

**CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY OF CORVITIN AND LIPOFLAVON  
IN COMBINATION WITH ACUTE ALCOHOL INTOXICATION  
AND CRANIOCEREBRAL INJURY IN EXPERIMENT**

Zhilyayev S.A, Shtrygol S.Yu.

**Summary.** Cerebroprotective activity of quercetin preparations – corvitin (water soluble form) and lipoflavon (liposomal form) in traumatic brain disease in combination with acute alcohol intoxication have been studied. Lipoflavon, in acute period of traumatic brain injury, restores the vertical motor activity most efficiently, on the 14-th day – research activity, coordination of movements and emotional state. Corvitin, in the most acute period of traumatic brain injury, restores the horizontal motor activity and coordination of movements more efficiently, on the 14th day – the vertical motor activity, emotional state, physical stamina and coordination of movements.

**Key words:** craniocerebral trauma, quercetin, corvitin, lipoflavon, alcohol intoxication

*Отримано до редакції 19.12.12*

УДК 616.697:575.1

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРИЧИН  
МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ**

Зяблицев С.В., Кишеня М.С., Чернобривцев П.А., Пищулина С.В.  
*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького*

**Резюме.** Одной из наиболее частых генетических причин бесплодия у мужчин являются делеции в локусе AZF, локализованном на длинном плече Y-хромосомы (Yq11), которые приводят к различной степени нарушения сперматогенеза. Из 60 мужчин с бесплодием делеции Y-хромосомы выявлены у 2: микроделеции в субрегионе AZFс. Показана роль делеций локуса Yq11 в этиологии нарушения сперматогенеза и бесплодия у мужчин.

**Ключевые слова:** сперматогенез, мужское бесплодие, делеции хромосом

По данным ВОЗ бесплодие становится наиболее серьезным заболеванием XXI века после онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Бесплодием страдают 15-20 % пар репродуктивного возраста. Примерно в половине случаев бесплоден мужчина. Генетические факторы являются одной из частых причин нарушения функции органов репродуктивной системы. Частота цитогенетических нарушений составляет от 2,1 до 28,4 % у бесплодных мужчин и 0,7-1 % в общей популяции мужчин [1-4]. Причинами бесплодия могут являться хромосомные аномалии, микроструктурные перестройки и генные мутации. Так, генетические факторы обуславливают 30 – 50 %

всех случаев тяжелых форм бесплодия у мужчин. Нарушения генов Y-хромосомы, контролирующих сперматогенез, вызывают нарушение подвижности, морфологических и фертильных свойств сперматозоидов, угнетение сперматогенеза от небольшого снижения сперматогенной активности до полного отсутствия половых клеток в семенных канальцах – синдром «только клетки Сертоли» (СКС) [1-5]. За контроль, регуляцию и реализацию сперматогенеза у человека отвечают более 2000 генов, среди которых одно из центральных мест занимают гены Y-хромосомы. Микроделеции локуса AZF (Azoospermia Factor) – "фактора азооспермии" являются одной из наиболее частых генетических причин бесплодия у мужчин при таких формах нарушения сперматогенеза, как азооспермия и олигозооспермия тяжелой степени. Гены, контролирующие сперматогенез, локализованы на длинном плече Y-хромосомы (Yq11).

### **Материал и методы**

Проведено комплексное спермиологическое и молекулярно-генетическое обследование у 60 мужчин с бесплодием. Исследование эякулята проведено с помощью анализатора «Spermograph» (Израиль). Изучали общее количество сперматозоидов, количество подвижных сперматозоидов.

Исследованы образцы ДНК, выделенной из крови 60 мужчин с бесплодием, а также 37 фертильных мужчин. ДНК-диагностику проводили в отделе молекулярно-генетических исследований ЦНИЛ ДонНМУ им. М. Горького. Кровь получали методом венепункции в одноразовые пластиковые пробирки «Vacutainer» с консервантом (0,5М раствор ЭДТА). ДНК выделяли из лейкоцитов крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь». Мультиплексную полимеразную цепную реакцию (МПЦР) проводили на программируемом амплификаторе «Gene Amp® PCR System 2400» (Applied Biosystems, США). Использовали набор «AZF-микроделеции» производства НПФ «ЛИТЕХ» (РФ, Москва). Набор праймеров, использованных на данном этапе, позволил исследовать 8 маркеров, специфичных для AZF-локуса: sY84 (AZFa) и sY86 (AZFa), sY127 (AZFb) и sY134 (AZFb), sY254 (AZFc) и sY255 (AZFc) (см. табл. 1). В качестве внутреннего контроля использовали гены SRY (ген Y-хромосомы, определяющий пол) и ZFY/X (ген «цинковых пальцев», присутствующий как на Y, так и на X хромосоме). В качестве «внешнего положительного» контроля использовали ДНК фертильного мужчины (контроль специфичности и чувствительности реакции), а внешнего отрицательного (контроль контаминации образцов ДНК) – смесь реагентов, в которой вместо

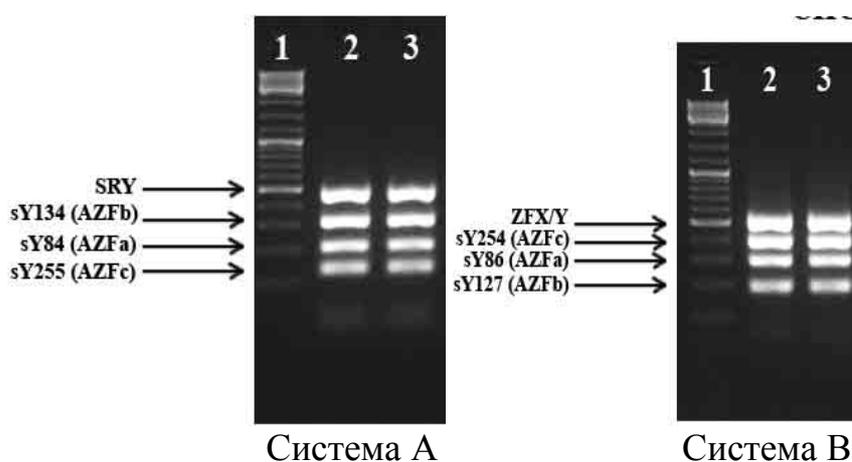
ДНК вносили деионизированную воду. ПЦР проводили в следующем режиме: первоначальная денатурация 94°C – 2 мин, 93°C – 10 с, 65°C – 10 с, 72°C – 20 с, финальная элонгация 72°C – 2 мин. Детекцию амплифицированных фрагментов производили путем электрофореза в 2 %-ном агарозном геле, окрашенном в бромистом этидии. Визуализацию результатов проводили в ультрафиолетовом трансиллюминаторе "TFX-20.M" ("Vilber Lourmat", Франция).

### Результаты и их обсуждение

Среди обследованных мужчин с бесплодием азооспермия обнаружена у 10 человек (17 %), олигозооспермия тяжелой степени (количество сперматозоидов менее 5 млн/мл) у 29 человек (48 %), астенотератозооспермия и другие формы патозооспермии у 21 мужчины (35 %). Делеции локуса AZF были обнаружены у 2 мужчин (в 3,33 % случаев). Делеции Y-хромосомы были выявлены у пациентов с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени. Ни одной Y-делеции не было обнаружено в контрольной группе фертильных мужчин, а также среди пациентов с патозооспермией.

**Таблица 1.** Длины амплифицируемых фрагментов:

| Система А                 |                       | Система В                 |                       |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| Название локуса           | Длина фрагмента, п.н. | Название локуса           | Длина фрагмента, п.н. |
| ZFY/X                     | 507                   | SRY                       | 479                   |
| sY254 (AZF <sub>C</sub> ) | 391                   | sY134 (AZF <sub>B</sub> ) | 318                   |
| sY86 (AZF <sub>A</sub> )  | 293                   | sY84 (AZF <sub>A</sub> )  | 205                   |
| sY127 (AZF <sub>B</sub> ) | 190                   | sY255 (AZF <sub>C</sub> ) | 129                   |



**Рис. 1.** Электрофореграмма результатов анализа

Примечания: 1 – маркер молекулярной массы,  
2 – контрольный образец ДНК,  
3 – образец ДНК без делеций

Обнаруженные в ходе исследования микроделеции располагались в AZFc-субрегионе. При спермиологическом исследовании были выявлены сниженная активность сперматогенеза и блок на уровне сперматид. У пациента с азооспермией сперматозоиды отсутствовали, у второго пациента – количество сперматозоидов в эякуляте составляло 2 млн/мл. По данным литературы микроделеции AZFa-субрегиона чаще всего связаны с азооспермией и отсутствием половых клеток в извитых семенных канальцах – с СКС [4,5,6].

При делециях, захватывающих субрегионы AZFb и AZFc, у мужчин выявляются азооспермия и СКС. Определение зависимости степени нарушения сперматогенеза от размера и локализации делеций может иметь прогностическое значение в возможности получения сперматозоидов, пригодных для проведения ICSI (Intra Cytoplasmic Sperm Injection)– инъекцией сперматозоида в цитоплазму ооцита. [3, 5, 7]. Наличие делеций, захватывающих субрегионы AZFa или AZFb, указывает на невозможность получения зрелых половых клеток, а у пациентов с делециями AZFc (при биопсии яичка) примерно в 50-70 % случаев удается получить зрелые сперматозоиды [7, 8].

Одной из проблем в клиническом ведении пациентов с делециями локуса AZF является возможность прогрессирования возрастных нарушений сперматогенеза [3, 8] от олигозооспермии до азооспермии. Таким пациентам рекомендована криоконсервация полученных сперматозоидов [7].

### **Выводы**

Мужчинам с бесплодием при количестве сперматозоидов в эякуляте менее 5 млн/мл, а также мужчинам из супружеских пар с бесплодием, которым планируется программа ЭКО или ICSI необходимо проведение цитологического, гистологического исследования эякулята или биопсийного материала яичка, анализа микроделеций Y-хромосомы. Обнаружение микроделеций Y-хромосомы позволяет установить генетическую причину нарушения сперматогенеза, избежать необоснованного лечения бесплодия у мужчин с микроделециями локуса AZF, а также прогнозировать вероятность получения сперматозоидов для проведения ЭКО/ ICSI.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Гоголевский П. А. Y-хромосома и мужское бесплодие (обзор литературы) / П. А. Гоголевский, И. К. Гоголевская // Пробл. репрод. – 1999. — Т. 5, № 5. – С. 26–34.
2. Комплексное клиничко-генетическое обследование пациентов с азооспермией или олигозооспермией неясной этиологии / В. Б. Черных, Л.

- Ф. Курило, И. К. Гоголевская [и др.] // Пробл. репрод. – 2001. – Т. 7, № 3. – С. 58–63.
3. Черных В. Б. Y-хромосома, AZF-микроделеции и идиопатическое бесплодие у мужчин / В. Б. Черных, Л. Ф. Курило, А. В. Поляков // Пробл. репрод. – 2001. – Т. 7, № 5. – С. 47–58.
  4. AZFa deletions in Sertoli cell-only syndrome: a retrospective study / O. Blagosklonova, F. Fellmann, M. C. Clavequin [et al.] // Mol. Hum. Reprod. – 2000. – Vol. 6, № 9. – P. 795–769.
  5. Foresta C. Prognostic value of Y deletion analysis. The role of current methods / C. Foresta, E. Moro, A. Ferlin // Hum. Reprod. — 2001. — Vol. 16, № 8. – P. 1543–1547.
  6. Foresta C. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis / C. Foresta, E. Moro, A. Ferlin // Endocr. Rev. 2001. — Vol. 22, № 2. – P. 226–239.
  7. Krausz C. Y chromosome and male infertility / C. Krausz, K. McElreavey // Frontiers in Bioscience. — 1999. – Vol. 4. P. 1–8.
  8. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection / J. P. Mulhall, R. Reijo, R. Alagappan [et al.] // Hum. Rep. — 1997. — Vol. 12. — P. 503–508.

### АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧНИХ ПРИЧИН ЧОЛОВІЧОГО БЕЗПЛІДДЯ

Зяблицев С.В., Кишеня М.С., Чернобривцев П.А., Піщуліна С.В.

**Резюме.** Однією з найбільш частих причин генетичного безпліддя у чоловіків є делеції в локусі AZF, що локалізується на довгому плечі Y-хромосоми (Yq11), які призводять до різного ступеня порушень сперматогенезу. З 60 чоловіків з безпліддям делеції Y-хромосоми виявлено у 2: мікроделеції в субрегіоні AZFc. Показано роль делеції локусу Yq11 в етіології порушень сперматогенезу та безпліддя у чоловіків.

**Ключові слова:** сперматогенез, чоловіче безпліддя, делеції хромосом

### THE ANALYSIS OF MALE STERILITY REASONS

Zyablitsev S.V., Kishenya M.S., Chernobrivtsev P.A., Pischulina S.V.

**Summary.** One of more often genetic sterility reasons in men are deletions in AZF locus, this locus is located on long arm of Y- chromosome (Yq11), which is the causes of different degree of spermatogenesis disturbances. The deletions of Y- chromosome were investigated in 60 cases: it was show 2 microdeletions in subregion of AZFc. The role of Yq11 locus deletion is showed in etiology of spermatogenesis disturbances and male sterility.

**Key words:** spermatogenesis, male sterility, deletion of chromosome

*Отримано до редакції 12.03.2013*

УДК 616.72-002-002.77-092.9:599.323.4.089.843.47]-085.217.34+591.5

## ВПЛИВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН І ФЛУОКСЕТИНУ НА ГРУМІНГОВУ ТА РУХОВУ АКТИВНІСТЬ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

Кустов Д.Ю.

*Донецький національний медичний університет ім. М. Горького*

**Резюме.** Статтю присвячено дослідженню поведінки у щурів з моделлю ревматоїдного артриту при його корекції флуоксетином й ембріональними стовбуровими клітинами. Усі застосовані варіанти корекції підвищували поведінкову активність, що була зниженою при ревматоїдному артриті. Ефективнішим виявилось сумісне застосування флуоксетину і стовбурових клітин.

**Ключові слова:** *грумінг, ревматоїдний артрит, флуоксетин, стовбурові клітини*

Системні аутоімунні захворювання (САЗ) або захворювання дифузної сполучної тканини, до яких відноситься й ревматоїдний артрит (РА), зачіпають багато органів і є, в основному, ураженням сполучної тканини з фібріноїдним некрозом. Аутоантитіла, що утворюються при цьому, реагують з ДНК та іншими ядерними компонентами всіх клітин організму.

Існують клінічні спостереження за хворими на РА та інші САЗ, яким з приводу апластичної анемії або лейкозу виконували трансплантацію гемопоетичних стовбурових клітин (СК), що призводило до стійкої ремісії тяжких САЗ, і це обумовило зростання інтересу до вивчення трансплантаційних методів як можливого варіанту базисної терапії САЗ [1].

Останнім часом все більшу увагу науковців привертає протизапальний ефект селективних інгібіторів зворотного захвату серотоніну (СІЗЗС), який робить перспективними подальші дослідження препаратів цієї групи для застосування у якості засобів базисної терапії РА.

Одним з наслідків розвитку РА є погіршення психічного стану, пов'язане як з больовим синдромом, який спричиняє загальний дискомфорт, так і з токсичним впливом продуктів імунної відповіді на центральну нервову систему (ЦНС). Грумінг, який у тварин належить до поведінки комфорту і має важливе зоосоціальне значення, є чутливим маркером оцінки загального стану ЦНС.