

Цитогенетическое исследование эякулята при мужском бесплодии

П. Цветкова¹, И. Бабюк², С. Иванова¹, И. Илиева¹

¹Институт экспериментальной морфологии, патологии и антропологии БАН (София)

²Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

В статье проведен анализ данных цитогенетического исследования эякулята при мужском бесплодии. Цитогенетический анализ позволяет в краткие сроки проводить дифференциальную диагностику генетических дефектов и аномальных хромосом. Это перспективное направление требует дальнейшей разработки и усовершенствования.

Ключевые слова: мужское бесплодие, генетические аномалии хромосом, цитогенетический анализ.

У бесплодных мужчин с соматически нормальным кариотипом по результатам исследований различных авторов существует риск развития заболеваемости апаплоиди́а в сперме, и частота хромосомных аномалий в зародышевой линии составляет 6–18% [1–3, 9].

Хромосома Y играет важную роль в формировании сперматозоидов, однако тестов, которые выявляют изменения в ней и влияние на снижение количества сперматозоидов, в настоящее время не имеется. Недавно получены данные, что отсутствие хромосомы Y в генетическом материале может быть связано с бесплодием и установлено, что у 10–60% мужчин число сперматозоидов составляет 0–5 млн/мл [6, 10]. При мужском бесплодии (азооспермия, олигоастенотератоспермия) генетические аномалии в хромосоме Y определяются в 30–55% случаев [7].

Среди хромосомных аномалий, ведущих к нарушению функции мужской фертильности, наиболее часто выявляют отклонения в числе хромосом (XXY, YYY); нарушения в структуре хромосом (особенно в Y-хромосоме); транслокации хромосом.

Исследования кариотипа пациентов с помощью цитогенетических тестов рекомендуется проводить в следующих случаях:

- секреторная азооспермия с высоким уровнем сывороточного фолликулостимулирующего гормона;
- олигоспермия с менее 5 млн сперматозоидов в 1 мл семенной жидкости;
- тератозооспермия – наличие мертвых сперматозоидов в эякуляте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 114 мужчин (средний возраст 28,66±0,65 года) с врожденными заболеваниями репродуктивной системы и азооспермией, проанализированы цитогенетические результаты исследования с помощью модифицированного микрометода по D. Hungerford [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хромосомные aberrации и азооспермия

Результаты генетического исследования 114 пациентов с азооспермией выявили у 105 (92,11%) нормальный мужской кариотип – 46,XY; в остальных 9 (7,89%) случаях определены хромосомные аномалии (табл. 1).

Чаще диагностировали измененный кариотип 47,XXY. При этом наблюдалась добавочная хромосома X при крипторхизме (n=2) и синдроме Клайнфельтера (n=3) (рис. 1).

При рассмотрении кариотипа человека при наличии крипторхизма и азооспермии во всех метафазах определялась Робертсонова транслокация между 13, 14-й и хромосомы 47, XY,-13, роб.т.(13,14) (p 11; p 11) [12]. Можно предположить, что транслокация у данных пациентов имеет позднее происхождение, так как доказательств врожденной аномалии репродуктивной функции и хромосомных заболеваний в роду не имеется [4, 8].

Случай крипторхизма и аутосомно сбалансированной транслокации 47,XY,-13 (13;14) (p 11; p 11) предполагает, что пробанд является носителем наследственной аутосомной аномалии, унаследованной от матери [12].

Из типичных генетических дефектов только у одного пациента был обнаружен аномальный вариант – наличие в кариотипе по одной X и Y-хромосом: 48, XXYY (рис. 2).

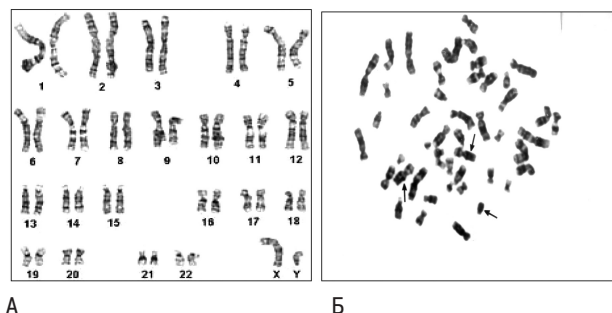


Рис. 1. Выявленные кариотипы: А – нормальный мужской кариотип 46,XY; Б – добавочная X-хромосома при кариотипе 47,XXY у пациентов с синдромом Клайнфельтера

Таблица 1
Типы хромосомных аномалий при генетическом тестировании пациентов с азооспермией (n=114)

Кариотип	Количество пациентов	
	Абс. число	%
46,XY кариотип	105	92,11
Кариотип с хромосомными аномалиями	9	7,89
I. Классическая форма 47,XXY Синдром Клайнфельтера	3	2,63
Крипторхизм	2	1,75
II. Полный вариант 48,XXYY Синдром Клайнфельтера	1	0,88
III. Мозаичная форма 46,XY/47,XXY Синдром Клайнфельтера	1	0,88
IV. Клинические варианты 47,XXY Синдром Клайнфельтера	1	0,88
Крипторхизм	1	0,88

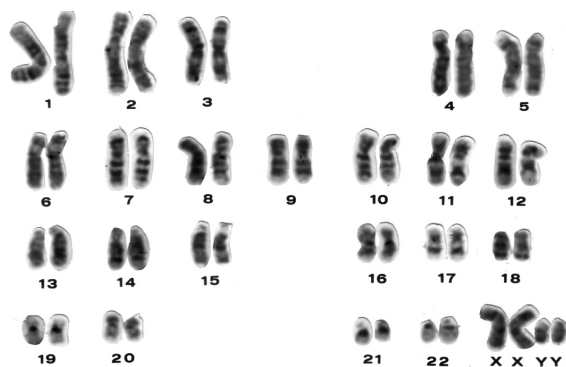


Рис. 2. Кариотип пациентов с синдромом Клайнфельтера и кариотип 48, XXYY

Также, в двух случаях (1,75%) при крипторхизме (n=1) и синдроме Клайнфельтера (n=1) выявлены аутосомные изменения 47, XXУ и в одном случае (0,88%) стандартная версия мозаичного вида – 46, XY/47, XXУ (рис. 3).

Результаты проведенных исследований подтверждают информацию о том, что изменение числа хромосом в клетках может являться причиной мужского бесплодия. Примером этого являются случаи синдрома Клайнфельтера, при котором нарушения в наборе хромосом приводят к нарушению сперматогенеза и азооспермии [10, 11]. Аномальные изменения в дистальном конце хромосомы Y присутствуют в 13–20% случаев у мужчин с азооспермией и олигоспермией, что свидетельствует об их прямых причинно-следственных связях. Данный факт имеет важное значение для клинической практики в решении вопроса адекватной терапии указанной патологии [9].

Резкое снижение подвижных сперматозоидов может быть связано с количественными (синдромом Клайнфельтера или структурными хромосомными аномалиями (транслокации) и генетическими мутациями в генах митохондрий или андрогенных рецепторов. Дефекты в сперматогенезе могут проявляться в различных вариациях генетических нарушений [13, 14].

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

- в 7,89% случаев мужского бесплодия выявлены хромосомные аномалии;
- в 92,11% случаев мужского бесплодия установлен нормальный кариотип;
- все обследованные пациенты страдали андрогенным дефицитом и инфертилитетом.

Прогрессивное развитие современной науки расширяет наши познания о человеческих генах, причинах развития генетических аномалий. Изучение генетических причин мужского бесплодия позволит раскрыть ряд малоизученных проблем сперматогенеза человека и качественно повысить уровень лечебных вмешательств.

Цитогенетичне дослідження еякуляту при чоловічому безплідді

П. Цветкова, І. Бабюк, С. Иванова, І. Ілієва

У статті проаналізовано результати цитогенетичного метода обстеження еякуляту при чоловічому безплідді. Цитогенетичний аналіз дозволяє протягом короткого часу проводити диференціальну діагностику генетичних дефектів і аномальних варіантів хромосом. Досліджуваний метод є перспективним і вимагає подальшого розроблення та вдосконалення.

Ключові слова: чоловіче безпліддя, генетична аномалія хромосом, цитогенетичний аналіз.

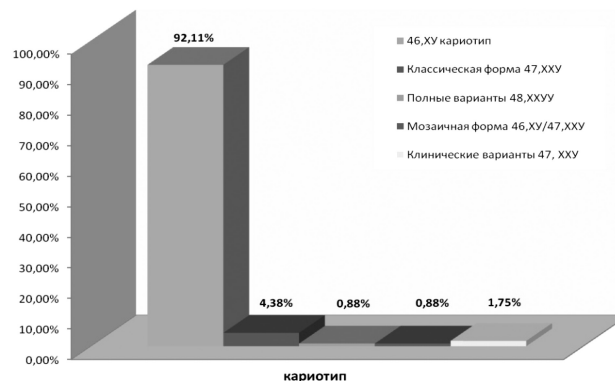


Рис. 3. Виды кариотипов у пациентов с азооспермией (n=114)

Cytogenetic method of research of male infertility P. Tzvetkova, I. Babiuk, S. Ivanova, I. Ilieva

In article the results of cytogenetic method of research of human semen of male infertility. The way of research of minimum quantity of cytogenetic analysis which allows during short period of time to get differential diagnostic of genetic defects and various anomaly forms of chromosomes. The investigated method is perspective and has to prolonged investigation and complication.

Key words: male infertility, genetic anomaly forms of chromosomes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронюк І.С., Шелельо Н.Й., Вайс В.В. Аналіз якості сперми як ефективний метод ранньої діагностики чоловічого безпліддя // Дерматологія, косметологія, сексопатологія. – 2008. – № 1–2 (II). – С. 66–69.
2. Цветкова П., Илиева И., Бабюк И., Бойович С. Подвижность на сперматозоиде – биологический маркер за фертилитетния потенциал на мъжа. – София: «Полимона» ООД, 2009. – 98 с.
3. Braekeler M, Dao TN. Cytogenetic studies in male infertility: a review // Hum Reprod. – 1991. – N 3. – P. 72–76.
4. Distech C.M. Y Chromosome Infertility. – 2006. – 192 p.
5. Hungerford D. Leucocytes cultures from small inocula of whole blood and preparations of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl // Stain Technol., Vol. 40. – 1965. – N 3. – P. 333.
6. Raushendorf MA, Zimmer J, Hanstein R, Dickemann C. Vogt PHComplex transcriptional control of the AZFa gene DDX3Y in human testis // Int. J. Androl. – N 2. – 2010. – P. 117.
7. Zhang HJ, Jin BF. Azoospermia factor and male infertility // Zhonghua Nan Ke Xue. – 201. – Vol. 16, N 2. – P. 166–169.
8. World Health Organization. Task Force on the diagnosis and treatment of infertility. Project N 78923. – 1980. – P. 13.
9. Egozcue J, Templado C, Vidal F, Navarro J, Morer-Fargas F. and Marina S. Meiotic studies in a series of 1100 infertile and sterile males // Hum. Genet. – 1983. – Vol. 65, N 3. – P. 185–188.
10. Fullerton G., Hamilton M., Maheshwari A. Should non-mosaic Klinefelter syndrome men be labeled as infertile in 2009 // Hum. Reprod. – 2010. – Vol. 25, N 3. – P. 588–597.
11. Hadjicacem-Loukil L., Ghorbel M., Bahloul A., Ayadi H., Ammar-Keskes L. Genetic association between AZF region polymorphism and Klinefelter syndrome // Reprod. Biomed. Online. – 2009. – Vol. 19, N 4. – P. 547–551.
12. Kinakin B., Rademaker A., Martin R. Paternal age of YY aneuploidy in human sperm, as by fluorescence in situ hybridization // Cytogenet. Cell Genet. – 1997. – Vol. 78, N 2. – P. 116–119.
13. Stouffs K., Vandermaelen D., Tournaye H., Liebaers I., Van Sterteghem A., Lissens W. Genetics and male infertility // Verh. K. Acad. Geneesk. Belg. – 2009. – Vol. 71, N 3. – P. 135–139.
14. Yamada K., Fujita K., Quan J., Sekine M., Kashima K., Yhata T., Tahaka K. Increased apoptosis of germ cells in patients with AZFc deletions // J. Assist. Reprod. Genet. – 2010. – N 4. – P. 41–42.