

ДНК-ФРАГМЕНТАЦИЯ – СКРИНИНГОВЫЙ МЕТОД ОБСЛЕДОВАНИЯ МУЖЧИН С ИДИОПАТИЧЕСКИМ БЕСПЛОДИЕМ

*Коломиец А.О., Журко П.Т., Батуревич Л.В.
Научно-исследовательская лаборатория ГУО «Белорусская
медицинская академия последипломного образования»,
Беларусь, Минск*

В данной публикации рассматривается корреляционная зависимость результатов исследования, полученных методом ДНК-фрагментации, отражающий нарушение целостности генома сперматозоидов, и основных показателей спермограммы. Результаты исследования, представленные в данной статье, могут быть использованы при диагностике причин инфертильности у мужчин с бесплодием и при выборе вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: мужское бесплодие; сперматозоид; ДНК-фрагментация; индекс дегградации; индекс фрагментации.

DNA FRAGMENTATION - A SCREENING METHOD FOR EXAMINATION OF MEN WITH IDIOPATHIC INFERTILITY

*Kolomiets A.O., Zhurko P.T., Baturevich L.V.
Research laboratory of the State Educational Establishment "Belarusian Medical
Academy of Postgraduate Education",
Belarus, Minsk*

This publication examines the correlation dependence of the results of the study obtained by the method of DNA fragmentation, which reflects the violation of the integrity of the sperm genome, and the main indicators of the spermogram. The results of the study presented in this article can be used in diagnosing the causes of infertility in men with infertility and in choosing assisted reproductive technologies.

Key words: male infertility; sperm; DNA fragmentation; degradation index; fragmentation index.

Около 25% семейных пар страдают бесплодием, среди них 15% получают лечение в течении многих лет, и, несмотря на это, 5% остаются бесплодными. Примерно 40% случаев приходится на мужское бесплодие, 40% — на женское, ещё 20% — на смешанное. Нарушение фертильности – это социальная проблема, ухудшающая демографические показатели любой страны [1,2].

Причины мужского бесплодия разнообразны и не всегда ясны. Около 25% от всех причин мужского бесплодия – это генетические аномалии. У 30%

мужчин с диагнозом «идиопатическое бесплодие», имеются те или иные сбои в работе генов, отвечающих за сперматогенез. Поэтому генетические исследования при поиске причин бесплодия являются актуальными и позволяют с разумной осторожностью относиться к применению вспомогательных репродуктивных технологий [3]. Во многих случаях причины мужского бесплодия устранимы, и только адекватно проведенные диагностические мероприятия и назначенное патогенетически обоснованное лечение позволит иметь биологически здоровых детей [4].

Цель. Определить связь ДНК-фрагментации сперматозоидов с их морфологическими параметрами в спермограмме.

Материалы и методы. Исследован эякулят 105 мужчин в возрасте от 23 до 55 лет, страдающих бесплодием. Первая группа мужчин – это группа сравнения с нормозооспермией, вторая группа мужчин – исследуемая группа с олигозооспермией.

Оценка фрагментации и деградации ДНК сперматозоидов осуществлялась с помощью набора Halosperm G2 компании Halotech DNA (Мадрид, Испания).

Принцип теста: интактную нефиксированную сперму погружали в инертный агарозный микрогель (ACS) на предварительно обработанном предметном стекле. Начальная кислотная обработка (DA) денатурировала ДНК в сперматозоидах с фрагментированной ДНК. После этого лизирующий раствор (LS) удалял большинство ядерных белков. Препарат промывали и фиксировали (70% и 100% этанолом). Для визуализации использовали растворы для окрашивания эозином (SSA) и тиразином (SSB). При наличии массивных разрывов ДНК нуклеотиды у сперматозоидов с фрагментированной ДНК либо отсутствовал ореол (гало) дисперсии, либо ореол (гало) был минимальным. С учетом наличия и характеристики гало подсчитывались индексы фрагментации и деградации ДНК сперматозоидов.

Индекс фрагментации ДНК сперматозоидов (SDFI) оценивался, используя референтные значения:

- низкий SDFI <15%;
- средний SDFI 15 - 30%;
- высокий SDFI > 30%.

Индекс деградации ДНК сперматозоидов считался нормальным <30%.

Диагностическая чувствительность и специфичность теста составляет 93%.

Результаты и выводы. Полученные показатели ДНК-фрагментации были использованы для оценки характера корреляционных связей с такими показателями спермограммы как морфология и подвижность.

При сопоставлении индексов фрагментации и деградации ДНК, количества сперматозоидов с нормальной морфологией и подвижностью сперматозоидов у пациентов исследуемой группы и группы сравнения было выявлено:

- наличие средней отрицательной корреляционной связи индекса фрагментации с показателем подвижности сперматозоидов в семенной жидкости как у пациентов группы сравнения ($r = -0,504$), так и у пациентов исследуемой группы ($r = -0,641$),

- отсутствие корреляционной связи между индексом деградации и показателями спермограммы (подвижность, морфология) в обеих группах,

- у пациентов группы сравнения различные корреляционные взаимосвязи с количеством подвижных сперматозоидов и количеством сперматозоидов, имеющих разную величину гало (с большим гало ($r = 0,532$), с средним гало ($r = 0,283$), с малым гало ($r = -0,421$), без гало ($r = -0,312$)) и деградированными сперматозоидами ($r = -0,233$),

- у пациентов исследуемой группы зависимость наблюдалась только между показателем подвижности и индексом деградации сперматозоидами ($r = -0,610$).

Выводы:

1. Индекс фрагментации и деградации ДНК сперматозоидов связан с показателями подвижности сперматозоидов (чем выше подвижность сперматозоидов в эякуляте, тем ниже индексы фрагментации и деградации ДНК сперматозоидов).

2. Анализ данных показал, что с количеством морфологически нормальными сперматозоидами индексы фрагментации и деградации ДНК сперматозоидов не коррелируют.

3. Метод ДНК фрагментации сперматозоид – скрининговый метод, необходимый при планировании использования вспомогательных репродуктивных технологий, позволяющий прогнозировать положительный исход данных манипуляций.

4. У мужчин с олигозооспермией метод ДНК-фрагментации позволяет определить наличие генетических аномалий.

Список литературы

1. Долгов, В.В. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В.В. Долгов, С.А. Луговская, Н.Д. Фанченко. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2006. – 145 с.

2. Gary, L. N. Chromosomal disorders and male infertility / L.N. Gary, H.G. Tempest // Asian Journal of Andrology. — 2012. – Vol. 14. – P. 32-39.

3. Вартамян, Э.В. Генетические факторы мужского бесплодия / Э.В. Вартамян, А.Н. Петрин, Т.Р. Курносова // Проблемы репродукции. – 2010. – № 2. – С. 74-78.

4. Бойко, Н.И. Сексология и андрология / Н.И. Бойко, Ю.А. Борисенко, А.А. Быстров. – К.: Абрис, 1997. – 880 с.