

Влияние генетического полиморфизма на тератозооспермию и кариопатологические изменения десквамированных эпителиоцитов уrogenитального тракта при инфертильности у вахтовых рабочих нефтегазопромыслов севера Сибири

Н.Н.Ильинских^{1,2}, Е.Н.Ильинских², А.В. Тагаев²

¹ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет МОН РФ, г. Томск;

²ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Томск

Сведения об авторах:

Ильинских Н.Н. – профессор, доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии; Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» Минздрава России. 634050 г. Томск, пр. Ленина, д. 36; e-mail - nauka-tomsk@yandex.ru

Ilyinskikh N.N. – professor, Dr. Sc., professor at the Department of biotechnology. Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “National Research Tomsk State University” of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation. 634050 Tomsk, Lenin pr., 36, Russian Federation); e-mail - nauka-tomsk@yandex.ru

Ильинских Е.Н. – д.м.н.; доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии; Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 634050 г. Томск, Московский тракт, д. 2; e-mail - ilyinskikh@yandex.ru

Ilyinskikh E.N. – Dr. Sc., professor at the Department of infectious diseases and epidemiology. State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 634050 Tomsk, Moskovski tr., 2, Russian Federation; e-mail - ilyinskikh@yandex.ru

Тагаев А.В. – студент лечебного факультета; Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 634050 г. Томск, Московский тракт, д. 2. e-mail - infconf2009@mail.ru

Tagaev A.V. – the student of State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education “Siberian State Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 634050 Tomsk, Moskovski tr., 2. e-mail - infconf2009@mail.ru

Морфологические изменения сперматозоидов являются результатом сложных внутриклеточных процессов во время сперматогенеза, когда из диплоидной клетки в результате последовательных делений образуются гаплоидные сперматиды и после трансформации ядра и органоидов, формируется зрелый сперматозоид [1]. Регистрируемый уровень аномальных сперматозоидов может служить индикатором наличия дефектного механизма, связанного с процессом созревания сперматозоидов [2]. Кроме того, морфология сперматозоидов является классической характеристикой параметров качества спермы, а ее изменения служат маркером генетических повреждений молекулярных структур ядер клеток организма [2,3]. Известно что, около 15% супружеских пар страдает бесплодием, причем треть случаев обусловлена мужским бесплодием [4]. Имеются многочисленные исследования, посвященные патологическим изменениям сперматозоидов в связи с мужским беспло-

дием. Приводятся самые разнообразные причины образования патологических изменений сперматозоидов: фрагментация ДНК, оксидативный стресс, апоптоз, что по мнению некоторых ученых, в основном связано с загрязнением условий окружающей среды факторами мутагенной природы [1,5]. Ранее нами было установлено, что у вахтовых рабочих-нефтяников на севере Сибири значимо возрастает число соматических клеток буккального и уrogenитального эпителия, лимфоцитов крови с цитогенетическими нарушениями, что мы склонны были считать следствием влияния на рабочего-нефтяника углеводородов с генотоксическими эффектами [6]. Закономерно возникает предположение, что генеративные клетки у рабочего-нефтяника так же подвержены генотоксическим воздействиям. Наши исследования показали, что цитогенетические изменения в соматических клетках у рабочих-нефтяников зависят от присутствия в их геномном мутационных аллелей генов глутатион-S-трансферазы – *GSTM1* и *GSTT1* [7]. А.С. Finotti и соавт. установили, что

при наличии в геномном мутантных «нулевых» аллелей генов *GSTM1* и *GSTT1* у мужчин повышено число патологически измененных сперматозоидов [8]. Кроме того, имеются исследования, доказывающие роль цитогенетических нарушений в патологических изменениях сперматозоидов и бесплодии пациента, однако это заключение поддерживается далеко не всеми учеными [9,10].

Целью данной работы было изучение зависимостей между частотой различных форм тератозооспермии и кариопатологически измененных эпителиоцитов уrogenитального тракта и носительством мутантных вариантов генов фермента глутатион-S-трансферазы (*GSTM1* и *GSTT1*) у вахтовых рабочих-нефтяников, страдающих инфертильностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 170 рабочих-нефтяников мужского пола в возрасте от 28 до 39 лет, впервые обратившихся к врачу-андрологу по поводу отсутствия потомства при состоянии в браке без применения конт-

рацепции на протяжении нескольких лет и отсутствии у супруги, согласно медицинскому заключению, каких либо изменений, препятствующих зачатию. Для анализа у всех обследуемых были взяты образцы спермы и эпителий уrogenитального тракта. Все обследованные дали документированное согласие на проведение настоящего исследования. Одновременно нами проведено анкетирование, позволяющее составить представление о факторах риска в жизнедеятельности обследуемого донора. У каждого человека анализировали не менее 1000 эпителиоцитов и сперматозоидов. Для морфологически нормального сперматозоида характерна овальная форма головки, длина ее составляет 5-6 мкм, ширина – 2,5-3,5 мкм, акросомальный участок занимает от 40 до 70% площади головки, при этом отсутствуют аномалии шейки, хвоста и срединного отдела. Отмечались выраженные изменения размеров головки, что подтверждалось путем измерения окуляр-микрометром. Изменения формы, дефекты акросомальной области, удвоение головки, а также аномалии шейки и хвоста оценивались визуально в соответствии с методическими указаниями ВОЗ и строгими критериями Крюгера [11,12].

Среди генов, задействованных в системе детоксикации, были изучены два полиморфных варианта генов *GSTM1* и *GSTT1*, относительно которых имеются исследования, подтверждающие их протективную роль в отношении индукции ксенобиотиками хромосомных аномалий [13]. При анализе генов *GSTM1* и *GSTT1* на наличие делеций использовали мультиплексную ПЦР. В амплификационную пробу вносили две пары праймеров, что давало возможность одновременно амплифицировать фрагменты каждого из указанных генов. Разделение продуктов амплификации генов *GSTM1* и *GSTT1* проводили в горизонтальном 3% агарозном геле, приготовленном на однократном трис-борт-

ном буфере с добавлением бромистого этидия и визуализацией в проходящем УФ-свете. Напряженность электрического поля при разделении фрагментов ДНК составляла 1-8 В/см².

Нормальные аллели генов характеризуются присутствием ПЦР-продуктов: для *GSTM1* – гомозиготы *GSTM1*(+/+) и гетерозиготы *GSTM1*(+0); для *GSTT1* – гомозиготы *GSTT1*(+/+) и гетерозиготы *GSTT1*(+0). Делеционные («нулевые») гомозиготные варианты – *GSTM1* (0/0) и *GSTT1* (0/0) выявлялись по отсутствию фрагментов генов *GSTM1* и *GSTT1*. Для генов *GSTM1* и *GSTT1* генотип 0/0 означает отсутствие на электрофореграмме фрагмента, соответственно, и данный индивидуум гомозиготен по делеции. Знак «+» означает присутствие фрагмента и данный донор либо гетерозиготен, либо гомозиготен по отсутствию делеции в указанных генах.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ STATISTICA v.6.0. Частоты гаплотипов сцепленных локусов для гена *GSTM1*, рассчитывали в программе “The EH

software program, Rockefeller University, NY”. Все количественные показатели исследования обрабатывали с применением корреляционного анализа по Спирмену и t-критерия Стьюдента для независимых выборок, поскольку тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова-Смирнова не выявило отличий от нормального. Анализ статистических различий качественных признаков производили с использованием теста χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность [14]. Различия сравниваемых результатов ($X \pm m$, где X – выборочное среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что наблюдается четко выраженный полиморфизм в уровне кариопатологических изменений в эпителиоцитах уrogenитального тракта у рабочих-нефтяников с инфертильностью в зависимости от их генотипа (табл. 1).

Таблица 1. Частота эпителиоцитов уrogenитального тракта с кариопатологическими изменениями и показатели тератозооспермии у рабочих-нефтяников, страдающих инфертильностью, в связи с полиморфизмом мутантных «нулевых» аллелей генов *GSTM1* и *GSTT1*, в сравнении с нормальным контролем – *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+)

Типы патологических изменений клеток	Генотипы				
	<i>GSTM1</i> (0/0) <i>GSTT1</i> (0/0)	<i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (0/0)	<i>GSTM1</i> (0/0) <i>GSTT1</i> (+)	<i>GSTM1</i> (+) <i>GSTT1</i> (+)	
	n=62	n=44	n=38	n=26	
Показатели кариопатологических изменений в эпителиоцитах (в %)					
Аберрантные клетки всех типов	38,0 ± 4,2***	11,8 ± 1,6	22,9 ± 2,7**	9,0 ± 1,4	
Микроядра	11,2 ± 1,4***	4,8 ± 0,5	7,9 ± 0,5**	4,3 ± 0,3	
Центральная круговая насечка	5,8 ± 0,4**	2,9 ± 0,6	4,3 ± 0,6*	2,1 ± 0,4	
Протрузии типа «разбитое яйцо»	4,9 ± 0,6***	0,4 ± 0,5	1,8 ± 0,4*	0,5 ± 0,2	
Протрузии типа «язык»	2,2 ± 0,3**	0,8 ± 0,3	1,7 ± 0,2**	0,4 ± 0,2	
Двуядерные клетки	3,8 ± 0,7**	0,4 ± 0,2	1,3 ± 0,4*	0,2 ± 0,1	
Кариорексис	2,4 ± 0,6***	0,1 ± 0,1	1,2 ± 0,3**	0,1 ± 0,1	
Кариолизис	2,1 ± 0,4**	0,5 ± 0,3	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,2	
Кариопикноз	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,1	
Перинуклеарные вакуоли	4,8 ± 0,7**	1,3 ± 0,9	3,9 ± 0,6**	0,8 ± 0,4	
Показатели тератозооспермии (в %)					
Дефекты головки сперматозоида	размера	144,8 ± 13,6*	36,9 ± 6,8	66,7 ± 7,9***	28,6 ± 3,6
	формы	87,9 ± 7,8***	22,6 ± 5,5	34,8 ± 6,2**	17,2 ± 2,2
	акросомальной области	112,6 ± 11,8*	23,4 ± 6,7	52,0 ± 6,9***	21,4 ± 3,6
	числа головок	57,5 ± 6,2***	14 ± 3,4	34,8 ± 4,1***	12,6 ± 2,9
Дефекты шейки	81,3 ± 6,7***	39,2 ± 6,5	81,6 ± 5,8***	36,9 ± 5,7	
Дефекты хвоста	42,7 ± 5,5	42,4 ± 5,6	43 ± 4,9	32,4 ± 4,8	

Примечание. Значимые различия показателей между когортами обследуемых рабочих, имеющих в генотипе нулевые аллели генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0), и группой рабочих с нормальным генотипом *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+) отмечены звездочками: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$; *** – при $p < 0,001$

Особенно существенно повышенным был уровень карิโอпатологических нарушений у рабочих, имеющих сочетание гомозиготного нулевого генотипа одновременно по генам *GSTM1* и *GSTT1*. Значимое повышенное число клеток с карิโอпатологическими изменениями было также зарегистрировано и для рабочих с инфертильностью, имеющих сочетание генов *GSTM1* (0/0) и *GSTT1* (+), по сравнению с нормальными гомозиготами – *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+) и гетерозиготами *GSTM1*(+)/*GSTT1*(0/0). Среди наблюдаемых аберраций наиболее часто наблюдались клетки с микроядрами и протрузиями, которые можно отнести к истинным цитогенетическим аберрациям, поскольку они образуются в результате образования ацентрических фрагментов хромосом и отставания в митозе отдельных целых хромосом [13]. Частота клеток с микроядрами у рабочих с инфертильностью, имеющих нулевой гомозиготный генотип по генам *GSTM1* и *GSTT1*, превышала контрольный уровень в 2,6 раза ($11,2 \pm 1,4\%$ при $4,3 \pm 0,3\%$ в контроле; $p < 0,001$), протрузии типа «разбитое яйцо» – в 9,8 раза ($4,9 \pm 0,1\%$ и $0,5 \pm$

$0,2\%$; $p < 0,05$) и типа «язык» – в 5,5 раза ($2,2 \pm 0,3\%$ и $0,4 \pm 0,2\%$; $p < 0,01$). Ранняя деструкция ядра цитологически начинается как перинуклеарная вакуоль [18], не исключено, что такой показатель как центральная круговая насечка также свидетельствует о разрушении ядерной оболочки. В контроле этот показатель составил $2,1 \pm 0,4\%$, а у рабочих с генотипом *GSTM1*(0/0)/*GSTT1*(0/0) – $5,8 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$). Апоптотический процесс распада хроматина ядра может выглядеть как кариолизис. Кариорексис это заключительный этап гибели клетки, часто образующийся при формировании многогруппового аномального митоза [6]. У рабочих с инфертильностью, имеющих нулевые гомозиготы по генам *GSTM1* и *GSTT1*, число клеток с перинуклеарной вакуолью было значимо выше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$). То же самое можно сказать и о частоте клеток с кариорексисом ($p < 0,001$) и кариолизисом ($p < 0,01$). Возрастание числа клеток с кариопикнозом у рабочих с инфертильностью, имеющих гомозиготный нулевой генотип по гену *GSTM1*(0/0), может, по-видимому, свидетельствовать об уменьшении

гетерохроматизации в экспрессируемых участках генома эпителиоцитов [15].

В научной литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что нулевые генотипы по глутатион-S-трансферазе (*GSTM1* и *GSTT1*) ассоциированы с более высоким уровнем цитогенетических аберраций [16]. Полученные нами данные подтверждают это заключение в отношении гомозиготного нулевого генотипа *GSTM1*(0/0). В настоящем исследовании мы не обнаружили по изучаемым показателям различий между рабочими, имеющими гомозиготный нулевой генотип *GSTM1*(0/0)/*GSTT1*(0/0) и *GSTM1*(0/0)/*GSTT1*(+), что можно объяснить более значительным влиянием на карิโอпатологические последствия гена *GSTM1*(0/0), чем *GSTT1* (0/0).

Анализ морфологических изменений сперматозоидов свидетельствует о том, что у рабочих с инфертильностью наблюдается значительное возрастание в семенной жидкости числа сперматозоидов с дефектами головки. У рабочих *GSTM1*(0/0), по сравнению с контролем, во много раз возрастало число сперматозоидов с изменением размеров и формы головки, а также с аномалиями акросомальной области, двойной головкой и дефектами шейки, при этом значимого увеличения частоты сперматозоидов с дефектами в области хвоста не отмечено (табл. 1).

Корреляционный анализ по результатам обследования рабочих с инфертильностью, являющихся носителями двойного гомозиготного нулевого генотипа *GSTM1*(0/0)/*GSTT1*(0/0), показал достоверную положительную связь между числом эпителиоцитов с микроядрами, а также пикнозом ядра с одной стороны и изменением размеров сперматозоидов с другой (в обоих случаях $p < 0,01$) (табл. 2). При этом у рабочих отмечены случаи глобозоспермии, когда головка сперматозоида не имеет акросомы и она исключи-

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между показателями карิโอпатологических изменений в эпителиоцитах урогенитального тракта и тератозооспермии в семенной жидкости у рабочих с инфертильностью, гомозиготных по нулевым аллелям генов глутатион-S-трансферазы – *GSTM1* (0/0)/*GSTT1* (0/0)

Аномальные формы эпителиоцитов	Аномальные формы сперматозоидов					
	Головка сперматозоида с дефектом				Дефекты шейки	Дефекты хвоста
	размера	формы	акросомы	число головок		
Аберрантные клетки всех типов	+0,28	-0,17	+0,34	+0,12	-0,18	-0,21
Микроядра	+0,59*	+0,42	+0,07	+0,19	+0,45	+0,34
Центральная круговая насечка	+0,42	+0,53*	+0,22	+0,56	+0,34	-0,18
Протрузии типа «разбитое яйцо»	-0,21	+0,58*	+0,39	+0,28	-0,08	+0,14
Протрузии типа «язык»	+0,12	+0,74**	-0,21	-0,18	+0,12	+0,42
Двухядерные клетки	-0,18	+0,07	+0,34	+0,89***	+0,22	+0,12
Кариорексис	-0,17	+0,56*	-0,18	+0,28	-0,36	-0,21
Кариолизис	+0,12	-0,45	+0,37	+0,31	+0,42	-0,38
Кариопикноз	+0,61**	+0,28	-0,37	-0,21	+0,42	+0,45
Перинуклеарные вакуоли	+0,42	+0,79**	+0,41	+0,38	+0,16	-0,18

Примечание. Значимые различия показателей коэффициента корреляции отмечены звездочками: * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$; *** – при $p < 0,001$

тельно маленьких размеров. Мы склонны считать, что одновременное отставание нескольких хромосом при делении клетки может приводить к появлению крупных микроядер и формированию сперматозоидов с маленькой головкой. Кластогенные процессы в клетках рабочих нефтепромыслов, сопровождающиеся аномальным расхождением нескольких хромосом показаны нами ранее [17]. Центральная круговая насечка ядерной оболочки имела значимые корреляционные зависимости от нескольких показателей аномалий сперматозоидов, включая дефект формы ($p < 0,05$) и увеличение числа головок ($p < 0,01$). Ядра с круговой насечкой, по мнению некоторых ученых, формируются в результате аномального строения ахроматинового веретена деления клетки, при этом не образуется перегородка между дочерними ядрами и дефектно проходит кариотомия [18]. Образование двуядерных эпителиоцитов имело значимые корреляционные зависимости от увеличения показателя сперматозоидов, имеющих две головки ($p < 0,01$). По-видимому, об этом же свидетельствует рост числа полиплоидных клеток у рабочих нефтепромыслов, что показано нами ранее [17]. Появление протрузий имело достоверную связь с изменением формы сперматозоидов. Возможно, это явление связано с изменением прочности и эластичности ядерной оболочки, что, по-видимому, может отражаться на формировании формы головки при сперматогенезе. Наблюдается также достоверная корреляционная связь между формой головки и такими показателями как кариорексис ($p < 0,01$) и наличием в ядре перинуклеарных вакуо-

лей ($p < 0,001$). Не исключено, что сопряженные изменения в эпителии уrogenитального тракта и тератозооспермия обусловлены наличием эндогенных генотоксикантов. Известно, что сперматозоиды спонтанно производят разнообразные активные формы кислорода, включая супероксид аниона, перекись водорода и окись азота и эта активность частично контролируется ферментной системой глутатион-S-трансферазы что, в свою очередь, может, по-видимому, способствовать кариопатологическим изменениям эпителиоцитов в уrogenитальном тракте человека, особенно в случае носительства гомозиготного нулевого генотипа *GSTM1* (0/0) [1].

Известно, что курение может приводить к повышению числа клеток с цитогенетическими нарушениями в организме человека-носителя мутантных («нулевых») аллелей фермента глутатион-S-трансферазы [16]. Анкетные данные по этому вопросу свидетельствуют, что число курящих во всех когортах рабочих было практически одинаковым (28,9-31,2%). Существенного повышения числа кариопатологических изменений и показателей тератозооспермии у курящих нами не наблюдалось. Несомненно, что в экстремальных условиях нефтедобычи на севере Западной Сибири имеется множество мощных факторов, которые могут оказывать не только мутагенное, но и ко-мутагенное действие. Помимо антропогенных факторов, это и природные факторы: низкие температуры, мощные геомагнитные поля авральной зоны, геомагнитные аномалии, особенности светового режима (полярные ночь и день) и дефицит

некоторых жизненно важных микроэлементов [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что у рабочих нефтяников с инфертильностью наблюдаются статистически значимые изменения частоты кариопатологических нарушений эпителиоцитов уrogenитального тракта и показателей тератозооспермии, в зависимости от генетического полиморфизма генов системы детоксикации ксенобиотиков *GSTM1* и *GSTT1*, который выражается в наличии (или отсутствии) в генотипе мутантных «нулевых» аллелей этих генов. Показано, что у лиц, гомозиготных по «нулевому» аллелю гена *GSTM1*(0/0) значимо повышено число эпителиоцитов уrogenитального тракта с микроядрами, протрузиями, насечками ядра, перинуклеарными вакуолями, кариолизисом и кариорексисом, а также уровни показателей, характеризующих тератозооспермию, по сравнению с рабочими-нефтяниками, которые имеют нормальный генотип – *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+). При наличии гомозиготных «нулевых» аллелей генов *GSTT1*(0/0) такой закономерности не отмечено. Статистический анализ позволяет заключить, что имеется значимая связь между некоторыми формами кариопатологических изменений эпителиоцитов и показателями различных типов тератозооспермии, что может свидетельствовать в пользу вывода о корреляционной зависимости между наблюдаемыми изменениями в соматических и генеративных клетках у рабочих нефтепромыслов севера Западной Сибири. ■

БЛАГОДАРНОСТЬ. Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-44-700149 и РГНФ № 06-15-10190

Ключевые слова: кариопатологические изменения; эпителиоциты; сперматозоиды; тератозооспермия; *GSTM1*; *GSTT1*; инфертильность; рабочие-нефтяники.

Key words: karyopathologic abnormalities; epithelial cells; sperm; teratozoospermia; *GSTM1*; *GSTT1*; infertility; oil workers.

Резюме:

Цель настоящей работы заключалась в изучении связи каріопатологических изменений соматических клеток и тератозооспермии с полиморфизмом генов фермента глутатион-S-трансферазы – *GSTM1* и *GSTT1* у рабочих-нефтяников с инфертильностью.

Материалы и методы. Обследовано 170 рабочих-нефтяников мужского пола с инфертильностью.

Результаты. Показано, что у рабочих с инфертильностью с гомозиготным «нулевым» генотипом *GSTM1(0/0)*, значимо повышено число эпителиоцитов урогенитального тракта с микроядрами, протрузиями, насечками ядра, перинуклеарными вакуолями, каріолизисом и каріорексисом, а также существенно возрастают показатели, характеризующие тератозооспермию, по сравнению с рабочими-нефтяниками, которые имеют в генотипе нормальные аллели – *GSTM1(+)* или/и *GSTT1(+)*. При наличии гомозиготного «нулевого» генотипа *GSTT1(0/0)* такой закономерности не отмечено.

Заключение. Корреляционный анализ позволяет заключить, что имеется значимая связь между некоторыми формами каріопатологических изменений эпителиоцитов и показателями различных типов тератозооспермии, что может свидетельствовать в пользу вывода о связи наблюдаемых изменений.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Summary:

Effects of genetic polymorphisms on the teratozoospermia and karyopathological abnormalities in the desquamated epithelial urogenital tract cells in male shift workers with infertility in oil and gas fields of the north of Siberia

N.N. Ilyinskikh, E.N. Ilyinskikh, A.V. Tagaev

Aim. The objective of this work was to study the associations between the various types of karyopathologic abnormalities in somatic cells or teratozoospermia and the genetic polymorphisms of alleles of the *GSTM1* and *GSTT1* genes, glutathione-S-transferase enzymes, in the genotypes of the male oil field workers with infertility.

Materials and methods. The study involved 170 of the male oil field workers with infertility.

Results. It was found that the frequencies of both the teratozoospermia and the various karyopathologic abnormalities in epithelial urogenital cells including micronuclei, protrusions, nuclear central circular notches, perinuclear vacuoles, karyolysis, and karyorhexis were significantly higher in a group of the workers with infertility who had homozygous genotype with the double null alleles of the *GSTM1(0/0)* gene, compared to the workers with the normal *GSTM1(+)/GSTT1(+)* allele genes. There were no statistically significant differences in the frequencies of the above-mentioned abnormalities between these groups of the workers who had the double null alleles of the *GSTT1(0/0)* gene.

Conclusion. From the correlation assay it may be concluded that there are the significant associations between the frequencies of some types of karyopathologic abnormalities in the epithelial urogenital cells and the teratozoospermia in the workers with infertility.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

- Chemes EH, Rawe YV. Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men. *Hum Reprod Update*. 2003;9(5):405–428.
- Said TM, Agarwal A, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Sikka SC. Impact of sperm morphology on DNA damage caused by oxidative stress induced by beta-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate. *Fertil Steril*. 2005;83:95–103.
- Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 2001;345:1388–1393.
- Артифсков С. Б. Андрологические аспекты бесплодного брака. *Урология и нефрология* 1996;(4): 39–41.
- Burrello N. Lower sperm aneuploidy frequency is associated with high pregnancy rates in ICSI programmes. *Human Reproduction*. 2003;18:1371–1376.
- Ильинских Н.Н., Васильев С.А., Кравцов В.Ю. Микроядерный тест в скрининге и мониторинге мутагенов. Saarbrücken (Germany): LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH&Co. 2011; 216 с.
- Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Ильинских Е.Н., Юркин А.Ю., Шилов Б.В. Влияние генетического полиморфизма на цитогенетические последствия условий труда у рабочих на нефтепромыслах Сибири. *Токсикологический вестник* 2011;(5):34–40.
- Finotti AC, Costa-Silva RCP, Bordin BM, Silva CTX. and Moura KKVO. Glutathione-S-transferase M1 and T1 polymorphism in men with idiopathic infertility. *Genet Mol Res* 2009;8(3):1093–1098.
- Nakamura Y, Kitamura M, Nishimura K, Koga M, Kondoh N, Takeyama M, et al. Chromosomal variants among 1790 infertile men. *Int J Urol* 2001;8(2):49–52.
- Neischlag E, Behre H. Andrology: Male reproductive health found disfunction. Berlin: Springer. 1997; 320 p.
- WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. 3rd edition. Cambridge: Cambridge University Press. World Health Organization. 1992; 234 p.
- Check JH, Adelson HG, Schubert BR, Bollendorf A. Evaluation of sperm morphology using Kruger's strict criteria. *Arch Androl* 1992;28(1):15–17.
- Kumar M, Chauhan LK, Paul BN. *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphism in north Indian population and its influence on the hydroquinone-induced in vitro genotoxicity. *Toxicol Mech Methods* 2009;19(1): 59–65.
- Боровиков В.П., Боровиков И.П. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: «Филинъ». 1997; 608 с.
- Ченцов Ю. С. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига. 2004; 284 с.
- Scarpato R, Hirvonen A, Migliore L. Influence of *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms on the frequency of chromosome aberrations in lymphocytes of smokers and pesticide-exposed greenhouse workers. *Mutat Res* 1997;389(3):227–235.
- Ильинских Н.Н., Язиков Е.Г., Ильинских Е.Н., Ямковая Е.В., Ильинских И.Н., Шилов Б.В. Фенотипические маркеры адаптогенеза к условиям нефтегазопромыслов севера Сибири (новые технологии отбора контингента трудовых ресурсов на нефтегазопромыслах севера Сибири). Томск: ТПУ. 2012; 420 с.
- Мейер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальных эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса. *Цитология* 2010;52(4): 305–310.

REFERENCES (4, 6, 7, 14-18)

- Артифсков С.Б. Андрологические аспекты бесплодного брака. [Andrology aspects of infertile marriages]. *Урология и нефрология* 1996;(4): 39–41. (in Russian)
- Ilyinskikh N.N., Vasil'ev S.A., Kravcov V.Ju. Mikrojadernyj test v skrininge i monitoringe mutagenov [Micronucleus test in screening and monitoring of mutagens]. Saarbrücken (Germany): LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH&Co. 2011; 216 p. (in Russian).
- Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh I.N., Ilyinskikh E.N., Yurkin A.Yu., Shilov B.V. Vliyaniye geneticheskogo polimorfizma na tsitogeneticheskie posledstviya usloviy truda u rabochikh na neftepromyslakh Sibiri [Influence of genetic polymorphism on cytogenetic effects of the working conditions of the workers in the oil fields of Siberia]. *Toksikologicheskij vestnik* 2011;(5):34–40. (in Russian).
- Borovikov V.P., Borovikov I.P. Statisticheskij analiz i obrabotka dannykh v srede Windows [Statistical analysis and data processing in a Windows environment]. Moscow: Filin. 1997; 608 p. (in Russian)
- Chentsov Yu.S. Vvedenie v kletochnyuyu biologiyu [Introduction to cell biology]. Moscow: Akademkniga. 2004; 284 p. (in Russian)
- Ilyinskikh N.N., Yazikov E.G., Ilyinskikh E.N., Yamkovaya E.V., Ilyinskikh I.N., Shilov B.V. Fenogeneticheskie markery adaptogeneza k usloviyam neftegazopromyslov severa Sibiri (novye tekhnologii otbora kontingenta trudovykh resursov na neftegazopromysly severa Sibiri) [Phenogenetical markers of adaptogenesis to the conditions of oil and gas fields of the north of Siberia (new technologies of the selection of workforce contingents at oil and gas fields of the north Siberia)]. Tomsk: TPU. 2012; 420 p. (in Russian)
- Meyer A.V., Druzhinin V.G., Larionov A.V. Genotoksicheskie i tsitotoksicheskie efekty v bukkal'nykh epiteliotsitakh detey, prozhivayushchikh v ekologicheski razlichayushchikhsya rayonakh Kuzbassa [Genotoxic and cytotoxic effects in buccal epithelial cells of children living in ecologically different regions of Kuzbass]. *Tsitologiya* 2010;52(4):305–310. (in Russian)