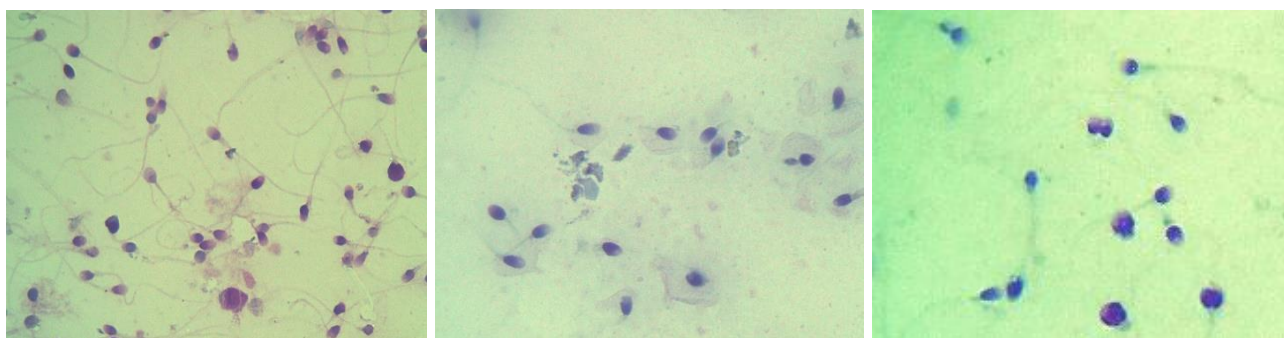


Рисунок 1. Препараты эякулята, окрашенные красителем азур-эозином по Романовскому.
Увеличение x100

Ядра, шейка и хвостик сперматозоида окрашиваются в фиолетовые оттенки, область акросомы окрашивается в серо-розовый цвет. В мазках эякулята, окрашенных красителем азур-эозином по Романовскому головки сперматозоидов прокрашивались не четко, пограничная зона между акросомой и ядром просматривалась плохо или вообще не окрашивались, плохо окрашивались шейка и хвостик половых клеток. Круглые клетки (лейкоциты, клетки сперматогенеза и остаточные тельца) различимы, но их дифференцировка часто затруднена.

Окраска набором красителей Spermac Stain (Испания).

Окраска проводилась согласно инструкции, прилагаемой к набору. Свежеприготовленные препараты помещались в фиксатор, имеющийся в наборе, на 5 минут. Перед окрашиванием после фиксации мазки просушивали и затем промывали дистиллированной водой. При окрашивании препараты последовательно помещали в краситель А (красный) на 2 минуты, в краситель В (бледно-зеленый) на 1 минуту, в краситель С (темно-зеленый) на 1 минуту. Между погружением в красители препараты эякулята промывали водопроводной водой. После процедуры окрашивания препараты высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных красителем Spermac Stain представлены на рисунке 2.

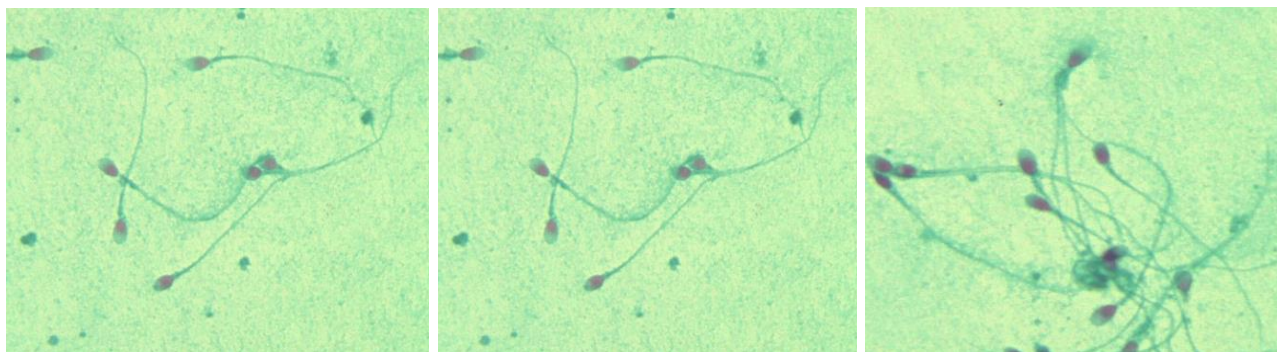


Рисунок 2. Препараты эякулята, окрашенные красителем Spermac Stain. Увеличение x100

При окрашивании красителем Spermac Stain ядра сперматозоидов окрашивались в красный цвет, средняя часть и хвостик в зеленый цвет. Акросома окрашивалась в темно-зеленый цвет. Граница между акросомой и ядром хорошо просматривается, но не всегда можно добиться четкого окрашивания всех клеточных элементов, особенно головок половой клетки. Неплохо визуализируются лейкоциты, клетки сперматогенеза, но часто их дифференцировка затруднена.

Окрашивание гематоксилином Гарриса.

Препараты после влажной фиксации помещали в гематоксилин Гарриса на 5 минут, после чего промывали проточной и дистиллированной водой в течение 7 минут. Просушенные препараты помещали в водный раствор 10 % эозина на 10 минут. После окрашивания препараты промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных гематоксилином Гарриса представлены на рисунке 3.



Рисунок 3. Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Гарриса. Увеличение x100

При окрашивании гематоксилином Гарриса ядра сперматозоидов окрашивались в светлые сине-фиолетовые цвета, акросомальная часть, шейка и хвостик имели розовый цвет. Граница между акросомой и ядром хорошо просматривалась. Хорошо визуализировались и дифференцировались круглые клетки.

Окрашивание гематоксилином Майера.

Препараты после влажной фиксации помещали в гематоксин Майера на 7 минут, затем промывали проточной водой в течение 5 мин. После просушивания препараты помещали в водный раствор 10 % эозина на 10 минут. После окрашивания предметные стекла с мазками промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных гематоксилином Майера представлены на рисунке 4.

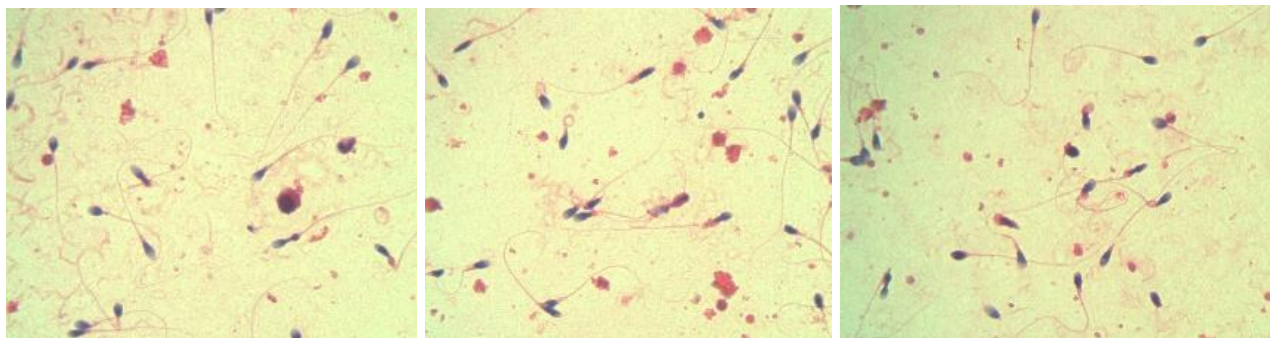


Рисунок 4. Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Майера. Увеличение x100

При окрашивании гематоксилином Майера ядра сперматозоидов окрашивались в сине-фиолетовые оттенки, акросомальная часть, шейка и хвостик имели розовый цвет. Граница между акросомой и ядром не всегда хорошо просматривалась. Круглые клетки окрашивались, но не всегда хорошо дифференцировались.

Окрашивание гематоксилином Вейгерта.

Перед окраской готовили рабочий раствор по инструкции: смешивали по 10 мл раствора гематоксина Вейгерта А и В.

Приготовленные препараты после влажной фиксации помещали в рабочий раствор гематоксина Вейгерта на 7 минут. После гематоксина Вейгерта препараты промывали дистиллированной водой в течении 5 минут, просушивали и помещали в водный раствор 10 % эозина на 10 минут. После окрашивания препараты промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных гематоксилином Вейгерта представлены на рисунке 5.



Рисунок 5. Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином Вейгерта. Увеличение x100

При окраске гематоксилином Вейгерта ядра сперматозоидов окрашивались в сине-черный цвет, другие элементы половых клеток в розовый. Граница между акросомой и ядром просматривалась плохо. Круглые клетки в мазке плохо дифференцировались.

Окрашивание азур-эозином по Нохту.

Перед окраской готовили рабочий раствор: смешивали 9 мл эозина Н, 8 мл азура II и 20 мл фосфатного буфера.

Препараты, зафиксированные раствором фиксатором-красителем по Май-Грюнвальду, помещали в рабочий раствор на 15 минут. После препараты промывали водопроводной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных азур-эозином по Нохту представлены на рисунке 6.

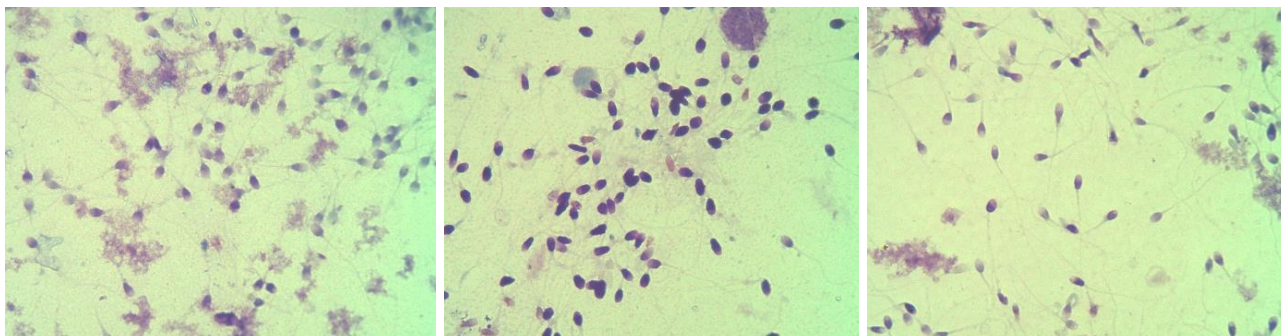


Рисунок 6. Препараты эякулята, окрашенные азур-эозином по Нохту. Увеличение x100

При окраске азур-эозином по Нохту ядра сперматозоидов окрашивались в сине-фиолетовый цвет, другие элементы половых клеток в розовый. Граница между акросомой и ядром не всегда была четкой, хвостик и шея не всегда хорошо просматривались. Круглые клетки эякулята хорошо окрашиваются и подвергались дифференцировке.

Окрашивание азур-эозином по Лейшману.

Перед окраской готовили рабочий раствор красителя: смешивали 10 мл краситель-фиксатор эозин метиленовый синий типа Лейшмана с 5 мл фосфатного буфера.

Приготовленные и высушенные препараты эякулята фиксировали раствором Лейшмана в течении 3 минут, затем промывали водопроводной водой, подсушивали и помещали в приготовленный рабочий раствор Лейшмана на 15 минут. После окрашивания препараты промывали водопроводной водой, высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных азур-эозином по Лейшману представлены на рисунке 7.

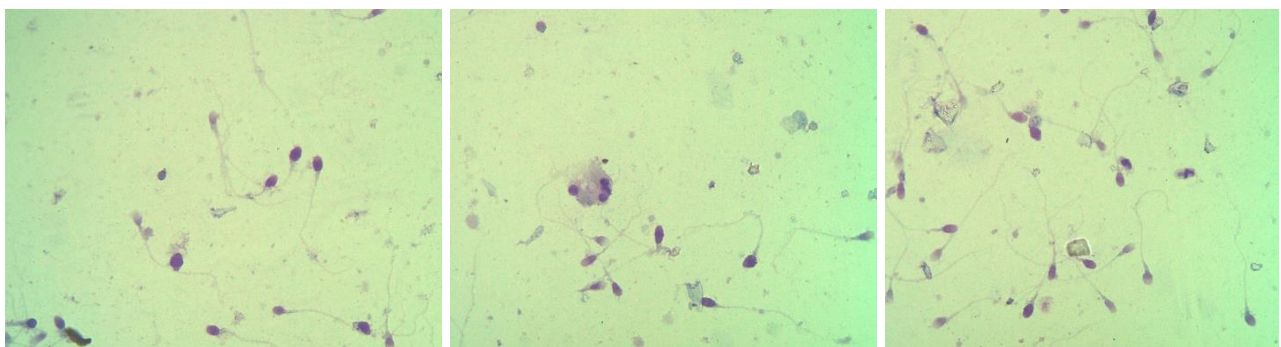


Рисунок 7. Препараты эякулята, окрашенные азур-эозином по Лейшману. Увеличение x100

При окраске азур-эозином по Лейшману ядра окрашивались в фиолетовый цвет, шейка, акросомальная часть и хвостик окрашивались в светло фиолетовый. Ядро и граница между акросомой и ядром в окрашенных препаратах просматривалось плохо. Хвостик и шейка во многих препаратах не прокрашивались. Четкое разделение круглых клеток на популяции было затруднено.

Окрашивание по Папаниколау.

Препараты перед окраской по Папаниколау были зафиксированы влажным методом. Затем предметные стекла с мазками последовательно обрабатывали в течение 2 минут 95 % раствор этанола, промывали 2 минуты водопроводной водой, помещали на 1 минуту в раствор Папаниколау, после опять промывали водопроводной водой в течении 5 минут. Затем препарат поочередно помещали на 15 секунд в 95 % этанола, на 2 минуты в раствор Папаниколау OG6, дважды на 15 секунд в 95 % этанола, на 5 минут в раствор Папаниколау EA50 и на 15 секунд в 95 % этанола. После процедуры окрашивания препараты высушивали и микроскопировали.

Фотографии препаратов, окрашенных по Папаниколау представлены на рисунке 8.

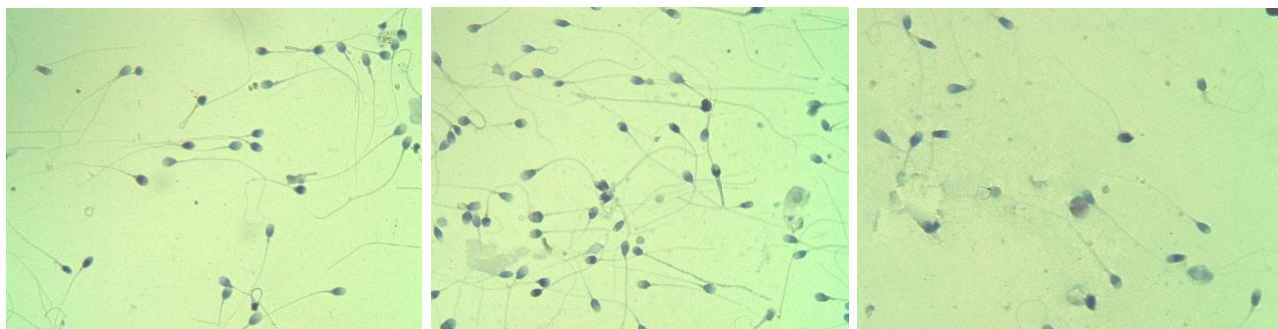


Рисунок 8. Препараты эякулята, окрашенные гематоксилином по Папаниколау.
Увеличение x100

При окраске по Папаниколау ядра окрашивались в фиолетовый цвет, шейка, акросомальная часть и хвостик окрашивались в голубой. Окрашивание было не четкое. Круглые клетки хорошо дифференцировались.

Препараты эякулята пациентов, окрашенные разными наборами красителей, оценивались по разработанной нами системе, представленной в таблице №1. Результаты сравнения представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты сравнения методов окрашивания эякулята

Методы окрашивания	Сперматозоид				
	Головка	Шейка	Хвостик	Круглые клетки	Время окраски с фиксацией
Азур-эозин по Романовскому	2,87	1,24	1,15	2,14	28 мин
Азур-эозином по Лейшману	1,75	1,5	2,0	1,80	18 мин
Азур-эозином по Нохту	2,7	1,2	1,14	2,2	18 мин
Гематоксилин. Гарриса	2,81	2,78	2,71	2,19	37 мин
Гематоксилин. Майера	2,82	2,77	2,84	1,88	37 мин
Гематоксилин. Вейгерта	2,72	2,77	2,85	1,60	37 мин
Гематоксилин Папаниколау	2,61	1,99	1,86	2,75	33 мин
Красителей Spermac Stain	2,43	2,78	2,81	1,88	20 мин

Согласно данным, представленным в таблице 2, головки сперматозоидов лучше окрашиваются азур-эозином по Романовскому и хуже азур-эозином по Лейшману (2,87 и 1,75 баллов соответственно). Шейка сперматозоидов окрашивается лучше всего красителями гематоксилином Гарриса и Spermac Stain, а азур-эозином по Нохту хуже всего (2,78 и 1,2 баллов соответственно). Краситель Вейгерта по сравнению с другими красителями наиболее чётко окрашивает хвостики сперматозоидов (2,85 баллов), а азур-эозин по Нохту хуже (1,14 баллов). Круглые клетки лучше окрашиваются гематоксилином Паппаниколау (2,75 баллов), и менее чётко гематоксилином Вейгерта (1,60 балла).

Так как распределение данных таблицы 2 является нормальным и значительных выбросов данных нет, то для вычета среднего уровня различных показателей, мы использовали такой показатель, как среднее значение.

Таблица 3. Среднее значение (μ) балльной оценки элементов сперматозоида, окрашенного разными методами окрашивания

Методы окрашивания	Среднее значение (μ)
Азур-эозин по Романовскому	1,85
Азур-эозином по Лейшману	1,76
Азур-эозином по Нохту	1,81
Гематоксилин Гарриса	2,62
Гематоксилин Майера	2,58
Гематоксилин Вейгерта	2,48
Окраска по Паппаниколау	2,30
Краситель Spermac Stain	2,50

Анализируя данные таблицы 3, можно сделать следующие вывод, что лучше всего окрашиваются препараты эякулята гематоксилинами Гарриса, Майера и красителем Spermac Stain (2,62, 2,58 и 2,5 баллов соответственно). Чуть хуже окрашиваются препараты спермы гематоксилином Вейгерта (2,48 баллов) и гематоксилином по Паппаниколау (2,3 баллов). Качество окрашивания азур-эозином по Романовскому и Нохту сопоставимы (1,85 и 1,81 баллов соответственно). И хуже всего качество окрашивания наблюдалось в препаратах, окрашенных азур-эозином по Лейшману (1,76 баллов).

Во многих красителях, широко распространённых и используемых в лабораториях при окраски цитологических препаратов, основными элементами являются гематоксилин, азур, а также их сочетание, и дополнительные элементы, такие как хлорид железа, алюмокалиевые квасцы, калий йодат и другие, которые могут влиять на окрашивание элементов эякулята.

В готовом окрашенном препарате наблюдается определенное химическое сродство отдельных клеточных структурных элементов с составными частями красителя. Так, например, окрашивание цитоплазмы клеток происходит в результате связывания оснований и белков кислотными красителями [5].

Двойное окрашивание гематоксилиновыми красителями и раствором эозина, а также азур-эозиновыми красителями дает хорошую ядерную окраску вследствие чего хорошо просматривается структура хроматина, с дополнительной окраской цитоплазмы и других структурных клеточных элементов. Использование гематоксилин-эозиновых и азур-эозиновых красителей хорошо визуализирует присутствие бактериальная флора и простейшие в мазках эякулята.

Большое влияние на качество окраски препаратов эякулята оказывает также способ фиксации. При влажной фиксации хорошо сохраняются ядра, клеточная мембрана и хорошо визуализируются клеточные структурные элементы.

Краситель Spermac Stain хорошо себя зарекомендовал при спермиологическом исследовании. При его использовании хорошо визуализируются все элементы сперматозоида (головка, шейка, хвостик), хорошо просматривается граница акросомы и ядра. Но ядра некоторых сперматозоидов в одном препарате, а в препаратах эякулята некоторых пациентов у большинства сперматозоидов не всегда хорошо прокрашиваются и имеют четкий красный цвет. Это зависит, как мы считаем, от свойств эякулята (присутствия лейкоцитов, слизи и других элементов) и от особенностей строения мембраны половых клеток. Круглые клетки в препаратах, окрашенных красителем Spermac Stain дифференцируются плохо, что является одним из недостатков данного красителя.

При окрашивании препаратов эякулята гематоксилинами Майера и Гарриса хорошо прокрашиваются все части сперматозоидов. Головка, шейка и хвостик половой клетки имеют четкие границы, хорошо просматривается акросома и граница с ядром. В препаратах, окрашенных гематоксилинами Гарриса хорошо дифференцируются круглые клетки, а при окраске гематоксилином Майера дифференциация круглых клеток несколько затруднена. При использовании гематоксилина Вейгерта оценка морфологических характеристик сперматозоидов затруднена из-за нечетких границ клеточных элементов и границы акросомы и яда. При использовании гематоксилинов Гарриса, Майера и Вейгерта при окрашивании препаратов эякулята необходимо учитывать, что длительность окрашивания мазков не должна превышать 5–7 минут. При увеличении длительности окрашивания происходит повреждение сперматозоидов - отделение головки от шейки, разрыв хвостиков – что существенно затрудняет морфологическую оценку гаметоцит. Кроме того, часто при использовании данных красителей наблюдается выпадение элементов красок в препарате, что также может повлиять на спермиологическое исследование и затруднить анализ и интерпретацию данных.

Окраска азури-эозином по Романовскому, Нохту и гематоксилином по Папаниколау сопоставима и также может использоваться при исследовании эякулята. Но при использовании данных методов окраски часто нет четкости при визуализации элементов мазка. Границы, структурные элементы головки и шейки не всегда четкие. Хорошо окрашивается хвостик сперматозоидов и круглые клетки эякулята, которые хорошо дифференцируются. Необходимо отметить, что при окрашивании гематоксилином по Папаниколау наблюдается чистый фон мазка, что в значительной степени облегчает морфологическую оценку сперматозоидов.

Наиболее затруднена морфологическая оценка эякулята при использовании азури-эозина по Лейшману. При данном способе окрашивания головка сперматозоидов и ее структурные элементы прокрашиваются плохо. Хвостик и шейка сперматозоидов прокрашивается хорошо. Дифференциация круглых клеток затруднена.

Окрашивание препаратов эякулята оказывает влияние на морфологические характеристики сперматозоидов и их морфометрию, оцениваемые при световой микроскопии. Это необходимо учитывать при рекомендации использования каких-либо методов окраски данного биоматериала в рутинной лабораторной практике. Качество морфологического анализа сперматозоидов влияет на диагностику и последующее лечение при инфертильных состояниях, а также на принятие решения об использовании вспомогательных репродуктивных технологий [6]. В последующем мы планируем оценить морфометрические характеристики половых клеток в препаратах, окрашенных рекомендованными нами методами окраски для сопоставления с известными критериями «идеального сперматозоида», рекомендованными ВОЗ, но разработанные для препаратов, окрашенных по Папаниколау.

Заключение. Сравнение различных методов окрашивания препаратов эякулята для последующей оценки морфологических характеристик сперматозоидов показало, что методы окрашивания эякулята наборами Гематоксилин Гарриса, Майера, Вейгерта и набором красителей Spermas Stain дают сопоставимые результаты, являются взаимозаменяемыми и могут использоваться в рутинной лабораторной практике.

В случае использования влажной фиксации целесообразно использовать методы окрашивания наборами Гематоксилин Гарриса, Майера, Вейгерта и Папаниколау.

Краситель азур-эозин по Лейшману недостаточно адекватно окрашивает сперматозоид и затрудняет морфологическую оценку эякулята.

Литература:

- [1]. Ниткин Д.М., Ракевич М.В., Юрага Т.М. и др. Мужское бесплодие: методы диагностики и консервативного лечения: учеб.-метод. Пособие. – Минск.: БелМАПО, 2016. 43с.
- [2]. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью: переведено с англ. М.: Капитал принт // Всемирная Организация Здравоохранения. № 5. 2010. 54 с.
- [3]. Коломиец А.О., Батуревич Л. В. Сравнительный анализ методов окрашивания эякулята // Новости медико-биологических наук. 2024. Т. 24, № 2. С.124–129.
- [4]. WHO Manual for the Examination and Processing of human semen // World Health Organization. Vol. 6. 2021. P. 49–60.
- [5]. Горбунова Т.К. Применение гематоксилина в микроскопической технике // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. 2008. Т. 7, № 1. С. 30–33.
- [6]. Czubaszek M., Andraszek K., Banaszewska D., Walczak-Jędrzejowska R. The effect of the staining technique on morphological and morphometric parameters of boar sperm // PLoS One. 2019. Vol. 14. № 3. P. e0214243.

A. O. MARKOVICH¹, L. V. BATUREVICH², D. M. NITKIN²

ASSESSMENT OF HUMAN SPERM MORPHOLOGY IN MICROSCOPIC SAMPLES STAINED BY VARIOUS METHODS

¹ Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

² Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Summary

Infertility is one of the global problems affecting many countries [1]. At the first stage of examination of men, spermiological examination is mandatory. Classic spermogram includes concentration and total number of spermatozoa, kinesisgram, determination of viability and morphological characteristics of sperm. Morphological features of spermatozoa affect male fertility [2]. Therefore, one of the criteria for assessing the quality of sperm recommended by the World Health Organization (WHO) is the number of spermatozoa with normal morphological characteristics. Since the proposed methods of staining the ejaculate for the purpose of further assessing the morphological characteristics of spermatozoa do not fully satisfy, standardization of the sperm staining procedure remains relevant. The presented article presents the results of new methods of staining the ejaculate in spermiological research, and evaluates them for possible use in routine laboratory practice.

Keywords: ejaculate, spermatozoon, morphological study, head, neck, tail.