

## Морфологические маркеры фрагментации ДНК сперматозоида

*Мазилкина Мария Алексеевна*

*Студент (магистр)*

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: mashamazilina@gmail.com*

В клинической практике для исследования эякулята широко применяется стандартный спермиологический анализ, в ходе которого оцениваются концентрация, подвижность и морфология сперматозоидов. Однако данное исследование отражает морфо-функциональные характеристики мужских половых клеток и не дает представления о геноме и эпигеноме сперматозоида.

Поиск морфологических маркеров, характеризующих состояние генома мужских гамет особенно актуален в связи с использованием вспомогательных репродуктивных технологий, где выбор сперматозоида для оплодотворения основывается на его морфологических и биохимических характеристиках. Нарушения генома и эпигенома сперматозоида вносят заметный вклад в патологию раннего эмбрионального развития. К настоящему моменту показано, что нарушение целостности ДНК сперматозоида снижает его оплодотворяющую способность, а также является одной из основных причин, приводящих к снижению качества эмбрионов, частоты имплантации и наступления беременностей [2].

Целью настоящей работы было выявить морфологические маркеры фрагментации ДНК сперматозоида. В качестве материала исследования были использованы образцы эякулята 80 пациентов с нарушением фертильности и 8 доноров спермы.

Для всех пациентов был проведен стандартный спермиологический анализ в соответствии с критериями ВОЗ [3]. Согласно строгому критерию Крюгера был проведен анализ морфологических форм головок сперматозоидов, для каждого пациента выделен класс с наибольшей частотой встречаемости. Были выделены следующие формы головок: нормальная, с небольшой патологией, маленькая, большая, удлинённая, грушевидная, вакуолизирующаяся, аморфная, двойная, точечная, округлая, с патологией акросомы [1].

Для всех пациентов была проведена оценка фрагментации ДНК сперматозоидов методом флуоресцентного мечения одно- и двунитевых разрывов ДНК - метод Terminal deoxynucleotidil transferase (TdT)-mediated dUTP Nick End Labelling (TUNEL assay).

Показано, что в группе пациентов, в эякуляте которых преобладали вакуолизирующиеся головки, доля сперматозоидов с фрагментированной ДНК составила  $1,31 \pm 0,30\%$  и была достоверно выше в контрольной группе доноров спермы  $0,21 \pm 0,04\%$  ( $p=0,02$ ). При сравнении доли сперматозоидов с фрагментированной ДНК у пациентов с другими преобладающими формами головок в эякуляте с соответствующими показателями контрольной группы достоверных отличий обнаружено не было ( $p>0,05$ ).

Также с помощью микроманипуляционного оборудования из эякулята пациентов были выбраны индивидуальные сперматозоиды с вакуолизирующимися ( $n=196$ ) и нормальными формами головки ( $n=89$ ). Было показано, что уровень фрагментации ДНК среди сперматозоидов с вакуолизирующейся головкой значительно выше  $14,29\%$  ( $n=28$ ), чем среди сперматозоидов с нормальной морфологией  $1,12\%$  ( $n=1$ ) ( $p=0,0008$ ).

По результатам данного исследования можно сделать вывод о том, что вакуоли в головке сперматозоида ассоциированы с фрагментацией его ДНК.

## Источники и литература

- 1) Kruger T.F. et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization // Fertil. Steril. 1986. Т. 46. № 6. P. 1118–23.
- 2) Shamsi M.B. et al. Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction // Indian J. Med. Res. 2008. № 2. P.115–23.
- 3) WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen // Geneva: World Health Organization press. 2010. P. 26, 44, 100.

**Слова благодарности**

Авторы выражают благодарность Шильниковой Е.М., Федоровой И.Д., Гзгзяну А.М. и Баранову В.С.