

AZF-МИКРОДЕЛЕЦИИ Y-ХРОМОСОМЫ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ, ДОСТУПНЫЕ В КАЗАХСТАНЕ

В последнее десятилетие усилился интерес к Y-хромосоме человека. В первую очередь, это связано с тем, что установлена связь между мужским бесплодием и делециями, возникающими на Y-хромосоме, что указывает на присутствие генов, необходимых для развития мужских зародышевых клеток.

Бесплодием страдает около 15 % супружеских пар, при этом в 45-50 % случаев оно связано с «мужским фактором». Около 1/3 случаев мужского бесплодия относятся к так называемому идиопатическому бесплодию, большинство случаев которого может быть обусловлено генетическими факторами, такими, как различные нарушения хромосом или мутации в ответственных за сперматогенез генах. Особое значение приобретают выявление факторов мужского бесплодия, диагностика и лечение, особенно у молодых людей. Причиной генетически обусловленного мужского бесплодия, связанного с нарушением сперматогенеза, в 10-15 % случаев являются структурные нарушения Y-хромосомы. Помимо хромосомных аномалий наиболее частой генетической причиной нарушения репродуктивной функции у мужчин являются делеции AZF локуса длинного плеча мужской половой хромосомы (Vogt et al., 1996). AZF-микроделеции являются причиной нарушения сперматогенеза в 10-15 % случаев при азооспермии и в 5-10 % при олигозооспермии тяжелой степени. Частота встречаемости микроделеций в AZF регионе Y-хромосомы у мужчин, страдающих бесплодием, варьирует в различных исследованиях от 1 до 55 %.

Сперматогенез – сложный биологический процесс, который зависит от точно контролируемого каскада включения и выключения определенных генов, которые запускают процесс пролиферации сперматогоний, инициации и завершения мейоза и морфологическую дифференцировку сперматид в зрелые сперматозоиды. Мутации в любом из этих генов могут оказывать огромное влияние на сперматогенез в целом.

Впервые зависимость между нарушением сперматогенеза и генетической причиной, лежащей в его основе, была продемонстрирована L. Tierpolo и O. Zuffardi в 1976 г. Было высказано предположение о существовании фактора азооспермии

(AZF), который кодируется геном или группой генов, локализованных в дистальной части длинного плеча Y-хромосомы (Yq). В 1996 г. Vogt и соавт. на основе полученных данных о локализации и размере делеций, выявленных у 26 мужчин, предложили выделить в локусе Yq три неперекрывающихся субрегиона: AZFa, AZFb и AZFc.

Бесплодие и Y-микроделеции

R. Brandell и соавт. исследовали влияние отдельных микроделеций на эффективность лечения и изменение параметров сперматозоидов у мужчин, страдающих азооспермией. Авторы делают вывод, что микроделеции Y-хромосомы могут значительно влиять на результаты лечения. Так, микроделеции были обнаружены у 22 (8 %) из 286 обследованных мужчин. При этом для 6 мужчин с гипогонадизмом, у которых были выявлены Y-микроделеции, назначение кломифенцитрата и тестостерона вызвало значительное повышение уровня тестостерона, но при этом уровень сперматогенеза оставался низким. У 8 пациентов с микроделециями было проведено оперативное лечение варикоцеле. После операции не наблюдали улучшения количественных и качественных показателей сперматозоидов. Девяти пациентам с микроделециями в AZFb-участке проводили TESE (TESE, Testicular Sperm Extraction). У 7 из 9 пациентов в биоптате яичка не было получено тестикулярных сперматозоидов, несмотря на неоднократное проведение TESE. У пациентов, которые имели микроделеции в AZFc-участке, экстракция сперматозоидов прошла успешно, и после проведения ИКСИ (ICSI, Intracytoplasmic Sperm Injection) у их жен наступила беременность.

Вспомогательные репродуктивные технологии и делеции Y-хромосомы

Исследование Y-хромосомы рекомендуется всем пациентам, вовлеченным в программу лечения бесплодия методом ИКСИ и страдающим необструктивной формой азооспермии,

а также тем, у кого концентрация сперматозоидов в эякуляте составляет менее 5 млн/мл. Подтверждение диагноза на наличие микроделеции объясняет причину нарушения сперматогенеза и информативно для клиницистов, так как позволяет избежать ненужного медицинского (гормонального или негормонального) и хирургического (оперативное лечение варикоцеле) лечения. На сегодняшний день для пациентов с тяжелыми формами олигозооспермии эффективной терапией является только ИКСИ, а для пациентов с азооспермией – ИКСИ в сочетании с извлечением тестикулярных сперматозоидов. Недавно появилось сообщение, что определенный тип микроделеции на Y-хромосоме у пациентов с азооспермией может иметь прогностическое значение с точки зрения возможности нахождения некоторого количества сперматозоидов и/или зрелых сперматид в ткани яичка, полученной с помощью TESE. Предварительные результаты показывают, что AZFb-делеции в большей степени связаны с неудачными попытками извлечения сперматозоидов, тогда как у 71 % пациентов со стандартными AZFc-микроделециями могут быть обнаружены зрелые сперматозоиды. Однако большие AZFc-микроделеции также ведут к отсутствию сперматозоидов.

На основании данных, полученных S. Silber и соавт., были сделаны выводы:

1) de novo делеции Y-хромосомы у пациентов с азооспермией и тяжелыми формами олигозооспермии не являются препятствием к рождению нормальных детей с использованием ИКСИ;

2) было продемонстрировано, что микроделеции Y-хромосомы передаются сыновьям от отцов. Делается предположение, что эти сыновья будут иметь те же проблемы с бесплодием, как и их отцы.

При анализе фенотипических проявлений при микроделециях наблюдаются некоторые общие тенденции (И.К. Гоголевская, П.А. Гоголевский):

- 1) микроделеции Y-хромосомы обнаружены у мужчин с азооспермией или тяжелыми формами олигозооспермии;
- 2) более высокая частота Yq-делеций выявлена у пациентов с азооспермией и аномальным фенотипом (гипогонадизм и др.) по сравнению с пациентами с тяжелой формой олигозооспермии;
- 3) более протяженные делеции в основном связаны с более тяжелыми нарушениями сперматогенеза;
- 4) AZFa-делеции встречаются наиболее редко (1–5 %) и в основном связаны с СКС типа I (синдром клеток Сертоли, или синдром «только клетки Сертоли»);
- 5) AZFc и AZFc + b – наиболее часто встречающиеся делеции, они могут быть связаны с различными сперматогенными дефектами. По рекомендации международных организаций, занимающихся проблемами бесплодия, инфертильным пациентам, которым назначено лечение с помощью ИКСИ, следует проводить генетические консультации и наряду с кариотипированием выполнять анализ AZF-участка Y-хромосомы.

Рис. 1. Карта AZF-локуса

Map	STS	Locus	Region
1	sY14	SRY	Yp11.3
2	ZFY	ZFY	
3	sY81	DYS271	Yq11.21
4	sY86	DYS148	
5	sY625	G65849	AZFa
6	sY84	DYS273	
7	M259	DDX3Y	
8	sY90	DYS278	Yq11.221
9	sY127	DYS218	
10	sY131	DYS222	AZFb
11	sY134	DYS224	
12	sY254	DAZ1-4	AZFc
13	sY255	DAZ1-4	
14	sY157	DYS240	

А.А. Исламова (РФ, 2007) привела данные анализа микроделеций AZF локуса у больных с нарушением сперматогенеза татарской, русской, башкирской и казахской этнической принадлежности и показала, что частота микроделеций в исследованной выборке больных составила 10,7 % и соответствует средним значениям таковых в азиатских популяциях (11,7 %).

Подавляющее большинство делеций (93 %) было обнаружено у больных татарской, русской, башкирской и казахской этнических групп, составляющих 81 % от общей выборки больных. В группе больных с нарушением сперматогенеза татарской этнической принадлежности частота делеций AZF локуса составила 8,7 %, что соответствует средней частоте микроделеций в европейских популяциях. У лиц, принадлежащих к русской этнической группе, это значение оказалось равно 6,7 % и сходно с таковыми у больных с бесплодием из Нидерландов, Испании, Словении. Более высокими были частоты в башкирской и казахской группах – 17,4 % и 25 % соответственно, т. е. близкими к частотам микроделеций у больных с нарушением сперматогенеза из Японии, Израиля, Кореи.

Заключение

Результаты многочисленных исследований AZF-микроделеций у мужчин с бесплодием убедительно свидетельствуют о высокой значимости генов Y-хромосомы в контроле сперматогенеза у человека и являются одной из наиболее частых (мажорных) генетических причин мужского бесплодия при таких формах нарушения сперматогенеза, как азооспермия и олигозооспермия тяжелой степени.

личие классических микроделеций должен быть рекомендован всем мужчинам с азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени. Важно отметить, что частичные AZF-делеции представляют собой наследуемые полиморфные варианты Y-хромосомы, поэтому их наличие не является показанием выбора пола плода у мужчин в программах экстракорпорального оплодотворения (В.Б. Черных).

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/ИКСИ (В.Б. Черных и соавт.).

Отметим, что исследование AZF-локуса на определение микроделеций Y-хромосомы внедрено в Алматы молекулярно-генетической лабораторией TreeGene. Анализ микроделеций проводится на секвенаторе Applied Biosystem по 14 STS маркерам, включающим регионы AZFa, b и с методом QF-PCR (количественная флуоресцентная ПЦР) (рис.1).

Для исследования используется венозная кровь пациента, собранная в пробирку, содержащую в качестве антикоагулянта ЭДТА (пробирки

Рис. 2. Результат, полученный из нормального образца, присутствуют все маркеры AZF региона.

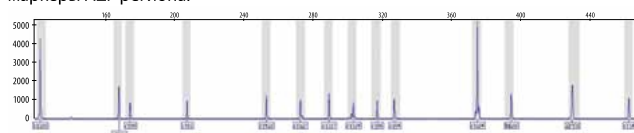
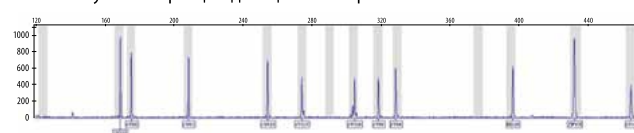


Рис. 3. Результат образца с делецией AZFc региона



В среде специалистов в области генетики, андрологии, репродуктивной медицины произошло осознание того, что фактор азооспермии является одной из наиболее распространенных причин бесплодия у мужчин, и исследование этих факторов широко вошло в мировую практику. Молекулярно-генетический анализ Y-хромосомы на

с сиреневой крышечкой). Для сдачи анализа особых правил преаналитической подготовки пациента не требуется.

■ Дегемерзанова Н.К.,
Соломадин М.В.,
молекулярно-генетическая
лаборатория TreeGene,
info@tree-gene.com