

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ

З.Б. Ракишева, Н.К. Дегемерзанова, А.Х. Ерденова, М.В. Соломадин
 Молекулярно-генетическая лаборатория TreeGene
 Казахстан, Алматы

АННОТАЦИЯ

В статье рассматриваются генетические причины мужского бесплодия, выявление которых стало возможным благодаря внедрению молекулярно-генетических технологий обследования пациентов. Приведены данные собственных исследований. Полученные результаты еще раз подтверждают необходимость генетического обследования на микроделеции локусов AZF у пациентов с бесплодием неясного генеза и нарушениями сперматогенеза.

Ключевые слова: мужское бесплодие, молекулярно-генетические исследования, AZF-микроделеции Y-хромосомы.

Успешное развитие молекулярной генетики в последние десятилетия существенно расширило возможности диагностики и лечения многих заболеваний. Большинство болезней имеют сложную мультифакториальную этиологию, когда их развитие определяют как генетические, так и эпигенетические (экзогенные) факторы. К ряду мультифакториальных патологий относятся и нарушения репродуктивной системы. Одной из серьезных проблем в этой области остается бесплодие.

Бесплодием страдает около 20% пар репродуктивного возраста, при этом в половине случаев оно обусловлено нарушением репродуктивной функции у мужчин. Сперматогенез представляет собой сложный биологический многоэтапный процесс, завершающийся образованием зрелых мужских половых клеток – сперматозоидов. Данный процесс контролируется большим количеством генов, расположенных как на аутосомах, так и на гоносомах (половых хромосомах), в особенности на Y-хромосоме. Нарушение сперматогенеза может проявляться азооспермией (отсутствие сперматозоидов в эякуляте), олигозооспермией (пониженная концентрация сперматозоидов), астенозооспермией (снижение подвижности сперматозоидов) и тератозооспермией (основное количество сперматозоидов с измененной формой). Примерно в 30-40% причина мужского бесплодия не выявляется традиционными клинико-лабораторными методами диагностики, включая цитогенетический анализ. Внедрение молекулярно-генетических методов исследования дает возможность выявить еще одну причину мужской формы бесплодия – микроделеции Y-хромосомы.

Результаты молекулярно-генетических исследований Y-хромосомы при нарушениях сперматогене-

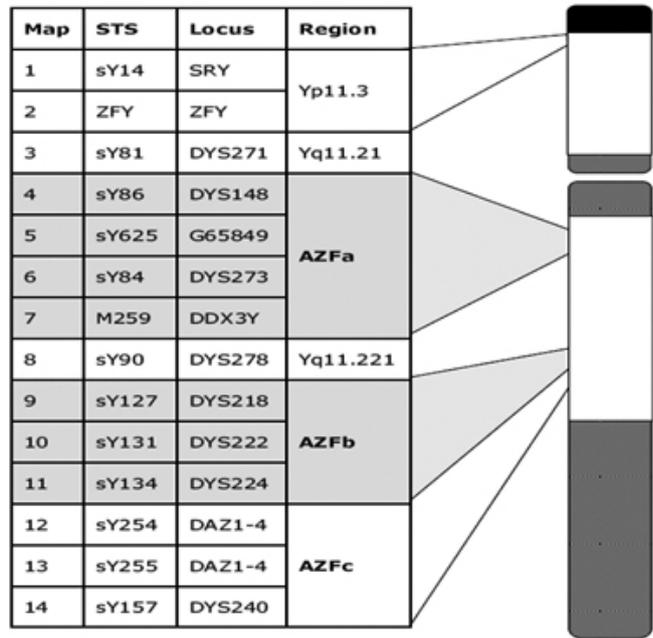


Рисунок 1- Карта AZF-локуса

за позволили предположить, что на Y-хромосоме расположен один или несколько генов, отвечающих за факторы азооспермии (AZF), и впоследствии на длинном плече Y-хромосомы были идентифицированы три неперекрывающихся области (AZFa, AZFb и AZFc). Молекулярный анализ делеций данных участков привел к идентификации серии генов, которые могут быть важными для сперматогенеза. Так, например, область делеции AZFc содержит несколько семейств генов, экспрессирующихся в яичке, включая ген DAZ (утраченный при азооспермии, англ. deleted in azoospermia). Делеции AZFc возникают de novo примерно у 1 из 4000 мужчин

и вызваны они рекомбинациями между длинными повторяющимися последовательностями. Делеции AZFa и AZFb, хотя и менее частые, также вызваны рекомбинациями. Приблизительно 2% в остальном здоровых мужчин бесплодны из-за серьезных дефектов в сперматогенезе. Предположительно, часть из таких нарушений связаны с возникшими de novo делециями [1].

За последние два года нами было проведено исследование микроделеций AZF локусов Y-хромосомы у 95 пациентов с нарушениями сперматогенеза невыясненного генеза. Средний возраст пациентов составил 30,76 лет.

Анализ микроделеций проводился на секвенаторе Applied Biosystem по 14 STS маркерам, включающим регионы AZFa, AZFb и AZFc с использованием мультиплексной ПЦР. Выявлены микроделеции у 12,63% обследованных.

В основном это делеции AZFc-региона (51%), далее AZFb (38%) и меньше всего встречается микроделеций в AZFa-регионе (11%).



Рисунок 2 - Возраст пациентов

Распределение делеций по регионам a, b, c

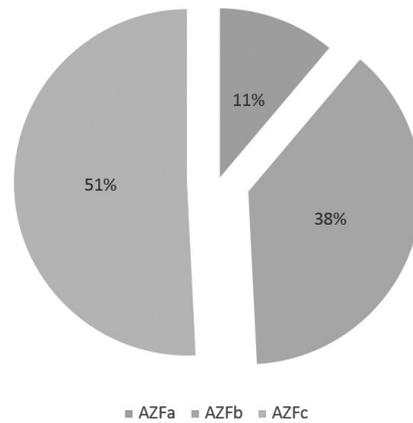


Рисунок 4 - Распределение делеций по регионам a, b, c

Обнаруженные делеции

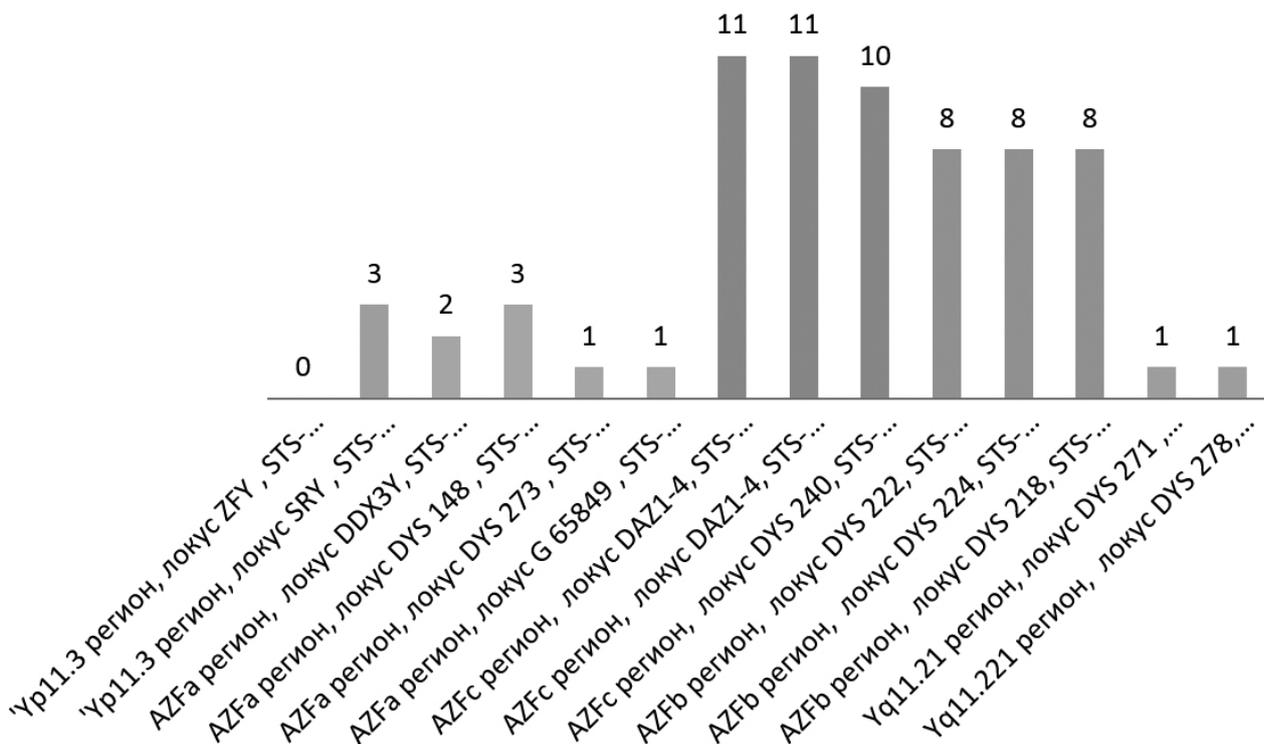


Рисунок 3 - Обнаруженные делеции

Полученные результаты соответствуют данным литературы, согласно которым AZF-делеции обнаруживаются в среднем у 10% мужчин с нарушениями сперматогенеза [2].

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. 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. Предварительные результаты показывают, что AZFa и 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 [2,3].

Таким образом, мужчин с идиопатическим бесплодием следует не только кариотипировать на наличие хромосомных аберраций, обнаруживаемых традиционными цитогенетическими методами, но и проводить молекулярное исследование Y-хромосомы с генетическим консультированием перед началом вспомогательных репродуктивных технологий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ньюссбаум, Роберт Л., Мак-Иннес Родерик Р., Виллард, Хантингтон Ф. – М., – 2010. – 624с.
2. Черных В.Б. AZF делеции – частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований. Проблемы репродукции. – 2009. – Т. 15. –№1. – С. 10-15.
3. Дегемерзанова Н.К., Соломадин М.В. AZF-микроделеции Y-хромосомы. Молекулярно-генетические исследования при мужском бесплодии, доступные в Казахстане. КМЖ (Казахстанский медицинский журнал). – 2012. –№6 (30). – С. 86-89.

REFERENCES

1. Nussbaum Robert L., Mc-Innes Roderick R., Willard, And Huntington F. Medical genetics. – M., –2010. – 624 c.
2. Black V. B. AZF deletions are frequent genetic cause of infertility in men: current state of research. Problems reproduction. – 2009. – Т. 15. –No. 1. – S. 10-15.
3. Daemarteba N. To., Solomatin M. V. AZF-microdeletions of the Y-chromosome. Molecular genetic study for male infertility available in Kazakhstan. KMG (Kazakhstan medical journal). – 2012. – №6 (30). – S. 86-89.

ТҮЙІНДЕМЕ

ЕРКЕК БЕДЕУЛІГІНДЕГІН МОЛЕКУЛАЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ ДИАГНОСТИКАЛАУ

З. Б. Ракишева, Н.К. Дегемерзанова, А. Х. Ерденева, М. В. Соломадин
Молекулярлы-генетикалық лаборатория TreeGene
Қазақстан, Алматы

Мақалада еркек бедеулігінің генетикалық себептері қарастырылған, бедеудің себептерін анықтау молекулалық-генетикалық технологияларды ендірудің нәтижесінде мүмкіндікке ие болды. Жеке зерттеулердің нәтижелері ұсынылды. Зерттеуден алынған нәтижелер сперматогенезі бұзылған және бедеулігінің пайда болу себептері белгісіз науқастарда AZF локустардың микроделециясына генетикалық зерттеулерді жүргізу керектігін бекітті.

Түйін сөздер: еркектік бедеулік, молекулалық-генетикалық зерттеу, Y-хромосомасының AZF-микроделециясы.



SUMMARY

MOLECULAR GENETICS DIAGNOSIS IN MALE INFERTILITY

Z. B. Rakisheva, N. To.Daemarteba, A.H. Erdenova, M.V. Solomatin
Molecular genetic laboratory TreeGene
Kazakhstan, Almaty

The article discusses the genetic causes of male infertility, the identification of which was made possible thanks to the introduction of molecular genetics technologies for examination of patients. The data of research. The results obtained confirm the necessity of genetic screening for microdeletions of AZF loci in patients with unexplained infertility and impaired spermatogenesis.

Key words: male infertility, molecular genetic studies, AZF-microdeletions of the Y-chromosome.