

УДК 573.6:577.21-076

© Коллектив авторов, 2012.

АНАЛИЗ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ АНОМАЛИЕЙ МОРФОЛОГИИ И НАЛИЧИЕМ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ В ЯДРАХ СПЕРМАТОЗОИДОВ У МУЖЧИН С АСТЕНО-, ОЛИГО- И ТЕРАТОЗООСПЕРМИЕЙ

А. М. Феськов, Е. С. Жилкова, И. А. Феськова, Е. В. Сомова, А. Н. Зозулина

Центр репродукции человека «Клиника профессора Феськова А. М.» (директор – профессор А. М. Феськов), г. Харьков.

INVESTIGATION OF THE CORRELATION BETWEEN ABNORMAL SEMEN MORPHOLOGY AND THE PRESENCE OF CHROMOSOMAL ANEUPLOIDIES IN THE SPERMATOZOA NUCLEI FOR PATIENTS WITH ASTHENO-, OLIGO- AND TERATOZOOSPERMIA

O. M. Feskov, I. S. Zhyikova, I. A. Feskova, O. V. Somova, O. M. Zozulina

SUMMARY

The correlation between semen morphology and the maturation process is investigated. The content of semen chromosomal aneuploidies is in 2 times higher for patients with oligozoospermia ($p < 0,05$). The correlation between the presence of chromosomal aneuploidies in the sperm nuclei and the process of the sperm maturation was found out. The result of the morphological sperm analysis gives no information about genetic abnormalities in semen nuclei.

АНАЛІЗ КОРЕЛЯЦІЇ МІЖ АНОМАЛІЄЮ МОРФОЛОГІЇ Й НАЯВНІСТЮ ХРОМОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ У ЯДРАХ СПЕРМАТОЗОЇДІВ У ЧОЛОВІКІВ З АСТЕНО-, ОЛІГО- ТА ТЕРАТОЗООСПЕРМІЄЮ

О. М. Феськов, Е. С. Жилкова, І. А. Феськова, О. В. Сомова, О. М. Зозуліна

РЕЗЮМЕ

Досліджено зв'язок між морфологічною структурою сперматозоїдів та їхнім процесом дозрівання. У пацієнтів з олігозооспермією майже в 2 рази частіше ($p < 0,05$) виявляються анеуплоїдії в ядрах сперматозоїдів. Встановлено зв'язок між наявністю хромосомних аномалій у спермі та процесом визрівання сперматозоїдів. Морфологічний аналіз сперматозоїдів не дає інформації про наявність генетичних порушень у ядрах сперматозоїдів.

Ключевые слова: анеуплоидия, олигозооспермия, FISH, морфология сперматозоидов.

Согласно европейской статистике, в 40,00% случаев причиной бесплодия является мужской фактор. Одной из причин мужского бесплодия может быть генетический фактор. При этом морфологический анализ сперматозоидов не дает информации о наличии хромосомных или генных отклонений в ядрах сперматозоидов. Развитие и применение метода флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) позволило исследовать наличие хромосомных анеуплоидий в ядрах сперматозоидов человека. Одновременное использование нескольких ДНК-зондов дает возможность исследовать наличие анеуплоидий сразу по нескольким хромосомам в ядрах сперматозоидов одного пациента [1]. Известно, что наиболее часто встречающимися анеуплоидиями в ядрах сперматозоидов являются хромосомные аномалии по половым (X, Y) и 18-й хромосомам [1, 3]. Поэтому, кроме морфологических особенностей сперматозоидов, был проведен анализ на наличие анеуплоидий по хромосомам X, Y и 18.

Целью данной работы было исследовать связь между морфологической структурой сперматозоидов и наличием хромосомных аномалий в их ядрах у пациентов с астено-, олиго- и тератозооспермией [5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы было исследовано 70 образцов спермы мужчин (средний возраст $38,7 \pm 5,2$ лет) с бесплодием. Морфологический анализ сперматозоидов был проведен с помощью программы OSTAХ Cyto-Screen (MTG, Германия), позволяющей исследовать живые сперматозоиды (без приготовления окрашенных препаратов) при увеличении в 6300 раз и учитывать не только форму и размер головок, но и размеры акросомы, наличие больших и малых вакуолей и отдельные виды патологии шеи. Каждый образец оценивался по 10-бальной шкале (7-10 баллов – норма) [4]. Исследование морфологических особенностей сперматозоидов производилось на микроскопе Nikon Eclipse TE 2000 S. Изучение хромосомных аномалий в ядрах сперматозоидов по X (Spectrum

Green), Y (Spectrum Orange) и 18-й (Spectrum Aqua) хромосомам проводилось методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с использованием флуоресцентных ДНК-зондов (Vysis, США). Анализ ядер сперматозоидов на предмет наличия хромосомных аномалий методом FISH проводился согласно протоколу, рекомендуемому Vysis (США) [2]. Оценка результата проводилась с помощью флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse 80i. Выявленные в ядрах сперматозоидов хромосомные аномалии были зафиксированы с помощью программы Lucia Cytogenetics (Laboratory Imaging, Чехия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу (32 человека) составили пациенты, у которых содержание анеуплоидий в ядрах сперматозоидов по половым и 18-й хромосомам превысило 1,0%. Среди пациентов первой группы олигозооспермия выявлена у 31,20% мужчин, астенозооспермия – у 50,00% мужчин, тератозооспермия – у 9,40% пациентов. Нормозооспермия наблюдалась у 9,40% пациентов. Во вторую группу (38 человек) вошли пациенты, у которых количество анеуплоидий в ядрах сперматозоидов не превышало 0,20% (при норме – менее 0,25%) [5]. При этом оли-

гозооспермия диагностировалась в 15,75% случаев, астенозооспермия – в 47,40% случаев, тератозооспермия – у 15,75% пациентов. Нормозооспермия выявлена в 21,10% случаев (табл. 1).

Обнаружено, что у пациентов первой группы уровень патологических форм головок сперматозоидов составил в среднем 45,20%, хвоста – 8,20%, шеи – 28,20%. У пациентов второй группы процентное содержание сперматозоидов с указанными видами патологии достоверно не отличалось от первой. Однако, при этом, содержание сперматозоидов, несущих цитоплазматическую каплю (что характерно для незрелых форм), у пациентов первой группы было в 1,5 раза больше, чем у пациентов второй группы ($p < 0,05$), что может свидетельствовать о повышенном количестве незрелых спермиев у мужчин с анеуплоидией. Установлено, что у пациентов с олигозооспермией наличие патологий по половым и 18-й хромосомам наблюдалось в 2 раза чаще, чем у пациентов с нормальной концентрацией сперматозоидов. При этом характер найденных анеуплоидий совпадал в обеих группах: дисомия ядер по половым хромосомам, дисомия по 18-й хромосоме, наличие одновременно анеуплоидий по половым и 18-й хромосомам (рис. 1, 2).

Таблица 1

Содержание анеуплоидий сперматозоидов у мужчин с различными видами патоспермии

Заключение спермограммы	Содержание анеуплоидий более 1,0%	Содержание анеуплоидий не более 0,2%
Олигозооспермия	31,20%	15,75%
Астенозооспермия	50,00%	47,40%
Тератозооспермия	9,40%	15,75%
Нормозооспермия	9,40%	21,10%

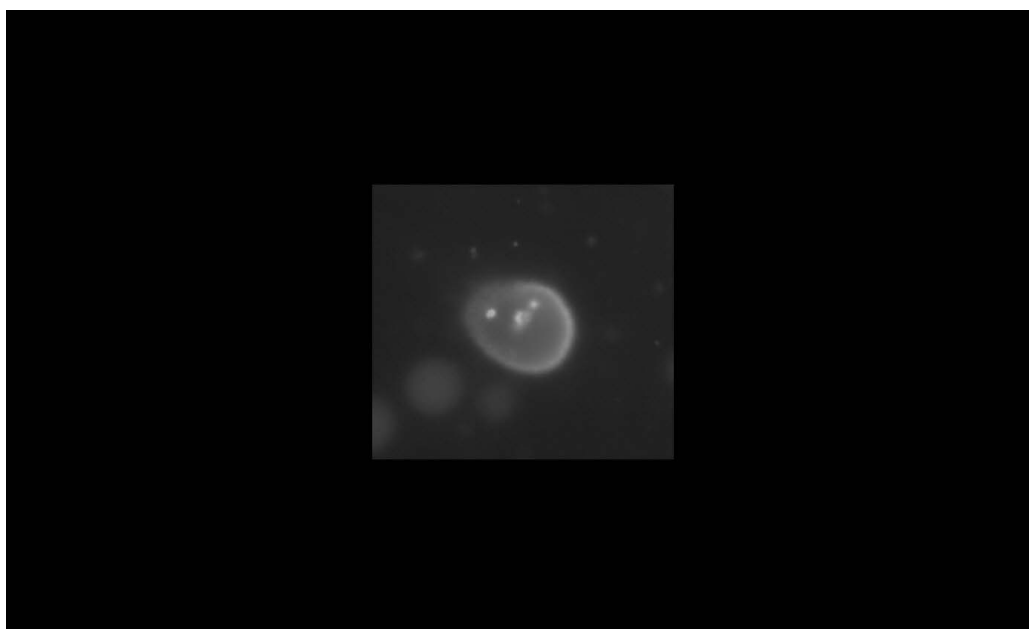


Рис. 1. Дисомия по хромосоме Y (красные сигналы).

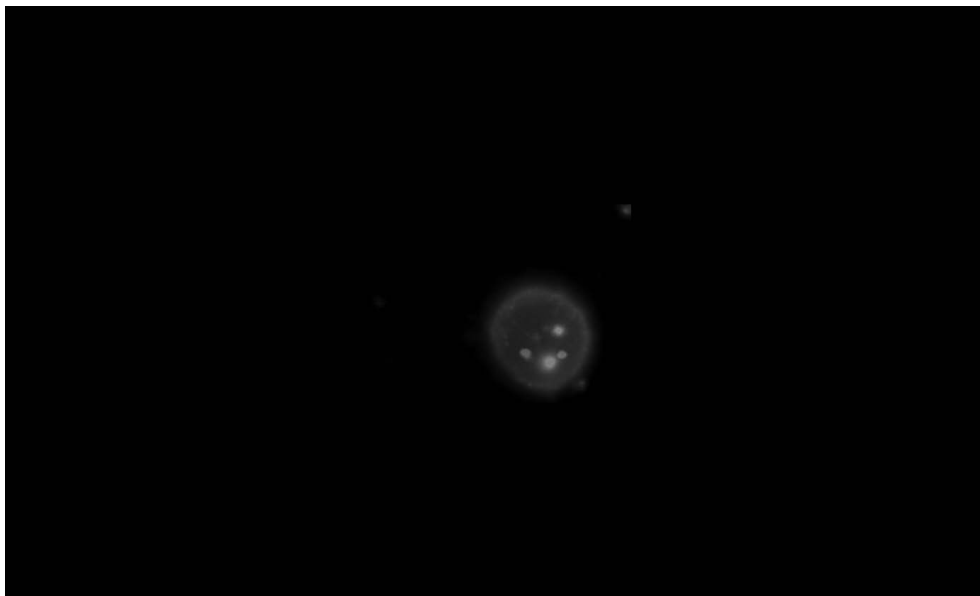


Рис. 2. Дисомия по половым и 18-й хромосомам.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования установлено наличие связи между присутствием хромосомных аномалий и процессом созревания сперматозоидов.

2. Заключение о сниженной концентрации сперматозоидов у пациента является показанием к обследованию на наличие хромосомных аномалий в ядрах сперматозоидов для выбора правильной тактики лечения бесплодия пары. При этом морфологический анализ сперматозоидов не дает информации о наличии генетических отклонений в ядрах сперматозоидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лечение женского и мужского бесплодия. Вспомогательные репродуктивные технологии / под ред. В. И. Кулакова, Б. В. Леонова, Л. Н. Кузмичева. – М. : МИА, 2005. – 592 с.

2. Downie Sarah E. Detection of chromosomes and

estimation of aneuploidy in human spermatozoa using fluorescence in-situ hybridization / Sarah E. Downie, Sean P. Flaherty, D. Colin // *Molecular Human Reproduction*. – 1997. – Vol. 3, № 7. – P. 585–598.

3. Interest of a new morphological classification of human spermatozoa for ICSI allowing to obtain a better blastocyst score / G. N. Cassuto, J. M. Plouchart, R. Balet [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2007. – Vol. 22, Sup. 1. – P. 1113.

4. FISH analysis of chromosome X, Y and 18 abnormalities in testicular sperm from azoospermic patients / I. Materizel, G. Verheyen, E. Van Assche [et al.] // *Human Reproduction*. – 2002. – Vol. 17, № 9. – P. 2249–2257.

5. Sperm-FISH analysis in a pericentric chromosome 1 inversion, 46,XY,inv(1)(p22q42), associated with infertility / S. Chantot-Bastarud, C. Ravel, I. Berthaut [et al.] // *Molecular Human Reproduction*. – 2007. – Vol. 13, № 1. – P. 55–59.