

# Делеции локуса AZF у пациентов с бесплодием

О.Д. Никитин<sup>1</sup>, Ю.В. Гонтарь<sup>2</sup>, И.Е. Ильин<sup>2</sup>, Л.А. Лившиц<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, г. Киев

<sup>2</sup>Институт генетики репродукции, г. Киев

<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии и генетики НАНУ, г. Киев

В работе проанализирована роль делеций Y-хромосомы, которая составляет 2–3% гаплоидного набора человека, в этиологии мужского бесплодия.

В результате исследования делеции локуса AZF были обнаружены в 3,6% случаев, а именно – у двух пациентов с азооспермией (4,8% случаев для данной группы).

Инфертильным пациентам, которым назначено лечение с помощью ИКСИ, следует проводить генетические консультации и, наряду с кариотипированием, выполнять анализ AZF-участка Y-хромосомы. Дальнейшие исследования позволяют выявить патогенетическую значимость различных типов микроструктурных перестроек Y-хромосомы, а также установить факторы, влияющие на их экспрессивность.

**Ключевые слова:** делеции локуса, AZF-участки, Y-хромосома, ИКСИ, лечение.

Генетические факторы являются одной из частых причин аномалий развития и нарушения функции органов репродуктивной системы [1]. Частота их встречаемости коррелирует с тяжестью репродуктивной патологии. Так, по крайней мере 1/3 случаев тяжелых форм бесплодия у мужчин обусловлена генетическими факторами [2]. Причинами бесплодия у мужчин могут являться хромосомные аномалии, микроструктурные перестройки и генные мутации, приводящие к нарушению детерминации пола, дифференцировки или развития органов половой системы, ее гормональной дисрегуляции, нарушению сперматогенеза и функции сперматозоидов [3].

В некоторых случаях для благополучного исхода ЭКО или ИКСИ необходимо определить этиологию рассматриваемой патологии. Помимо хромосомных аномалий, чаще всего представленных синдромом Клайнфельтера или его вариантами, одной из наиболее распространенных генетических

причин необструктивной азооспермии или олигозооспермии являются микроделеции Y-хромосомы. Установлена связь между мужским бесплодием и делециями, возникающими в Y-хромосоме, что указывает на присутствие генов, необходимых для развития мужских зародышевых клеток [4].

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. Y-хромосома составляет 2–3% гаплоидного генома человека. Это акроцентрическая хромосома, которая содержит короткое (Yp) и длинное (Yq) плечи, разделенные центромерным участком, необходимым для хромосомной сегрегации, и которые в совокупности занимают 60 млн пар нуклеотидов. Число генов является наименьшим по сравнению с любой другой хромосомой: из 27 генов Y-хромосомы 9 находятся на Yp, 18 на Yq.

Роль делеций длинного плеча Y-хромосомы в этиологии нарушения сперматогенеза и бесплодия у мужчин была впервые наглядно показана в исследовании Tierolo и Zuffardi [5]. Авторы предположили наличие в локусе Yq11 участка, отвечающего за сперматогенез, названного фактором азооспермии (Azoospermia Factor, AZF). Впоследствии с появлением методов молекулярного анализа было подтверждено присутствие на длинном плече Y-хромосомы генов, контролирующих дифференцировку мужских половых клеток, создана карта делеционных интервалов Y-хромосомы. Согласно размерам и локализации делеций длинного плеча Y-хромосомы, выделены три региона: AZFa, AZFb и AZFc [6] (рисунок).

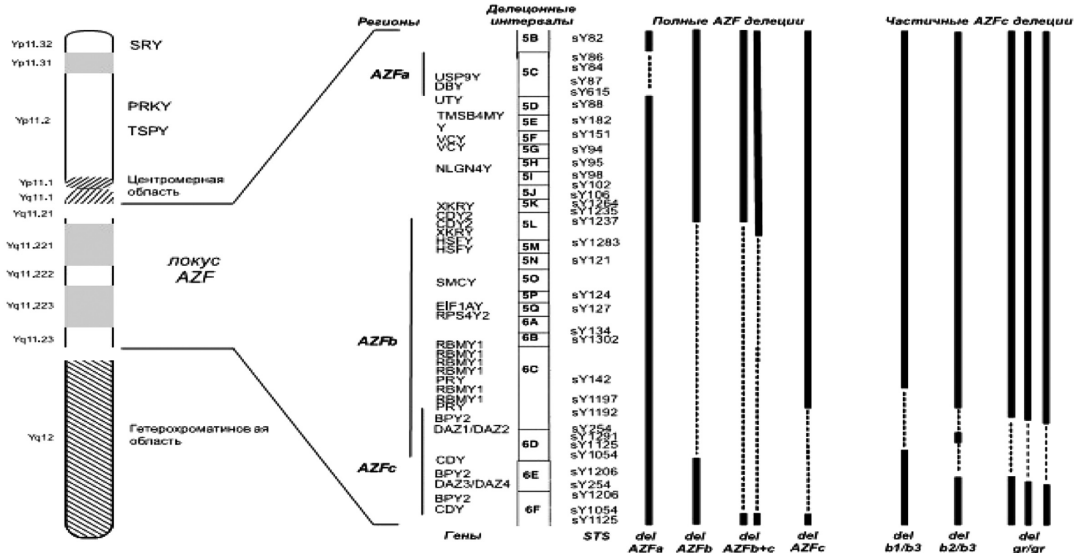


Рис. 1. Карта Y-хромосомы человека с указанием ее локусов и некоторых генов (слева). Детально показан AZF локус (регион) и его (суб)регионы, гены, делеционные интервалы Y-хромосомы (5B–6F), STS-маркеры, а также наиболее частые типы полных AZF-делеций и частичных делеций AZFc региона [2]

## БЕСПЛОДИЕ И ПЛАНИРОВАНИЕ СЕМЬИ

### Встречаемость делеции Y-хромосомы среди обследуемых пациентов

Патология	Количество обследованных пациентов	Количество выявленных делеций	%
Азооспермия	42	2	4,8
Олигозооспермия	8	-	-
Астенозооспермия	4	-	-
Аспермия	1	-	-
Всего	55	2	3,6

Результаты исследований Y-хромосомы человека свидетельствуют о том, что ее палиндромная область, расположенная в локусе AZF, является наиболее сложноустроенным в отношении протяженных блоков участком во всем геноме человека, значительно варьирует по составу и композиции повторов и имеет одну из самых высоких частот мутаций [7]. Установлено, что наличие частичной делеции региона AZFс может предрасполагать к возникновению полной делеции данного региона [8]. Важно отметить, что исследование только STS-маркеров данного региона не всегда позволяет точно определить тип перестройки Y-хромосомы. Вследствие многократности оценка числа генов данного региона возможна с помощью анализа однонуклеотидных полиморфизмов для количественного определения генов (DAZ, CDY и др.) данного региона [9]. Проведение вышеуказанного исследования позволяет точнее определить тип микроструктурной перестройки Y-хромосомы.

Следует отметить, что в некоторых исследованиях установлено, что частота оплодотворения при использовании сперматозоидов, полученных от пациентов с Y-микроделециями, и развитие эмбрионов были сравнимы с соответствующими показателями при использовании сперматозоидов без делеций [10,11]. Так, частота оплодотворения, дробления и наступления беременности после проведения ИКСИ у больных, страдающих азооспермией и имеющих Y-делеции, составила соответственно 47, 58 и 29%, а у пациентов с таким же диагнозом, но интактной Y-хромосомой – соответственно 42, 62 и 29%. При олигозооспермии эти показатели составили 64, 56 и 46% при интактной Y-хромосоме и 68, 65 и 50% при наличии Y-микроделеций.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первичный забор материала проводили на базе клиники «Институт генетики репродукции». Были обследованы 55 мужчин с первичным бесплодием. На основании результатов спермиологического анализа, при котором рассматривали количество подвижных сперматозоидов и их морфология, всем пациентам с нарушением сперматогенеза проводили молекулярное исследование Y-хромосомы, которое выполняли в отделе геномики человека Института молекулярной биологии и генетики НАНУ.

Для обнаружения делеций применяли мультиплексную амплификацию согласно руководству, предложенному Simoni и соавторам [12] Делеции детектировали в регионах AZF-локуса Y-хромосомы с помощью следующих STS-маркеров: sY746, sY84; sY85; sY86; USP9Y; RBMY1; sY117; sY124; sY127; sY134; sY141; sY153; sY240; sY146; sY254; sY255; sY158; sY160.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По литературным данным, частота делеций локуса AZF составляет 7,5% в различных популяциях [13].

В результате нашего исследования делеции локуса AZF в общей выборке больных (55 пациентов) были обнаружены в 3,6% случаев, а именно – у двух пациентов с азооспермией (4,8% случаев для данной группы). Различия в полученных нами показателях и данных, отраженных в доступной литературе исследований, могут быть обусловлены немногочисленной группой обследованных.

### ВЫВОДЫ

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. Дальнейшие исследования позволяют выяснить патогенетическую значимость различных типов микроструктурных перестроек Y-хромосомы, а также установить факторы, влияющие на их экспрессивность.

### Делеції локуса AZF у пацієнтів з безпліддям

**О.Д. Нікітін, Ю.В. Гонтарь, І.Є. Ільїн, Л.А. Лівшиц**

У роботі проаналізовано роль делецій Y-хромосоми, яка становить 2–3% гаплоїдного набору людини, в етіології чоловічого безпліддя. У результаті дослідження делеції локусу AZF були виявлені в 3,6% випадків, а саме – у двох пацієнтів з азооспермією (4,8% випадків для даної групи).

Інфертильним пацієнтам, яким призначено лікування за допомогою ІКСІ, слід проводити генетичні консультації і разом з кариотипуванням виконувати аналіз AZF-ділянки Y-хромосоми. Подальші дослідження дозволять з'ясувати патогенетичну значущість різних типів микроструктурних перебудов Y-хромосоми, а також встановити фактори, що впливають на їх експресивність.

**Ключові слова:** делеції локусу, AZF-ділянки, Y-хромосоми, ІКСІ, лікування.

### AZF locus deletions in patients with infertility

**O.D. Nikitin, Y.V. Gontar', I.E. Il'in, L.A. Livshits**

We analyzed the role of deletions of the Y-chromosome, which accounts for 2-3% of the haploid set of rights, in the etiology of male infertility.

The study of locus deletions AZF were detected in 3.6% of cases, namely - in two patients with azoospermia (4.8% of cases for this group).

Infertile patients, who received treatment with ICSI, should be carried out genetic counseling and, in addition to karyotyping, review AZF-site Y-chromosome. Further studies will clarify the pathogenetic significance of different types of microstructure of Y-chromosome rearrangements, as well as to identify factors influencing their expressiveness.

**Key words:** locus deletions, AZF-loci, Y-chromosome, ICSI, treatment.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Курило Л.Ф., Шилейко Л.В., // Вестн. РАМН, 2000;5: 32–36.
2. Черных В.Б. AZF-делеции – частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние ис-

- следований // Проблемы репродукции, 1, 2009. – С. 10–15.
3. Foresta C., Ferlin A., Gianaroli L., Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur J Hum Genet* 2002;10:5: 303–312.
4. Mosher W.D. Reproductive impairments in the United States, 1965–1982 // *Demography*, 1985; 22: 415–430.
5. Tiepolo L., Zuffardi O. Localisation of factors controlling spermatogenesis in nonfluorescent portion of the human chromosome // Y long arm. *Hum Genet* 1976;34: 119–124.
6. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsch S., Henegariu O. et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*, 1996;5: 933–943.
7. Repping S., van Daalen S.K., Brown L.G. et al. High mutation rates have driven extensive structural polymorphism among human Y chromosomes. *Nat Genet*, 2006;38:4: 463–467.
8. Zhang F., Lu C., Li Z. et al. Partial deletions are associated with an increased risk of complete deletion in AZFc: a new insight into the role of partial AZFc deletions in male infertility // *J Med Genet*, 2007;44:7: 437–444.
9. Machev N., Saut N., Longepied G. et al. Sequence family variant loss from the AZFc interval of the human Y chromosome, but not gene copy loss, is strongly associated with male infertility // *J Med. Genet*, 2004;41: 814–825.
10. Mulhall J.P. et al. Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection // *Hum Reprod*, 1997; 12: 503–508.
11. Rossato M. et al. High fertilization rate in conventional in vitro fertilization utilizing spermatozoa from an oligozoospermic subject presenting microdeletions of the Y chromosome long arm. *Mol Hum Reprod*, 1998; 4: 473–476.
12. Simoni M., Bakker E., Eurlings M. et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions // *Int J Androl* 1999;22: 292–299.
13. Черных В.Б., Курило Л.Ф., Поляков А.В. Y-хромосома, AZF-микроделеции и идиопатическое бесплодие у мужчин // *Пробл. Репрод.* 2001;7:5: 47–58.

## НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

### НЕРВНИЧАЯ, РОДИТЕЛИ НАНОСЯТ ВРЕД ГЕНЕТИКЕ РЕБЕНКА

Специалисты из университета Британской Колумбии установили, что стресс, испытанный человеком, отражается на его детях, внося изменения в их геном. Этот след сохраняется до пубертатного возраста и воздействует на функционирование генов впоследствии.

Исследователи работают в сфере эпигенетики - разделе науки, занимающемся изучением изменений в структуре ДНК, в частности влияния химических веществ на геном.

Исследователи отобрали образцы ДНК у ста ребят подрост-

кового возраста и сравнили генетические данные с теми, которые были получены от тех же лиц в младенчестве. Родители участников должны были рассказать о пережитых стрессах, семейных конфликтах и финансовых затруднениях.

Выяснилось, что повышенный уровень нервной нагрузки женщин, имевших грудных детей, вызывает метилирование в 139 участках ДНК у тинейджеров. Отцовский стресс провоцирует изменения в 31 зоне генома.

Кроме того, исследователи обнаружили, что стресс отца

влияет на метилирование генома у дочек, а матери - на показатели детей обоих полов. Это еще одно доказательство того, что нехватка отцовского внимания способна вызвать психологические проблемы у девочек-подростков.

Ученые утверждают, что события раннего периода чрезвычайно важны для последующего развития человека и что социальные факторы способны воздействовать на последовательность ДНК.

Источник: <http://dr20.ru>