

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ ЧАСТИЧНЫХ МИКРОДЕЛЕЦИЙ *AZFc*-  
ЛОКУСА Y-ХРОМОСОМЫ В ПОПУЛЯЦИИ МУЖЧИН ГОРОДА КЕМЕРОВО**

**Перепечай Я.И.**

**научный руководитель канд. биол. наук, Маркова Е.В.**

*Сибирский федеральный университет*

*Красноярский центр репродуктивной медицины (КЦРМ)*

В настоящее время многими исследователями сообщается о снижении фертильности мужчин во всем мире. Также наблюдается тенденция ослабления норм фертильного эякулята. В 2010 году Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) внесла изменения в референсные значения показателей эякулята. Согласно этому протоколу объем эякулята, принимаемый за норму снизился с 2 мл в 1999г до 1,5 мл, минимальные показатели концентрации сперматозоидов, принимаемой за норму, снизилась с 20 млн./мл до 15 млн./мл.

Нарушения сперматогенеза могут быть обусловлены различными причинами, среди которых важную роль играют генетические дефекты. На сегодняшний день выявлено много генетических факторов мужского бесплодия: количественные и качественные аномалии кариотипа и генные нарушения. Считается, что в 7-30% случаев причиной необструктивной азооспермии и тяжелой олигозооспермии являются делеции эухроматинового района длинного плеча Y-хромосомы (Yq11). Роль частичных микроделеций *AZFc* локуса Y-хромосомы пока до конца не установлена. Хотя частичные *AZFc* микроделеции могут быть найдены и у здоровых мужчин, с большей частотой они обнаруживаются у пациентов с нарушением сперматогенеза. Большинство исследователей ассоциируют данный тип делеций со снижением фертильности мужчины. Выделяют несколько типов частичных *AZFc*-микроделеций: gr/gr, b2/b3, b1/b3.

Большой интерес представляют популяционные исследования распространенности частичных микроделеций Y-хромосомы, с целью выявления их вклада в потенциальную фертильность мужчин, проживающих на той или иной территории. До настоящего времени исследования распространенности частичных микроделеций *AZFc*-локуса Y хромосомы в Сибирском регионе не проводились.

Целью данной работы являлось исследовать частоту частичных микроделеций *AZFc*-локуса Y-хромосомы в популяции мужчин проживающих в г. Кемерово.

### **Материалы и методы**

Набор клинического материала проводился на базе Института цитологии и генетики СО РАН г. Новосибирска. Объектом исследования были 268 молодых мужчин, не имеющие детей и не знающие свой репродуктивный статус, проживающие в г. Кемерово не менее пяти лет. У каждого испытуемого брали венозную кровь, из которой выделяли ДНК методом фенол-хлороформной экстракции.

Анализ частичных микроделеций *AZFc*-локуса Y хромосомы проводили в два этапа. На первом этапе исследовались локусы *sY1191* и *sY1291*, а так же гены *AMG* и *SRY* для идентификации пола. На втором этапе проводилось исследование локусов *sY142*, *sY1161*, *sY1197*, *sY1201*, *sY1206*, *sY1258* для тех мужчин, у которых были выявлены делеции локусов *sY1191* и/или *sY1291* на первом этапе. При постановке ПЦР использовали положительные и отрицательные контроли. Положительный контроль –

образец ДНК, дающий в ПЦР известный результат. В качестве отрицательного контроля, не содержащего ДНК, использовали деионизированную воду.

Детекцию ПЦР-продуктов проводили в 7% полиакриламидном геле в присутствии маркера молекулярного веса  $pUC19/MspI$ . Окрашенные красителем GelRed гели просматривали с помощью гель-документирующей системы GelDoc (BioRad).

О наличии делеции конкретного локуса судили по отсутствию ПЦР-продукта в двух повторностях. Достоверность различий между частотами оценивали по методу хи-квадрат в программе «Статистика».

## Результаты и их обсуждение

Анализ генов *AMG* и *SRY* подтвердил мужской пол всех исследуемых образцов ДНК.

Среди 263 обследованных мужчин, частичные микроделеции локуса *AZFc* были обнаружены у 11 человек, что составило 4,18%. Наш результат близок к данным полученным другими учеными для групп фертильных мужчин: 6% и субфертильных мужчин 3,7%.

В структуре частичных микроделеций наиболее часто встречались *gr/gr* делеции (45,45%) и *b2/b3* (45,45%), в 9,09% случаев наблюдались *b1/b3* делеции (рис.1).

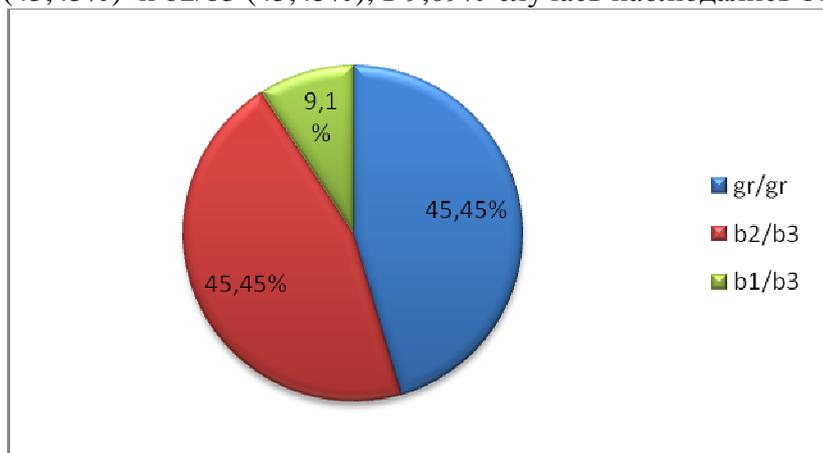


Рисунок 1 – Частота встречаемости отдельных типов частичных *AZFc* микроделеций в популяции г. Кемерово.

В нашем исследовании *gr/gr* делеции были обнаружены у 5 человек, что составляет 1,9% , *b2/b3* также выявлены у 1,9%, а *b1/b3* делеция детектирована у 1 человека (0,38%).

В таблице 1 приведен сравнительный анализ, полученных нами результатов с данными литературы.

Таблица 1 – Распространенность различных типов частичных AZFc делеций по данным разных исследований.

Исследование		N	Частота AZFc делеции		
Авторы	Группы		gr/gr	b2/b3	b1/b3
Noordam et al, 2011	субфертильные мужчины	840	2,62%	0,48% p=0,02	0,12%
Giachini et al, 2005	патоспермия	150	5,33% p=0,04	1,30%	0%
	нормоспермия	189	0,53%	0,50%	0%
Исламова, 2007	патозооспермия	125	19% p<0,001	2%	0%
	фертильные	304	17% p<0,001	0,30%	0%
Ho-su Sin et al, 2010	азооспермия	254	35,04% p<0,001	н/д	н/д
	олигозооспермия	141	28,37% p<0,001	н/д	н/д
	фертильные с нормозооспермией	377	3,45%	н/д	н/д
Hucklenbroich et al, 2005	патозооспермия	348	4,02%	0,57%	0,29%
	нормозооспермия	170	1,77%	2,94%	0,59%
Наши результаты г. Кемерово	мужчины с неустановленной фертильностью	263	1,90%	1,90%	0,38%

p - достоверность различий частоты AZFc микроделеций в популяции г. Кемерово от литературных данных; н/д – нет данных.

Сравнение полученных нами данных с данными литературы показывает, что распространенность gr/gr делеций в популяции города Кемерово не отличается от аналогичных показателей при нормозооспермии и субфертильности. Исключение составляют данные Исламовой, которые демонстрируют высокую частоту субмикроделеций (17%) в группе фертильных мужчин. Частота gr/gr делеций нашей группы мужчин с частотой в группах ниже, чем аналогичный показатель в группах с нарушениями сперматогенеза.

Встречаемость b2/b3 микроделеций у исследуемых нами мужчин не отличалась от большинства частот, представленных различными исследователями для контрольных групп и групп с патоспермией. Распространенность b1/b3 делеций в нашем исследовании также не имела достоверных отличий как от групп контроля, так и от пациентов с патозооспермией.

## Выводы

1. Частичные микроделеции AZFc локуса Y хромосомы были обнаружены у 4,18% мужчин города Кемерово.

2. В структуре частичных микроделеций AZFc локуса gr/gr и b2/b3 делеции составили по 45,5%, b1/b3 – 9,09%.