

Y-хромосома, AZF-микроделеции и идиопатическое бесплодие у мужчин (обзор литературы).

Бесплодием страдают около 10-15% супружеских пар, при этом примерно в 50% случаев оно обусловлено нарушением репродуктивной функции со стороны мужчины, а еще в 20% - нарушением репродуктивной функции обоих супругов [1-4]. Бесплодие у мужчин в 40-50% случаев может быть связано с нарушениями количественных и/или качественных показателей эякулята [2, 3]. Примерно у 31,7% мужчин причину бесплодия установить не удастся (идиопатическое бесплодие) [5]; предполагается, что оно обусловлено генетическими или иммунологическими факторами.

Сперматогенез представляет собой сложный 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 [6, 7]. Мутации генов, контролирующих этапы сперматогенеза, могут приводить к нарушению подвижности, морфологических и фертильных свойств сперматозоидов, блоку сперматогенеза, проявляясь в диапазоне от легкого снижения сперматогенной активности до полного отсутствия половых клеток в семенных канальцах (синдром "только клетки Сертоли»). Так, микроделеции локуса *AZF* (*Azoospermia Factor*, фактор азооспермии) [8-11] хромосомы *Y* обнаруживаются в среднем в 10-15% случаев азооспермии и в 5-10% случаев олигозооспермии тяжелой степени [2] и обуславливают нарушения сперматогенеза и бесплодие у мужчин. *AZF*-локус содержит три неперекрывающихся субрегиона: *AZF_a*, *AZF_b* и *AZF_c* [11]. Каждый из них содержит ряд кандидатных генов [7], мутации которых приводят к азооспермии или олигозооспермии тяжелой степени. Однако пока ген (или гены), ответственный за возникновение такой патологии сперматогенеза, не определен.

В настоящее время широкое использование метода ИКСИ (*ICSI* - *Intracytoplasmic Sperm Injection*, введение сперматозоида в цитоплазму яйцеклетки) позволяет преодолеть ряд нарушений репродуктивной функции у мужчин. Однако возможность передачи потомству генетических нарушений, в том числе микроделеций Y-хромосомы от отца сыну, диктует необходимость генетического обследования супружеской пары, включающего микроделеционный анализ Y-хромосомы у мужчин перед проведением ИКСИ [1-4, 12, 13].

Y-хромосома человека

Y-хромосома является наименьшей по размеру из 24 хромосом у человека и содержит около 2-3% ДНК гаплоидного генома, составляя приблизительно 51 Mb (1 Mb равен 1000 kb, или 10п.н.) ДНК [19] (рис. 1).

Из всего объема ДНК Y-хромосомы на данный момент секвенировано 21.8 Mb [14, 15]. Короткое плечо Y-хромосомы (*Yp*) содержит примерно 11 Mb, а длинное плечо (*Yq*) - 40 Mb ДНК, из которых около 7 Mb приходится на эухроматиновую часть *Yq* и около 3 Mb ДНК на центромерную область хромосомы [14, 15].

Большая часть (~60%) длинного плеча *Y*-хромосомы представляет собой функционально неактивный гетерохроматин, имеющий размер около 24 *Mb*. В *Y*-хромосоме выделяют несколько областей [16]:

- псевдоаутосомные области (*PARs*);
- эухроматиновую область короткого плеча (*Yp11*);
- эухроматиновую область проксимальной части длинного плеча (*Yq11*);
- гетерохроматиновую область дистальной части длинного плеча (*Yq12*);
- область прицентромерного гетерохроматина.

Половые хромосомы (гоносомы) значительно различаются между собой по структуре и числу генов. Хромосома *X* имеет больший, чем хромосома *Y*, размер, большая ее часть представлена эухроматином и содержит приблизительно 3000-4000 генов, тогда как *Y*-хромосома имеет меньший размер, большая ее часть представлена гетерохроматином, и она содержит около 100 функциональных генов. Несмотря на эти существенные различия, вследствие присутствия на их теломерах *PAR*-регионов, гоносомы регулярно конъюгируют и рекомбинируют участками этих регионов в зиготене и пахитене профазы I мейоза. Однако большая часть (~95%) *Y*-хромосомы не принимает участия в рекомбинации, и поэтому называется нерекombинирующей областью *Y*-хромосомы (*NR**Y* - *Non Recombinant Region Y chromosome*) [16].

Гетерохроматиновая область длинного плеча *Y*-хромосомы является генетически инертной и содержит различные типы повторов, в том числе высокоповторяющиеся последовательности двух семейств *DYZ1* и *DYZ2*, каждый из которых представлен приблизительно 5000 и 2000 копиями соответственно [2].

На основе сравнительного анализа генов гоносом *X* и *Y* в *Y*-хромосоме выделяют три группы генов [2, 16]:

Рис. 1. Схема *Y*-хромосомы человека (по данным GenBank, 2001).

1. *PAR*-гены (*PAR* - *Pseudoautosomal Region*; гены псевдоаутосомных областей *PAR1* и *PAR2*), локализованные в теломерных областях *Y*-хромосомы;
2. *X-Y* гомологичные гены, локализованные в нерекombинирующих областях *Yp* и *Yq*;
3. *Y*-специфичные гены, расположенные в нерекombинирующих областях *Yp* и *Yq*.

Первая группа представлена генами псевдоаутосомных областей (регионов). Они являются идентичными для *X*- и *Y*-хромосом и наследуются как аутосомные гены. *PAR1*-регион расположен на конце короткого плеча *Y*-хромосомы, он больше по размеру, чем *PAR2*-регион, локализованный на конце длинного плеча *Y*-хромосомы, и его размер приблизительно оценивается в 2,6 *Mb*. Так как делеции *PAR1* приводят к нарушениям конъюгации гоносом во время мейоза у мужчин и могут привести к мужскому бесплодию, предполагается, что *PAR*-регионы имеют существенное значение для нормального протекания сперматогенеза у мужчин [17].

Вторая группа генов содержит *X-Y*-гомологичные, но не идентичные гены, которые локализованы в нерекombинирующих районах *Y*-хромосомы (на *Yp* и *Yq*). В нее включены 10 генов, представленных на *Y*-хромосоме одной копией, большинство из них экспрессируются у человека во многих тканях и органах, включая яички и предстательную железу. До сих пор неизвестно, являются ли эти *X-Y*-гомологичные гены функционально взаимозаменяемыми.

Третью группу генов составляют 11 генов, которые расположены в нерекombинирующем районе *Y*-гоносомы (*URY*). Все эти гены, за исключением гена *SRY* (*Sex-Determining Region Y Chromosome, пол-детерминирующий регион Y-хромосомы*), представленного одной копией, являются мультикопийными, и их копии расположены

на обоих плечах *Y*-хромосомы. Некоторые из них являются генами-кандидатами на *AZF*-фактор (*Azoospermia factor*, или *фактор азооспермии*) [11].

О точных функциях большинства этих генов известно мало. Продукты, кодируемые генами нерекombинирующего региона *Y*-хромосомы, выполняют различные функции, например, среди них имеются факторы транскрипции, цитокиновые рецепторы, протеинкиназы и фосфатазы, которые могут влиять на клеточную пролиферацию и/или передачу сигналов в клетке. Все эти гены и кодируемые продукты требуют дальнейшего изучения в плане их возможной вовлеченности в контроль репродуктивной функции и патогенез опухолей яичка и предстательной железы у мужчин.

***AZF*-регион**

Впервые о роли генетических причин в нарушениях сперматогенеза высказано L. Tierpolo и O. Zuffardi в 1976 г. [8]. Они сообщили, что у 6 пациентов с бесплодием и азооспермией при проведении цитогенетического анализа были обнаружены делеции локуса *Yq11*. При этом в 4 случаях делеции были расценены как *de novo*. На основе этих данных была выдвинута гипотеза о существовании *AZF*, кодируемого геном или группой генов, расположенных в дистальной части длинного плеча *Y*-хромосомы. Присутствие *AZF*, локализованного в *Yq11*, было подтверждено как цитогенетическими, так и

молекулярными методами [18]. В дальнейшем с помощью *STSs*-технологии (sequence-tagged sites) при использовании более 200 *Y*-специфических зондов была построена детальная карта *AZF*-локуса, включающая 7 делеционных интервалов [19] (см. рис. 1).

В *Yq11*-области был выделен *AZF*-локус (регион), впоследствии разделенный на 3 субрегиона: *AZF_a*, *AZF_b* и *AZF_c*. Это было сделано на основе данных, полученных в одном из самых крупных исследований на наличие *Y*-микроделеций, включавшем 76 локусов у 370 мужчин с азооспермией или тяжелой формой олигозооспермии, у которых были обнаружены делеции в трех неперекрывающихся субрегионах локуса *AZF* [11] (рис. 2). Позднее была высказана гипотеза о существовании четвертого субрегиона - *AZF_d* [20], расположенного между *AZF_b*- и *AZF_c*-субрегионами, но затем было обнаружено, что этот субрегион является частью *AZF_c*-субрегиона.

Поэтому выделение отдельного субрегиона *AZF_d* в дальнейшем не имеет смысла [12]. L. Stuppia и соавт. сообщили о нескольких случаях частичных делеций *AZF_c* (только в интервале 6*E*) [21]. Это предполагает возможность присутствия генов, ответственных за сперматогенез, локализованных дистально от кластера генов *DAZ* (интервал 6*D*), в делеционном интервале 6*E*.

Карта делеционных интервалов локуса *AZF*

Молекулярный размер *AZF*-регионов был определен согласно карте интервалов Vogt, подразделяющей *Yq11* на 25 интервалов (*D1-D25*) [11]. С помощью карты Sigma карта интервалов Vogt была приблизительно соотнесена с картой Vollrath [19] следующим образом: микроделеции *D3-D6* субрегиона *AZF_a* карты Vogt соответствуют делециям интервала 5*C* карты Vollrath, *AZF_b*-микроделеции *D13-D16* карты Vogt соответствуют делециям интервала 5*O-6B* карты Vollrath, *AZF_c*-микроделеции *D20-D22* карты Vogt соответствуют делециям интервала 6*C-6E* карты Vollrath.

Гены и генные семейства локуса *AZF*

Несколько генов и генных семейств идентифицированы на длинном плече *Y*-хромосомы [16]. Условно эти гены можно разделить на две группы, в первую группу входят гены с обще клеточной активностью (*housekeeping genes*, или *гены домашнего хозяйства*), а во вторую группу входят тестис-специфичные гены, экспрессирующиеся исключительно в тканях яичка.

Представителями первой группы генов являются следующие [16]:

- 1) ген *DFFRY/USP9Y* (*Drosophila Developmental gene Fats Facets*), кодирующий деубиквитинизирующий фермент;
- 2) ген *DBY* (*Dead-box 3 on Y chromosome*), продукт которого содержит аминокислотную последовательность *Asp-Glu-Ala-Asp* и может функционировать как РНК-геликаза;
- 3) ген *UTY* (*Ubiquitously Tetratricopeptide repeat Y*, повсеместно распространенный тетратрикопептид - *TPR*), кодирующий белок, содержащий 10 тандемных *TPR*-мотивов, вероятно, вовлеченный в белок-белковое взаимодействие;
- 4) ген *eIF-1AY*, кодирующий 1*A*-изоформу эукариотического фактора инициации трансляции;

- 5) ген *SMCY* (*Seleted Mouse cDNA Y chromosome*, отобранная у мышей кДНК на Y-хромосоме), кодирующий H-Y антиген;
- 6) ген *TB4Y*, имеющий X-гомолог ген *TB4X* и кодирующий Y-изоформу тимозина b-4, участвующую в процессах секвестрации актина.

Рис. 2. Схема делеционных интервалов Y-хромосомы (Voolrath D. et al., 1992).

Сверху показано положение генов и генных семейств, снизу - STS -маркеры, отвечающие положению каждого делеционного интервала. Положение субрегионов *ASFa*, *ASFb*, *ASFc* показано.

Гены первой группы не являются "тканеспецифичными" и представлены на Y-хромосоме единственной копией, при этом каждый ген имеет гомолог на X-хромосоме, который функционально неактивен. При этом степень идентичности последовательностей среди X- и Y-гомологов равна не менее 84% [16].

Тестис-специфическая группа генов включает в себя [16]:

- 1) *RBMU*-гены (*RNA-binding motif Y*, РНК-связывающий мотив Y);
- 2) *DAZ*-гены (*Deleted in Azoospermia*, гены, deletированные при азооспермии); продукты генов *RBMU* и *DAZ*, связываясь с тестис-специфичными транскриптами, регулируют экспрессию кодирующих их генов;
- 3) гены *CDY1* и *CDY2* (*Chromodomen Y chromosome*, хромодомен Y1 и хромодомен Y2), могут быть вовлечены в модификацию хроматид;
- 4) ген *XKRY* (*XK-Related Y*, гомологичный гену *XK*, расположенному на X-хромосоме), который, предположительно, кодирует мембранный транспортный белок;
- 5) ген *PRY* (*PTP-BL-Related Y*, родственник гену *PTP-BL* (протеин-тирозин-фосфатаза *BAS*-подобный ген)), предположительно, кодирует мембрано-транспортный белок;
- 6) гены *BPY1* и *BPY2* (*Basic Protein Y*, гены основных белков Y1 и Y2 соответственно), функция которых пока неизвестна.

Гены тестис-специфичной группы представлены на Y-хромосоме множественными копиями и не имеют X-гомологов [16].

Семейство генов *RBMU*

RBMU (*RBM*)-ген (*RNA-binding Motif Y chromosome*, РНК-связывающий мотив Y-хромосомы) является мультикопийным, при этом большинство его копий локализуется в интервале 6 на Yq и только несколько копий расположены внутри *GBY*-критического интервала [22, 23]. Всего на обоих плечах Y-хромосомы обнаружено более 30 копий генов и псевдогенов *RBMU* [22-26]. Хотя копии *RBMU*-гена обнаружены в различных областях Y-хромосомы, положение функциональных копий генов *RBMU*, по-видимому, ограничено *AZFb*-субрегионом (делеционный интервал 5O-5B), так как при микроделециях этого участка (*sY142-sY145*) продукты, кодируемые генами *RBMU*, теряют эпитопы, узнаваемые специфичными антителами к *RBMU* [27]. Семейство генов *RBM* включает два типа *RBM*-копий, соответственно *RBM I* и *RBM II*. Исследуя *RBM*-транскрипты и кДНК-клоны генов *RBM*, J. Prosser и соавт. показали, что семейство *RBMU I*

включает несколько функциональных генов (минимум 7 копий), локализованных в *AZFb*-субрегионе, при этом все они функционально активны [24, 25].

Последовательность гена *RBM1* на 67% гомологична последовательности аутосомного гена *HNRNPG*, имеющего повсеместную экспрессию и кодирующего рибонуклеопротеин *G*, который является ядерным гликопротеином с РНК-связывающей активностью. Последовательность генов *RBMII* на 88% гомологична последовательности генов *RBM1* и кодирует *RBMp* (*RBM*-белок) с одной копией *SRGY*-повтора (мотив *Ser-Arg-Gly-Trp*). Вероятно, что гены *RBMU* возникли в результате транспозиции и последующей амплификации на *Y*-хромосоме предкового аутосомного гомолога - гена *HNRNPG* в процессе эволюции около 130 млн лет назад [26].

Белки, кодируемые генами *RBM*, обнаружены в ядрах мужских половых клеток на различных стадиях сперматогенеза - от сперматогониев до округлых сперматид [27]. У человека *RBMU1* может быть обнаружен с помощью гистоиммунологической реакции в сперматоцитах на стадии пахитены, при этом данный белок локализуется в дискретной области ядра в комплексе с пре-мРНК-сплайсинговыми компонентами, но на более поздних стадиях дифференцировки половых клеток он обнаруживается диффузно по всей нуклеоплазме сперматид. Вероятно, продукты, кодируемые генами *RBMU*, участвуют в метаболизме новосинтезированных РНК-транскриптов [27], а их отсутствие или инактивация может обуславливать азооспермию при микроделеции в интервале 6 [22]. Отсюда следует, что гены *RBMU*, вероятно, играют важную роль при прохождении сперматоцитов через стадии профазы I мейоза.

Хотя *RBM*-транскрипты были обнаружены в тканях гонадобластомы [28], маловероятно, что он является геном-кандидатом на *GBY*, так как большинство функциональных копий локализованы вне *GBY*-критического региона.

Семейство генов *DAZ*

Изначально, *DAZ* был описан как единично копийный ген *AZFc*-субрегиона (локус *Yq11.23*) [29]. Однако в дальнейшем в том же самом регионе был картирован гомологичный ему ген *SPGY*, описанный как мультикопийный [30]. Несмотря на структурную гомологию между этими генами (степень гомологии не менее 85%), обнаружено четкое различие между ними по числу и расположению тандемных повторов размером 72 п.н. Поэтому все гены *DAZ* и *SPGY* решено обозначать как семейство генов *DAZ*, при этом *DAZ* относится к генам *DAZ1*, а *SPGY* к генам *DAZ2*. С помощью метода *FISH* (флюоресцентная гибридизация *in situ*) в дистальной части хромосомы 3 (локус *3p24*) был обнаружен аутосомный гомолог гена *DAZ*, названный *DAZL1* (*DAZ-like autosomal 1*) или *DAZH* (*DAZ-Homolog*), обладающий 89% гомологии последовательности гена *DAZ* [31, 32].

Точное количество генов семейства *DAZ* пока не известно. На основе данных Саузерн-блоттинга с геномной

ДНК предположено, что *Y*-хромосома здорового индивидуума содержит многочисленные копии *DAZ*-генов, которые полиморфны в области *DAZ*-повторов [33]. Область *DAZ*-региона в интерфазных ядрах соматических клеток и сперматозоидов была изучена с помощью *FISH*-анализа [34]. В этом регионе обнаружено 2 небольших кластера, расположенных на расстоянии 400 kb друг от друга [34]. В каждом кластере имеется по 2 гена *DAZ*, которые расположены в кластерах в инвертированном положении, т.е. "голова к голове". При использовании зондов на экзоны 1 и 2-7 выявлены 3 функциональные копии *DAZ*, однако впоследствии было обнаружено 7 копий гена и 6 *SNP*-гаплотипа [35].

DAZ-транскрипты высокополиморфны по структуре и числу транскрипционных единиц

экзона 7. При этом экзон 7 гена *DAZ*, по-видимому, связан с полиморфным локусом *DYS1*. Вероятно, что кластер *DAZ*-генов и полиморфные последовательности *DYS1* одно и то же структурное образование [31]. Кроме того, было обнаружено, что *DYS1* у человека гомологичен гену *DAZH*, локализованному на хромосоме 3 [31].

Вероятно, гены семейства *DAZ* произошли в результате транслокации на *Y*-хромосому, а также в результате последующей амплификации предкового аутосомного гена *DAZL1* (также называемого *DAZLA*, *DAZH* и *SPGYLA*). Это произошло приблизительно 30-50 млн лет назад при дивергенции приматов Нового и Старого Света.

DAZ-транскрипционная единица, по-видимому, содержит не менее 10 экзонов и имеет приблизительный размер 42 kb [31]. Она включает 9 тандемных повторов по 2,4 Kb, каждый из которых кодирует 24 аминокислоты. Повторы фланкированы *Alu*-последовательностями, при этом две расположены слева, три - справа. Седьмой повтор прерывается *LINE*-элементом. В нем отсутствует 72-bp экзон, по-видимому, делетированный в месте инсерции элемента *LINE*. Экзоны 2-5 кодируют РНК-связывающий домен, выполняющий регуляторную функцию, влияющую на экспрессию тестис-специфических генов.

Ген *DAZ* содержит 9 псевдоэкзонов, при этом 8 из 9 псевдоэкзонов являются остатками амплифицированного 8-го экзона *DAZH*, и большая часть псевдоэкзонов расположена между последним *DAZ*-повтором и экзоном 9 [31].

Обнаружено, что гены семейства *DAZ* специфично экспрессируются в мужских половых клетках, на стадии сперматогоний [36]. При использовании метода *RT-PCR* у мышей транскрипты гена *DAZH* были обнаружены исключительно в половых клетках, в большей степени в сперматоцитах, в меньшей в сперматогониях [37, 38]. У человека *DAZ*-продукты выявлены в поздних сперматидеях во внутренней выстилке сперматогенного эпителия и в хвосте сперматозоидов [39].

По-видимому, продукты, кодируемые генами *DAZ*, участвуют в метаболизме мРНК тестис-специфических генов. Они регулируют экспрессию генов в дифференцирующихся половых клетках на этапах сплайсинга, транспорта, хранения и селективной трансляции мРНК вплоть до образования зрелых сперматозоидов [37, 39]. Обнаружено, что делеции генов *DAZ* и *DAZ2* могут сочетаться с созреванием сперматид, но не с развитием сперматогониев или образованием сперматоцитов [39].

Аутосомный ген *DAZH* (*DAZL1*) специфично экспрессируется в яичках половозрелого мужчины, но низкий уровень экспрессии обнаружен также в яичниках [40, 41]. У человека функция этого гена пока не ясна. У мышей отсутствует *Y*-локализованный гомолог, но они все же несут единственный аутосомный ген *DAZL1* [37]. У них *DAZL1* является регуляторным геном ранней дифференцировки половых клеток, его продукт участвует в регуляции транскрипции в премейотических сперматоцитах [42].

Инактивация ("нокаут") гена *DAZL1* у мышей ведет к полному отсутствию продукции гамет как в семенниках, так и в яичниках, приводя к стерильности, демонстрируя, что он является существенным для развития и жизнеспособности половых клеток особей обоего пола [38]. Попытка оценки функциональной эквивалентности генов *DAZ* и *DAZL1* была осуществлена R. Slee и соавт. [43]. Введение мышам-"нокаутам" по гену *DAZL1* (-/-) генетических конструкций на основе *YAC* (*Yeast Artificial Chromosome*, искусственные хромосомы дрожжей), содержащих ген *DAZ*, не привела к восстановлению фертильности, хотя вызвала увеличение числа половых клеток в семенных канальцах и выживаемости гамет до стадии пахитены мейоза. Эти данные подтверждают высокую степень функциональной консервативности *DAZ* и *DAZL1* и позволяют думать о возможности

регуляции экспрессии этих генов с целью контрацепции и терапевтических подходов у пациентов с мутациями этих генов [43].

Возможно, что ген *DAZL1* (*DAZH*) является существенным для нормального протекания гаметогенеза, и его мутации могут быть причиной аутосомно-рецессивного мужского бесплодия.

***AZFa*-субрегион**

AZFa-субрегион расположен в проксимальной части *Yq* (*Yq11.21*) в области интервала 5 и дистальнее *DYS3*. Произведено секвенирование субрегиона *AZFa*, и подсчитан его размер [44]. Он составляет около 0,8 Mb. В этом субрегионе локализовано несколько генов, входящих в группу X-Y гомологичных генов, которые принимают участие в гаметогенезе [45, 46]. С. Sun и соавт. выявили в субрегионе *AZFa* два функциональных гена *USP9Y* (*DFFRY*) и *DBY*, а также не менее 11 псевдогенов [46].

Ген *DFFRY* (*USP9Y*) имеет размер 159 kb и включает в себя 46 экзонов [46]. У него есть гомолог - ген *DFFRX* (*Drosophila Developmental gene Fats Facets*), кодирующая область которого имеет 89% идентичности. Эти гены кодируют гидролазы, содержащие в С-конце консервативные Cys- и His-домены и участвующие в процессе деубиквитизации. У человека ген *DFFRY* экспрессируется в различных тканях эмбриона и взрослого, в отличие от гена *DFFRY* у мышей, который экспрессируется только в семенниках.

Гомолог гена *DBX* ген *DBY* (*DEAD-box3 on Y*), локализованный в интервале 5C [16], имеет размер около 16 kb и включает в себя 17 экзонов [44]. Оба гена кодируют белки, являющиеся членами семейства "Dead-box", представляют собой АТФ-зависимые РНК-геликазы, играющие важную роль в метаболизме РНК [44].

Ген *UTY* (*Ubiquitously Transcribed Tetrapeptide gene on Y chromosome*, повсеместно транскрибируемый *TRP* ген на Y-хромосоме) содержит 20 экзонов [47]. Его транскрипт, имеющий размер 5,5 kb, кодирует белок, состоящий из 1186 аминокислотных остатков и содержащий в N-конце 8 *TRP* повторов. Он имеет X-гомолог - ген *UTX* (*Xp11.2*), который экспрессируется с инактивированной X-хромосомы. Продукт гена *UTY* представляет собой специфичный мужской антиген *H-YD*, экспрессирующийся в мужских половых клетках.

***AZFb*-субрегион**

AZFb-субрегион локализован между интервалом 5 и проксимальной частью интервала 6 (*Yq11.22-23*) и имеет длину приблизительно 1-3 Mb [11]. Он содержит несколько генов: копии генов семейств *RBM1* и *RBM2*, *XKRY*- и *CDY*-копии, а также гены *PRY*, *EIF-1A*, *SMCY*.

Гены *CDY1* и *CDY2* являются тестис-специфическими, кодируемые ими белки, содержащие хроматинсвязывающий и каталитический домены, способны вступать во взаимодействие с хроматином, модифицируя структуры ДНК и нуклеопротеидов, связанных с ДНК [48]. Ген *CDY1* картирован в интервале 6F, а ген *CDY2* - в интервале 5L, однако не исключено, что каждый ген присутствует в этих интервалах в нескольких копиях [47]. Отмечена высокая степень идентичности между этими генами (по нуклеотидной последовательности 99%, по последовательности аминокислот 98%) [47].

Кроме того, выявлен их аутосомный гомолог - ген *CDYL* (*CDY-like*), локализованный на хромосоме 6 и имеющий 73% идентичности с генами *CDY1* и *CDY2* [47].

Ген *CDY1* кодирует две изоформы белка: мажорную и минорную, отличающуюся присутствием интронной последовательности и альтернативного поли-*A*-тракта. Обнаружено, что ген *CDYL* не имеет тканеспецифической экспрессии, а гены *CDY1* и *CDY2* специфично экспрессируются в яичках [47]. Так как гены *CDY1* и *CDY2* не имеют интронных последовательностей, вероятно, что они произошли в результате ретропозиции на *Y*-хромосому процессированного *CDYL*-транскрипта у приматов в процессе эволюции около 40-50 млн лет назад [47].

Ген *PRY* кодирует *PTP-BL*-гомологичный белок (предшественник белка тирозиновой фосфатазы). Ген *XKRY* кодирует *XK*-гомологичный белок, являющийся мембранным белком и участвующий в процессах трансмембранного транспорта. Ген *EI-1A* картирован в интервале 5*Q* (между *sY127* и *sY129*). Этот ген кодирует эукариотический фактор транскрипции 1*A* [16]. Степень гомологии последовательностей *X-Y*-гомологов составляет около 97%, при этом *X*-гомолог не подвержен *X*-инактивации, и оба гомолога экспрессируются в яичках на высоком уровне.

Ген *SMCY* локализован в интервале 5*O/5P* между маркерами *DYS214* и *DYS215* [49]. Он содержит 27 экзонов и кодирует *H-Y*-антиген (*H-Y/HLA-B7*), который является мембранным клеточным белком, специфичным для мужчин [49]. Отмечена высокая гомологичность генов *SMCY/SMCX* по последовательности кДНК, имеющей размер 4620 п.н. (77%), и кодируемых ими белков (84,4%) [49,50]. У эмбрионов мыши экспрессируется минимум 2 транскрипта генов *SMCY/X* [50]. Функция этих генов еще недостаточно изучена.

***AZFc*-субрегион**

AZFc-субрегион локализован проксимально от гетерохроматиновой области (*Yq11.22-23*), и его размер оценивается примерно в 1,4*Mb* [11]. Он содержит несколько генов и генных семейств, представленных на *Y*-хромосоме множественными копиями, которые специфично экспрессируются в яичках. В этом участке находится минимум 6 копий гена *DAZ* (интервал 6 между *DYS7C* и *DYS233*) [29], ген *PRY*, кодирующий *PTP-BL*-гомологичный белок (предшественник белка тирозиновой фосфатазы), представленный на *Y*-хромосоме не менее чем двумя копиями; ген *BPY2* (*Basic Protein Y chromosome*), кодирующий основной белок; ген *XKRY*, а также гены *TTY1* и *TTY2*, кодирующие тестикулярные транскрипты (*Testis Transcript Y1* и *Testis Transcript Y2*) [16].

Трансляция этих транскриптов еще не подтверждена и функция белков, кодируемых этими генами, пока не известна. Кроме того, в *AZFc*-субрегионе обнаружены копии генов *RBM*, *CDY* и других. Часть этих генов, а чаще все теряются при делеции *AZFc*-субрегиона, приводя в ряде случаев к олигозооспермии, а в некоторых случаях нарушений сперматогенеза не отмечается и фертильность у мужчин остается нормальной.

Выбор пациентов для проведения микроделеционного анализа

В настоящее время не выработаны критерии отбора пациентов для проведения микроделеционного анализа *Y*-хромосомы [1, 2, 12]. Безусловно, данное исследование необходимо проводить всем мужчинам перед планируемым ИКСИ из-за высокого риска передачи *Y*-микроделений сыновьям. Кроме того, исследование *AZF*-локуса на наличие микроделений должно выполняться у мужчин с показателем количества сперматозоидов менее 5 млн/мл, т.е. с азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени [12].

Данное исследование в ряде случаев позволяет установить генетическую причину нарушений сперматогенеза, проводить дифференциальную диагностику бесплодия у мужчин, корректировать терапевтические подходы, избегая "лишнего" лечения, а также прогнозировать возможность получения сперматозоидов для ИКСИ или ЭКО. Так как чаще всего микроделеции обнаруживаются у мужчин с идиопатическим бесплодием (бесплодием неясного генеза), то им в первую очередь показано обследование *AZF*-локуса на наличие микроделеций.

Довольно часто у пациентов с микроделециями *Y*-хромосомы в анамнезе могут быть и другие (негенетические) причины нарушения сперматогенеза, такие как половые инфекции, варикоцеле, крипторхизм, которые сами по себе редко приводят к столь глубоким нарушениям сперматогенеза. Поэтому отбор пациентов для проведения анализа на микроделеции *Y*-хромосомы должен осуществляться индивидуально [12].

Частота выявления *AZF*-микроделеций

К настоящему времени анализ микроделеций *Y*-хромосомы проведен у более 3000 мужчин с бесплодием и более 1300 мужчин с подтвержденной фертильностью [12]. Частота обнаружения *AZF*-микроделеций значительно варьирует от 1 до 55% [2]. В среднем она составляет 10-15% среди пациентов с азооспермией, 5-10% - среди пациентов с олигозооспермией тяжелой степени [2]. У пациентов с нормозооспермией в некоторых случаях отмечено обнаружение делеций, захватывающих *AZFc*-субрегион. Обобщение многочисленных данных литературы показывает, что *AZF*-микроделеции обнаруживаются у 7,3% мужчин с бесплодием [12]. Большая часть (66%) микроделеций найдена у пациентов с азооспермией, в 28% случаев - у пациентов с олигозооспермией тяжелой степени (количество сперматозоидов менее 5 млн/мл) и реже (6%) - у мужчин с количеством сперматозоидов более 5 млн/мл.

Широкий разброс данных обусловлен влиянием ряда факторов, среди которых наибольшее значение имеют критерии отбора пациентов для проведения микроделеционного анализа. Входят ли в отбираемую группу пациенты только с азооспермией или пациенты с азооспермией и с олигозооспермией, либо пациенты с азооспермией, олигозооспермией тяжелой степени и пациенты с нормозооспермией и идиопатическим бесплодием? Мужчин, имеющих только крипторхизм или варикоцеле, в одних случаях включали в группу пациентов с идиопатическим бесплодием, а в других нет. Довольно часто пациенты не проходили полного обследования, которое в ряде случаев позволило бы выявить скрытые причины нарушения репродуктивной функции.

В некоторых случаях у пациентов с *AZF*-микроделециями при анализе кариотипа выявлялись структурные aberrации *Y*-хромосомы [1, 20]. Все это говорит о необходимости стандартизованного поэтапного обследования пациентов с нарушением репродуктивной функции [1].

Кроме выбора пациентов, на показатель частоты обнаружения микроделеций *AZF*-локуса, безусловно, влияет и число пациентов в обследуемых группах. Так, в малочисленных группах показатель выявляемости делеций был в среднем выше, чем в многочисленных группах. Однако это, в свою очередь, может быть обусловлено критериями отбора пациентов. Так, для крупных групп характерен менее строгий отбор пациентов ("неотобранные пациенты") [2].

Влияние плотности (количества) и положения (выбора исследуемых локусов *Y*-хромосомы) маркеров на показатель частоты обнаружения оспаривается. Вероятно, оно играет незначительную роль. Возможно, что на этот показатель влияют и

этногеографическое происхождение пациентов, сочетания гаплотипов Y-хромосомы, "генетический фон" [2].

Рекомендации по проведению микроделеционного анализа

Анализ микроделений *AZF*-локуса проводится с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, специфичными к маркерам каждого из трех субрегионов: *AZF_a*, *AZF_b* и *AZF_c*. Большинство *STS* представляют некодирующие последовательности Y-хромосомы, однако неясно, относятся ли какие-то маркеры к кодирующим областям генов *AZF*-локуса [12].

Интересно, что использование в ПЦР *STS*-праймеров, специфичных для функциональных генов, не сопровождалось увеличением частоты обнаружения микроделений у пациентов, которым планировалось проведение ИКСИ [2]. Поэтому, по всей вероятности, нет принципиального различия в выборе праймеров для ПЦР: использовать ли праймеры к *STS* некодирующих областей Y-хромосомы или *STS*, специфичных для функциональных генов *AZF*-локуса [12]. Однако при выборе праймеров по причине их полиморфности или повторяемости следует исключить ряд маркеров: *sY16*, *sY55*, *sY75*, *sY109*, *sY112*, *sY132*, *sY138*, *sY153*, *sY155*, *sY164*, *sY272* [12].

Анализ микроделений *AZF*-локуса может включать в себя два этапа. На первом этапе проводится только детекция микроделений (есть *AZF*-микроделеции или нет), на втором этапе определяются размер (протяженность) обнаруженных микроделений и их точная локализация.

Для выявления микроделений в любом из трех субрегионов локуса *AZF* достаточно использовать один непалиморфный *STS*-праймер, специфичный для данного субрегиона. Однако принято проводить микроделеционный анализ *AZF*-локуса, исследуя по два *STS*-локуса в каждом субрегионе *AZF* (*a*, *b*, *c*). Минимальный набор праймеров для мультиплексной ПЦР включает в себя [12]: для *AZF_a* - *sY84*, *sY86*; для *AZF_b* - *sY127*, *sY134*; для *AZF_c* - *sY254*, *sY255* (оба в генах *DAZ*).

Кроме того, в качестве внутреннего контроля проводится исследование Y-специфических последовательностей генов *SRY* (*sY14*) и *ZFX/ZFY*. В качестве внешнего положительного контроля используют ДНК фертильного мужчины (контроль специфичности и чувствительности реакции), а внешнего отрицательного контроля - ДНК фертильной женщины (контроль специфичности и наличия загрязнения). Кроме того, для диагностики загрязнений образцов ДНК применяют смесь реагентов, в которой вместо ДНК присутствует вода. Использование данного набора праймеров позволяет обнаружить наличие *AZF*-микроделений не менее чем в 90% случаев [12].

Желательно у пациентов с микроделециями, обнаруженными в *AZF*-локусе, проводить второй этап анализа, что позволяет установить генофенотипические корреляции у пациентов с *AZF*-микроделециями. *STS*-локусы, исследуемые на втором этапе микроделеционного анализа [12]:

для *AZF_a*: *sY82*(+), *sY83*(-) (проксимальная граница субрегиона);

sY87(-), *sY88*(+) (дистальная граница субрегиона);

для *AZF_b*: *sY135*(+), *sY114* (-) (проксимальная граница субрегиона);

sY143 (-), *sY152* (+) (дистальная граница субрегиона);

для *AZFc*: *sY143* (+), *sY152* (-) (проксимальная граница субрегиона);

sY157 (-), *sY158* (+) (дистальная граница субрегиона);

Yq12 (дистальная часть гетерохроматина, положительный контроль): *sY160/DYZ1*.

В любом случае проведение микроделеционного анализа локуса *AZF* должно включать первый этап исследования [12]. Расширенный анализ включает первый и второй этапы исследования и должен проводиться с использованием мультиплексной ПЦР с внутренним и внешним контролем [12].

Генофенотипические корреляции у пациентов с *AZF*-микроделециями

P. Vogt и соавт. сообщили об обнаружении микроделений *Y*-хромосомы в проксимальной, средней и дистальной части *Yq11* и обозначили их как *AZFa*, *AZFb* и *AZFc* соответственно [11]. Высказано предположение, что различные делеции ассоциированы с различным гистопатологическим профилем. Действительно, обычно делеции *AZFa*-субрегиона приводят к полному отсутствию мужских половых клеток, синдрому клеток Сертоли I типа (*SCOS I - Sertoli cell-only syndrome I*), делеции субрегиона *AZFb* - к блоку сперматогенеза (*SGA - Spermatogenesis Arrest*) чаще на стадии сперматоцитов I, а делеции *AZFc* - к синдрому клеток Сертоли II типа (*SCOS II - Sertoli cell-only syndrome II*) [7, 9, 10, 51, 52]. Однако строгой корреляции между положением и размером делетированного участка и стадией нарушения сперматогенеза не выявлено.

Так, S. Quereshi и соавт. наблюдали пациента с *AZFa*-микроделецией, у которого была олигозооспермия тяжелой степени [53], J. Pryor и соавт. сообщили о пациенте с *AZFb*-делецией и олигозооспермией [54]. Отсутствие единого (стандартного) протокола гистологического исследования (количество исследуемых образцов, критерии их оценки и др.), большее количество образцов в ряде случаев приводят к переоценке гистопатологической картины с *SCOS I* на *SCOS II* или *SGA*. Кроме того, отмечено, что со временем нарушение сперматогенеза прогрессирует, переходя от *SCOS II* к *SCOS I*. S. Girardi и соавт. наблюдали пациента с делецией *AZFc* в течение 30 мес, при этом у него отмечалось ухудшение сперматогенеза от олигозооспермии тяжелой степени до азооспермии [55]. Более того, сообщалось о случаях отцовства у пациентов с *AZFc*-делециями и олигозооспермией [56].

Несмотря на расхождения в данных литературы, был выявлен ряд общих генофенотипических корреляций [2]:

- 1) микроделеции обнаружены почти исключительно у мужчин с азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени;
- 2) микроделеции обнаружены и у пациентов с другими причинами бесплодия (андрологическими заболеваниями);
- 3) более высокая частота микроделений *Y*-хромосомы выявлена у пациентов с идиопатической азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени неясного генеза в сравнении с пациентами с выявленными причинами нарушения сперматогенеза;
- 4) в основном, более крупные делеции ассоциированы с более тяжелыми нарушениями сперматогенеза;
- 5) *AZFa*-делеции наиболее редкие (1-5%) и чаще ассоциированы с *SCOS I* типа;
- 6) делеции *AZFc* и *AZFb+c* наиболее частые и ассоциированы с различными нарушениями сперматогенеза (от *SCOS I* и II типов, *SGA* до умеренной степени снижения

сперматогенной активности).

Обсуждение

AZF_a-субрегион содержит два кандидатных гена (*USP9Y* (*DFFRY*) и *DBY*), ответственных за возникновение азооспермии. Делеции *de novo* генов *AZF_a*-субрегиона приводят к полному отсутствию мужских герминативных клеток (синдром "только клетки Сертоли") [7, 9, 10].

G. Brown и соавт. обнаружили у 3 пациентов с азооспермией делеции *AZF_a*-субрегиона, которые включали всю кодирующую область гена *DFFRY* [45]. Гистологическое исследование биоптата яичка выявило у двух из них синдром "только клетки Сертоли", а у третьего сниженную сперматогенную активность.

При скрининг-обследовании 576 бесплодных и 96 фертильных мужчин на наличие мутаций в генах *USP9Y* и *DBY* обнаружены 4 полиморфизма и 1 точковая мутация в гене *USP9Y* [46]. Эта мутация выявлена у пациента с необструктивной азооспермией, но отсутствовала у его родного брата, имеющего двух детей, и поэтому была расценена как возникшая *de novo*. Оба брата являлись носителями редкого *Y*-гаплотипа, неопisanного ранее. Эта мутация представляет собой делецию четырех нуклеотидных пар в донорном сайте сплайсинга интрона 7, вызвавшую сдвиг рамки считывания, что привело к пропуску экзона 8 и синтезу белка, укороченного примерно на 90% аминокислотной последовательности.

Описана полная секвенс-карта и структура генов *AZF_a*-субрегиона, а также проведен микроделеционный анализ этого субрегиона у 173 пациентов с бесплодием и нарушениями сперматогенеза [44]. Из них у 9 пациентов обнаружены микроделеции *AZF_a*-субрегиона: у 6 - делеция гена *DBY* и делеция *USP9Y*, найденная ранее у пациента с гипосперматогенезом (у 1 - делеция *USP9Y-DBY* и у 1 - делеция *DBY-UTY*). Ни у одного пациента не обнаружено делеций только гена *UTY*. У пациентов с делециями гена *DBY* отмечался синдром клеток Сертоли либо тяжелые нарушения сперматогенеза. Экспрессионный анализ генов субрегиона *AZF_a* и их *X*-гомологов выявил их повсеместную экспрессию, за исключением гена *DBY*, экспрессирующегося только в яичках. Возможно, что ген *DBY* играет ключевую роль в генетическом контроле сперматогенеза [44].

Гены *RBMY* являются кандидатными генами *AZF_b*-субрегиона, ответственными за сперматогенез [26]. Имеются сообщения о делециях генов *AZF_b*-субрегиона, выявленных с помощью саузерн-блоттинга и ПЦР [22, 53]. Однако вследствие мультикопийности *RBMY* интерпретация результатов анализа крайне трудна. Делеции областей, содержащих какой-либо из этих генов, приводят к раннему блоку сперматогенеза на пре- и постмейотических стадиях, что показано при гистологическом исследовании биоптата яичек [26]. У пациентов с делециями в *AZF_b*-субрегионе (*sY113-sY143*) по анализу эякулята обычно отмечают азооспермию [57, 58], но иногда может выявляться олигозооспермия тяжелой степени [7].

Среди субрегионов *AZF*-локуса наиболее часто микроделеции встречаются в *AZF_c*-субрегионе, составляя приблизительно 10% случаев тяжелых нарушений сперматогенеза. Они обнаруживаются примерно у 13% мужчин с азооспермией и у 6% - с олигозооспермией тяжелой степени [51, 56-58]. По-видимому, во всех случаях обнаруженных микроделеций *AZF_c*-субрегиона отсутствует весь *DAZ*-кластер [11, 31, 51]. Это может быть вызвано тем, что делеции одного или небольшого числа генов *DAZ* не проявляются фенотипически и не имеют тяжелых последствий для сперматогенеза. У пациентов с делециями в *AZF_c*-субрегионе выявлены различная степень снижения числа сперматозоидов вплоть до синдрома клеток Сертоли II типа, а также блок сперматогенеза

на уровне сперматид [51, 54]. На гистологических биоптатах яичка обнаруживаются "островки" сохраненного сперматогенеза. У части пациентов с делециями в *AZFc*-субрегионе при *TESE* могут быть получены сперматозоиды для последующего их использования в ИКСИ либо крио-ИКСИ [59, 60].

L. Stuppia и соавт. сообщили данные микроделеционного анализа, проведенного у пациента с олигозооспермией и бесплодием и у его отца, не имевшего бесплодия в анамнезе [61]. Оба являлись носителями делеции в *Yq11*. Молекулярный анализ позволил обнаружить, что размер делеции у сына больше, чем у его отца, у которого отсутствовали только *sY243* и *sY269* (интервал *6E*), у обоих сохранены *RBM1*, *DAZ* (*sY254* и *sY255*) (интервал *6D*). Возможно, что регион дистальнее области локализации *RBM1* и *DAZ* может быть вовлечен в генетический контроль сперматогенеза. Вероятно, что делеции *AZF*-локуса не всегда приводят к нарушению сперматогенеза и бесплодию у мужчин, однако повышают чувствительность *Y*-хромосомы к последующим мутациям [61].

Происхождение *AZF*-микроделений

Большинство микроделений *AZF*-локуса представляет собой мутации *de novo*, однако сообщено о случаях передачи *Y*-микроделений от отца сыну, в том числе после ИКСИ [61-66]. В ряде случаев размер делеции у бесплодного сына был больше, чем у его отца. Вероятно, микроделеции *Y*-хромосомы могут возникнуть как при делении гоноцитов и сперматогониев (в митозе), так и при I и II делениях созревания (в мейозе), а также в зиготе и в клеточных линиях у эмбриона [6]. В тех случаях, когда мутации происходят при дроблении эмбриона и на последующих этапах эмбрионального развития, возникает тканевый либо гонадный мозаицизм. Тканевый мозаицизм может быть подтвержден случаями обнаружения микроделений *AZF*-локуса у двух мальчиков, зачатых с помощью ИКСИ, хотя микроделеционный анализ, проведенный у их бесплодных отцов, не выявил микроделений *Y*-хромосомы в лимфоцитах периферической крови [62].

Мозаицизм носительства *Y*-микроделений в клеточных линиях мужских половых клеток может привести к присутствию в яичках пулов клеток, несущих такие микроделеции, и клеток без микроделений, что может проявиться очаговостью сохраненного сперматогенеза (синдром клеток Сертоли II типа). При этом соотношение размера пулов клеток, несущих *AZF*-микроделеции, и клеток без них будет коррелировать со степенью нарушения/сохранности сперматогенеза. Но эта тема ждет своих исследователей.

Механизм возникновения микроделений *Y*-хромосомы

Механизм возникновения *Y*-микроделений еще не совсем понятен. Однако ясно, что основной причиной высокой частоты микроделений *Y*-хромосомы является ее нестабильность и склонность к потере генетического материала. Это может быть обусловлено наличием большого числа различных повторов (*Alu*-повторов и др.), действием мобильных генетических элементов (эндогенных вирусов и др.) [67, 68], а также потерей генетического материала в случаях aberrантной рекомбинации между гомологичными областями *X*- и *Y*-хромосом или несбалансированными обменами между сестринскими хроматидами *Y*-хромосомы [6, 69]. Исследования ДНК *Y*-хромосомы показали ее высокую полиморфность. Вероятно, некоторые субъекты в большей мере, чем другие, склонны к возникновению *Y*-микроделений вследствие особенностей структуры *Y*-хромосомы у них, носительством полиморфизмов ДНК, предрасполагающих к таким потерям. Проверка этой гипотезы требует проведения анализа гаплотипов *Y*-хромосомы у мужчин с микроделециями *AZF*-локуса в сравнении с мужчинами без оных.

Бесплодие у мужчин и *AZF*-микроделеции

Несмотря на результаты многочисленных исследований, молекулярно-генетическое изучение *AZF*-локуса не выявило среди группы "кандидатных" генов какого-то одного гена, мутации в котором вызывают азооспермию. По всей вероятности, в *AZF*-локусе расположен целый блок генов и генных семейств, контролирующих различные этапы сперматогенеза. Протяженные делеции, захватывающие области этих генов, могут привести к нарушениям сперматогенеза. Делеции функционально "незначимых" областей, псевдогенов, вероятно, могут и не вызывать данных изменений. Кроме того, нельзя исключить компенсацию мутаций отдельных генов присутствием других функционально активных генов соответствующего семейства.

В скрининг-исследовании на наличие *Y*-микроделеций в качестве контрольной группы были обследованы 1176 фертильных мужчин [54]. Критерием фертильности являлось наличие как минимум одного родного ребенка. В одном исследовании были выявлены 4 человека с *AZF*-микроделециями. Эти находки могут представлять полиморфные варианты либо у этих мужчин по анализу эякулята может быть выявлена олигозооспермия, которая компенсировалась нормальной фертильностью женщин. К тому же мужчинам контрольной группы не проводили спермиологический анализ [2].

С. Krausz и соавт. сообщили о результатах скрининга на наличие микроделеций *AZF*-локуса у 134 "неотобранных" пациентов, которые участвовали в программе ИКСИ. У 3 пациентов были обнаружены *AZF*-микроделеции (2,2%) [13]. Кроме этого, сообщено о результатах других скрининг-программ на наличие *Y*-микроделеций у пациентов перед проведением ИКСИ [70-75].

С. Foresta и соавт. исследовали частоту *Y*-микроделеций у пациентов с односторонним крипторхизмом, сопровождающимся двусторонней тестикулопатией [76]. У 11 (27,5%) из 40 пациентов с односторонним крипторхизмом отмечались признаки двусторонней тестикулопатии, а у 28 (25,4%) из 110 пациентов с тяжелой первичной тестикулопатией неясного генеза были обнаружены микроделеции *AZF*-локуса. Все микроделеции были расценены как *de novo* и располагались в различных субрегионах *AZF*-локуса.

Репродуктивные технологии и *AZF*-микроделеции

Применение репродуктивных технологий (РТ), и, в частности, такого метода, как ИКСИ, позволяет части пациентов с микроделециями *AZF*-локуса иметь потомство, однако плоды мужского пола имеют высокий риск наследования *Y*-микроделеций. Поэтому перед планируемым ЭКО в рамках обследования супружеской пары мужчинам с количеством сперматозоидов в эякуляте менее 5 млн/мл необходимо провести микроделецийный анализ *Y*-хромосомы (при азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени) [12, 54]. Сообщено о прогностической ценности знания того, какой *AZF*-субрегион делетирован у пациента с азооспермией для возможности получения зрелых половых клеток методом *TESE* [71]. Делеции *AZF_a*- и *AZF_b*-субрегионов ассоциированы с невозможностью получения зрелых половых клеток, а у пациентов с *AZF_c*-делециями примерно в 71% случаев удается получить зрелые сперматозоиды [71]. Так как у пациентов с *AZF*-микроделециями часто отмечается прогрессирование нарушений сперматогенеза от олигозооспермии до азооспермии, таким пациентам необходима криоконсервация полученных сперматозоидов [2].

Полученные сперматозоиды от пациентов с *AZF*-микроделециями оплодотворяют яйцеклетки как при ИКСИ, так и других процедурах ЭКО, при этом показатели

оплодотворения и имплантации эмбрионов примерно такие же, как и у пациентов без микроделеций [59, 77]. Этим пациентам необходимо разъяснение высокого риска рождения от них мальчиков с Y -микроделециями [78-80].

Однако точное прогнозирование будущего состояния сперматогенеза у потомства довольно затруднительно. Поэтому мальчикам, рожденным от пациентов с Y -микроделециями, со временем может понадобиться микроделеционный анализ.

Перспективы дальнейших исследований

Несмотря на быстрый рост знаний молекулярной биологии и генетики в области сперматогенеза, число вопросов не уменьшается, а растет. Поэтому необходимо продолжать исследования AZF -локуса, генов, входящих в его состав. В настоящее время еще мало известно о функциях генов AZF -локуса Y -хромосомы, однако очевидно, что большая часть этих генов вовлечена в генетический контроль сперматогенеза. Ряд генов на длинном плече Y -хромосомы может быть вовлечен в метаболизм РНК.

Продукты, кодируемые такими генами, как *DAZ*, *DBY*, *RBMY*, *EIF-1A*, играют существенную роль в контроле дифференцировки мужских половых клеток через регуляцию тестис-специфической экспрессии генов в яичках на посттранскрипционном уровне. Проходящий в сперматоцитах синтез РНК постепенно снижается на последующих стадиях и прекращается, когда круглые сперматиды дифференцируются в продолговатые сперматиды. Идентифицировано множество мРНК, которые находятся под посттранскрипционным контролем во время сперматогенеза. Вероятно, что Y -сцепленные гены кодируют множество факторов, которые играют ключевую роль в этом процессе.

Недавно обнаружено новое семейство X - Y -гомологичных генов VCX/Y , представленное на гоносомах множественными копиями, которые экспрессируются исключительно в яичках [81].

Вероятно, в будущем на основе полученных данных функциональной геномики будет воссоздана генная сеть контроля сперматогенеза и регуляции дифференцировки мужских половых клеток на всех его этапах. Такая сеть позволит яснее представлять структуру генетического контроля гаметогенеза у мужчин, точнее понять механизмы его нарушений, а возможно и разработать подходы к терапии таких нарушений.

Заключение

Несмотря на небольшой размер, Y -хромосома недостаточно изучена и секвенирована еще не полностью. Функция многих генов этой хромосомы еще не вполне понятна и требует дальнейшего исследования. Однако ясно, что Y -хромосома содержит в себе целый ряд генов, контролирующих различные этапы становления репродуктивной функции у мужчин. Так, ген *SRY* контролирует дифференцировку бипотенциальных (индифферентных) гонад по мужскому типу и является главным триггер-геном, запускающим дифференцировку гонад по мужскому типу.

В дальнейшем в яичках в генетическом контроле различных этапов сперматогенеза принимают участие гены и генные семейства AZF -локуса и др. Кроме того, Y -хромосома у человека несет в себе гены, мутации которых могут быть связаны с возникновением таких опухолей, как рак яичек и предстательной железы, гонадобластомы.

Дальнейшие исследования в области молекулярной генетики и функциональной геномики позволят понять функции генов Y -хромосомы, генетические сети их взаимодействия в ходе становления репродуктивной функции, в частности сперматогенеза, а также генетические нарушения, вызванные мутациями этих генов.

В.Б. Черных, Л.Ф. Курило, В.А. Поляков

Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

Литература

1. Черных В.Б., Курило Л.Ф., Гоголевская И.К. и др. Комплексное клинико-генетическое обследование пациентов с азооспермией или олигозооспермией неясной этиологии. Пробл репрод 2001; 7:3: 58-63.
2. Krausz C., McElreavey K. Y chromosome and male infertility. *Frontiers in Bioscience* 1999; 4: 1-8.
3. Krausz C., Quintana-Murci L., Barbaux S. et al. A high frequency of Y chromosome deletions in males with nonidiopathic infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3606-3612.
4. Kostiner D.R., Turek P.J., Reijo R.A. Male infertility: analysis of the markers and genes on the Y chromosome. *Hum Reprod* 1998; 13: 3032-3038.
5. Diemer T., Desjardins C. Developmental and genetic disorders in spermatogenesis. *Hum Reprod Update* 1999; 5: 2: 120-140.
6. Edwards R.G., Bishop C.E. On the origin and frequency of Y chromosome deletions responsible for severe male infertility. *Mol Hum Reprod* 1997; 3: 549-554.
7. Vogt P.H. Human chromosome deletions in Yq11, AZF candidate genes and male infertility: history and update. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 739-744.
8. Tiepolo L., Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976; 34: 119-124.
9. Vogt P.H., Chandley A.C., Hargreave T.B. et al. Microdeletions in interval 6 of the Y chromosome of males with idiopathic sterility point to disruption of AZF, a human spermatogenesis gene. *Hum Genet* 1992; 89: 491-496.
10. Vogt P.H., Edelmann A., Hirschmann P. et al. The azoospermia factor (AZF) on the human Y chromosome in Yq11: function and analysis in spermatogenesis. *Reprod Fertil Dev* 1995; 7: 685-693.
11. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsh S. et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 933-943.
12. Simoni M. et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletion. *Intern J Andrology* 1999; 22: 292-299.
13. Krausz C., Busani-Mastellone C., Granchi S. et al. Screening for microdeletions the Y chromosome genes in patients undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; 14: 1717-1721.
14. International Human Genome Sequencing Consortium "Initial sequencing and analysis of the human genome". *Nature* 2001; 409: 745-964.
15. Tilford C.A., Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H. et al. A physical map of the human Y chromosome. *Nature* 2001; 409: 745-964.
16. Lahn B.T., Page D.C.