

УДК 616.6

Л.Н. ТУЛЕЕВА, А.Н. АРАЛБАЕВА

Научный центр урологии им. Б.У. Джарбусынова, г. Алматы, Казахстан

## РОЛЬ ДЕЛЕЦИЙ ГЕНА AZF В РАЗВИТИИ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Исследование проведено в рамках грантового финансирования научного проекта Министерства образования и науки Республики Казахстан на тему «Разработка научно обоснованных методов диагностики и лечения генетически обусловленных нарушений репродуктивной функции у мужчин»



Тулеева Л.Н.

*Исследование проведено в рамках грантового финансирования научного проекта Министерства образования и науки Республики Казахстан на тему «Разработка научно обоснованных методов диагностики и лечения генетически обусловленных нарушений репродуктивной функции у мужчин».*

*Мужской фактор бесплодия является причиной бездетности практически в 50% случаев. Несмотря на то, что современная медицина располагает новейшими технологиями проведения диагностики, причину мужской инфертильности установить не всегда удается. Согласно данным, полученным в ходе исследований за последнее десятилетие, причина идиопатического бесплодия имеет генетические корни. Выявлено, что у мужчин с бесплодием имеют место хромосомные аномалии либо в аутосомах, либо в гоносомах. В данной статье приведен обзор литературы по генетическим аспектам мужской инфертильности, связанных с делециями локусов гена AZF (Azoospermiafactor), расположенных в Y-хромосоме. Как приведено в источниках, степень нарушения процесса сперматогенеза напрямую зависит от наличия и характера хромосомных перестроек в субрегионах гена AZF.*

**Ключевые слова:** бесплодие, хромосомные аномалии, делеции, ген AZF.

**Б**есплодие в браке – одна из наиболее важных и сложных медицинских, социально-демографических и экономических проблем. Частота бесплодных браков во многих странах мира колеблется от 8 до 29%, и в половине случаев причиной является мужской фактор. Современная диагностическая и лечебная помощь при бесплодии опирается на основополагающие достижения в области репродукции, к которым относятся: расшифровка механизмов гормональной регуляции репродуктивного процесса, ультразвуковая диагностика, эндоскопическая хирургия, вспомогательные репродуктивные технологии. Тем не менее, в 8-10% случаев установить причину бесплодия не представляется возможным, что связано с большим числом разнообразных факторов, влияющих на репродуктивный процесс [1]. По данным некоторых авторов, в 30% случаев выяснить причину бесплодия не представляется возможным, так называемое идиопатическое бесплодие. Вероятнее всего в основе идиопатического бесплодия мужчин лежат недостаточно изученные генетические механизмы регуляции сперматогенеза [2], определённая доля случаев может относиться к патологии мейоза, нарушению дифференцировки и созревания сперматид в зрелую половую клетку и др. [3].

На процессы сперматогенеза негативное влияние могут оказать разные причины: заболевания половых органов, неправильное питание, расстройство гормонального фона, химические, физические факторы, аллергияция, применение определенных лекарственных препаратов, вредные привычки, а также генетические дефекты [4, 5]. Исследования показали, что генетические факторы, несомненно, уча-

ствуют в снижении мужского репродуктивного потенциала [6]. Частота цитогенетических аномалий оценивается в 2,1 – 28,4% случаев у бесплодных мужчин и только в 0,7-1% среди мужского населения в целом [7].

Мутации мужского генома приводят к изменению нормальной функции генетического аппарата, вследствие этого нарушения могут возникать на разных уровнях: при формировании половых органов, сперматогенезе, созревании сперматозоидов в придатках, их транспорте в репродуктивном тракте и эякуляции, проникновении через цервикальную слизь, капацитации, акросомальной реакции, оплодотворении яйцеклетки и т.д. [8].

Хромосомные аномалии у бесплодных мужчин могут быть числовыми или структурными по отношению половых хромосом (например, 47,XXY) или аутосом (например, при Робертсоновской транслокации) [7]. Среди факторов бесплодия микроделеции Y-хромосомы занимают второе место после синдрома Клайнфельтера. Необходимо отметить, что в основе причины генетически обусловленного мужского бесплодия, связанного с нарушением сперматогенеза, в 10-15% случаев имеет место следствие структурных нарушений в Y-хромосоме.

Ранее полагали, что функция Y-хромосомы у млекопитающих ограничивается контролем за дифференцировкой пола, но в 1976 г. были представлены доказательства значения Y-хромосомы человека для сперматогенеза. Y-хромосома – одна из самых маленьких хромосом в геноме человека – имеет размер около 60Mb, 30 из которых приходится на эухроматиновые домены, а остальное – на гетерохроматиновый блок в дистальном участке длинного

**Контакты:** Тулеева Лаззат Наматуллаевна, зав. отделом менеджмента НЦУ им. Б.У. Джарбусынова, г. Алматы. Тел. +7 705 232 14 55, +7 747 284 84 15 e-mail: lazzattul@mail.ru

**Contacts:** Lazzat Namatullaeva Tuleyeva, manager of department of management Research Centre of Urology named after B.U. Djarbusynov, Almaty c., Ph. +7 705 232 14 55, +7 747 284 84 15 e-mail: lazzattul@mail.ru

плеча, который может сильно варьировать по размеру у разных индивидов. В целом, хромосома делится на три участка: эухроматиновое короткое плечо (Yp11), эухроматиновая проксимальная часть длинного плеча (Yq11) и гетерохроматиновый дистальный участок (Yq12). Эухроматиновые районы невариабельны в размерах. Названные участки располагаются мозаично в составе хромосомы. Таким образом, в человеческой Y-хромосоме состоит из около 60 миллионов нуклеотидов, то есть это намного меньше, чем в других хромосомах, и 95% генов, сосредоточенных в данной половой хромосоме, ответственны за развитие мужских признаков и фертильности [9, 10].

Первую гипотезу о корреляции между делециями Y-хромосомы и мужским бесплодием выдвинули Tierpolo L. и Zuffardi O. в 1976 году. Анализируя терминальную делецию Y-хромосомы у 6 стерильных мужчин с нормальным фенотипом и азооспермией, Tierpolo и Zuffardi предположили существование генного комплекса мужской фертильности в дистальном участке эухроматиновой части длинного плеча Y-хромосомы (Yq11). Этот локус назвали фактором азооспермии (AZF) [11]. Дальнейшие цитогенетические и молекулярно-генетические исследования позволили построить детальную карту Y-хромосомы, включающую 43 делеционных интервала. В настоящее время цитогенетическими и молекулярно-генетическими методами можно диагностировать макро- и микроделеции Y-хромосомы, захватывающие локус AZF, которые удается обнаружить у 10-15% больных с азооспермией и у 5-10% с олигозооспермией тяжелой степени. Известно, что Y-хромосома содержит 220 участков генов; 104 из них кодирующие гены, 111 – псевдогены и 5 генов с пока еще не выясненными функциями. 16 кодирующих генов расположены в регионе AZF и ответственны за проявление мужской фертильности. На данное время выявлено более чем 12 типов микроделеций в регионе AZFY-хромосомы [7, 12-15]. Большинство микроделеций, являющиеся причиной азооспермии или олигозооспермии, находятся в области длинного плеча, эти микроделеции слишком малы, что не могут быть обнаружены с помощью кариотипирования. Они могут быть идентифицированы с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Дальнейшие работы в данной области выявили, что существуют три неперекрывающихся региона Y-хромосомы, которые играют важную роль в процессе сперматогенеза. Эти регионы AZFa, AZFb и AZFc и они расположены на протяжении Yq плеча в направлении от проксимальной к дистальной части [16]. Четвертый регион (AZFd) был обнаружен позже и отнесен к региону C [17]. Впоследствии для каждого субрегиона были выделены кандидатные гены, ответственные за нарушение сперматогенеза: для AZFa – USP9Y (DFFRY) и DBY, для AZFb – RBMY, для AZFc-региона – DAZ. Определены нуклеотидная последовательность и размер каждого субрегиона: AZFa около 800 тыс. п. н., AZFb – 3,2 млн. п. н. и AZFc-3,5 млн. пар нуклеотидов. В отличие от генов-кандидатов субрегионов AZFb и AZFc, гены AZFa-субрегиона представлены на хромосоме единственной копией, поэтому даже точковые мутации могут вызвать нарушение сперматогенеза и приводить к бесплодию у мужчин [12,18].

Генетическими основополагающими мужского бес-

плодия признаны хромосомные аномалии и микроделеции Y-хромосом в области Yq11. Как говорилось ранее, гены, контролирующие сперматогенез, расположенные в Yq11 области, называют генами фактора азооспермии (AZF) [11]. Фактор азооспермии (AZF) и его субрегионы AZFa, AZFb и AZFc являются основными мишенями для молекулярной диагностики [7, 19]. На сегодняшний день точно установлена связь микроделеций AZF локуса с проявлением азооспермии и олигозооспермии [20]. Частота микроделеций a,b,c AZF-локуса следующая: микроделеция в субрегионе AZF выявляется в 75-80% случаев; в субрегионах AZFb+c – 20-22%; в субрегионе AZFa – 3-5% случаев [1].

В большинстве литературных источников указано, что делеции AZFc могут ассоциироваться с азооспермией (54%) и тяжелой олигозооспермией (46%); гистологическая оценка тканей яичка варьирует от синдрома клеток Сертоли (СКС) до гипосперматогенеза. Также считается возможным, что тестикулярные повреждения, обусловленные делецией AZFc, могут прогрессировать и у пациентов с олигозооспермией, и с возрастом может развиваться азооспермия [21].

Полные делеции определенных AZF регионов связаны с различными нарушениями сперматогенеза, к примеру: делеции локусов региона AZFa – с синдромом клеток Сертоли, делеции локусов региона AZFb/AZFc с отсутствием мейоза I и, следовательно, с отсутствием клеток сперматогенеза или их недоразвитием. Делеции локусов региона AZFc приводят к гипосперматогенезу, ведущему к тяжелой олигозооспермии и азооспермии. Также отмечено, что микроделеции всего AZFa или AZFb регионов прогнозируют отрицательный результат при проведении биопсии яичка и TESE, в то время как при полной делеции AZFc региона прогнозируется успешное извлечение сперматозоидов [7]. Тем не менее, делеции AZFc региона часто встречаются у пациентов с обструктивной азооспермией или тяжелой олигозооспермией, достигая около 70% всех случаев [11]. AZFc регион содержит 11 семейств транскрипционных единиц, выраженных только в яичке. Пять из них кодируют белки, четыре псевдогена и две открытые рамки считывания [22]. Ген *deleted in azoospermia DAZ* выражается в сперматогониях и кодирует РНК-связывающий белок, важный для сперматогенеза. Четыре копии этого гена (*DAZ1, DAZ2, DAZ3, DAZ4*) находятся в локусе AZFc [22, 23, 24]. Ген *Y(CDY)* кодирует белок, содержащий гистоны ацетилтрансферазы, расположенные в ядре зрелых сперматид, где происходит гиперацетилирование гистонов. Человеческая Y-хромосома имеет две идентичные копии данного гена в AZFc регионе (*CDY1A* и *CDY1B*) и пару тесно связанных генов в P5 (*CDY2A* и *CDY2B*) [25,17]. Ген *Y 2 (BPY2)* специфически экспрессируется в яичке и его белковый продукт участвует в развитии мужских половых клеток, или развитии мужского бесплодия. Три почти идентичных копии этого гена находятся на Y хромосоме [26]. Наряду с этим выявлены частичные микроделеции в локусе AZFc, которые в той или иной степени влияют на процесс сперматогенеза. К таким делециям относятся изменения генов *gr/gr, b2/b3, b1/b3 and b3/b4*, но наиболее значимой представляется делеция региона *gr/gr*, который включает 2 копии гена *DAZ* и 1 копию гена *CDY1*. Названные гены являются наиважнейшими кандидатными генами, связанными с процессом

сперматогенеза в регионе AZFс. В последнее время gr/gr делеции все чаще обнаруживаются у мужчин с диагнозом: бесплодие, страдающих нарушением сперматогенеза в различной степени [20, 27].

Высокая структурная изменчивость Y-хромосомы, включая делеции, дупликации и инверсии [21], а также ее полиморфизм, особенно широкого диапазона Yq12, коррелирует с нарушением репродуктивной функции [22]. Следует заметить, что микроделеции и хромосомные аномалии в AZF регионе стали клинически важным показателем при проведении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), таких как интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ), и успешно внедряются в клиническую практику [23].

Так же, по данным литературы, среди регионов гена AZF, частота делеций локусов региона AZFс составляет 60%, комбинированных делеций с участием различных AZF регионов – 35%, делеций AZFa около 5% [28].

Делеции AZF региона фенотипически проявляются неодинаково. Они могут быть полными, то есть целиком удаляющими один AZF-регион или более, и частичными, если делеции не полностью захватывают какой-либо из трех его регионов. Делеции AZF-локуса связаны с различной степенью нарушения сперматогенеза – от умеренного снижения его активности (гипосперматогенез) или блока сперматогенеза до практически полного отсутствия половых клеток в семенных канальцах – синдром клеток Сертоли (СКС). Практически во всех случаях полные делеции являются мутациями de novo и приводят к азооспермии или олигозооспермии тяжелой степени [29, 21].

Считается возможным, что тестикулярные повреждения, обусловленные делецией AZFс, могут прогрессировать, и у пациентов с олигозооспермией с возрастом может развиваться азооспермия. Однако у мужчин с AZFс-делециями примерно в 71% случаев удается получить зрелые сперматозоиды, пригодные для искусственного оплодотворения, тогда как у пациентов с делециями AZFa и AZFb-субрегионов получить зрелые половые клетки невозможно [30]. При этом следует отметить, что для бесплодных мужчин крайне важно выявить наличие генетических дефектов до применения вспомогательных технологии репродукции для избежания передачи аномалий потомству и в случаях невозможности проведения данных манипуляций по преодолению проблему мужского бесплодия рекомендовать иные пути решения репродуктивных проблем – донорские программы или усыновление.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1 Гончарова Н.Н., Мартышкина Е.Ю., Казначеева Т.В., Арсланян К.Н., Адамян Л.В., Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Черных В.Б. Медико-генетические аспекты бесплодия // Акушерство. Гинекология. Репродукция. – 2012. – Т.6, №2. – С. 35-40

2 Курило Л.Ф., Гордеева С.И. Типы хромосомных аномалий у пациентов с нарушением формирования и/или функции органов репродуктивной системы // Андрология и генитальная хирургия. – 2009. – №3. – С. 24-28

3 Shi Y.C., Cui Y.X., Wei L. et al. AZF microdeletions on the Y chromosome in infertile Chinese men: a five-year retro-

spective analysis // Zhonghua Nan Ke Xue. – 2010. – N16. – P. 314-319.

4 Skakkebaek N.E., Giwercman A., de Kretser D. Pathogenesis and management of male infertility // Lancet. – 1994. – Vol. 3436. – N8911. – P. 1473-1479

5 Никитин О.Д. Мужской фактор бесплодного брака: состояние проблемы // Здоровье женщины. – 2009. – №10. – С. 173-177

6 Ferlin A, Arredi B, Foresta C Genetic causes of male infertility // Reprod Toxicol. – 2006. – N22. – P. 133-141

7 Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, et al. (1996) Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11 // HumMolGenet. – 1996. – N5. – P. 933-943

8 Вартанян Э.В., Петрин А.Н., Курносоева Т.Р. Генетические факторы мужского бесплодия // Проблемы репродукции. – 2010. – №2. – С.74-78

9 Быков В.Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX века (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2000. – №1. – С. 6-13

10 Ali S., Hasnain S.E. Genomics of the human Y-chromosome. // Association with male infertility // Gene. – 2003. – Vol.4. – N321. – P. 25-37

11 Tiepolo L., Zuffardi O. Localisation of factors controlling spermatogenesis in the non fluorescent portion of the human Y-chromosome long arm // Hum. Genet. – 1976. – Vol. 34. – P. 119-124

12 Гоголевский П.А., Калугина А.С., Бондаревидр Д.А. AZF- микроделеции и мужское бесплодие // Андрология и генитальная хирургия. – 2001. – №4. – С. 73-77

13 Черных В.Б., Курило Л.Ф., Поляков В.А. Y-хромосома, AZF-делеции и идиопатическое бесплодие у мужчин // Проблемы репродукции. – 2001. – Т.7, №5. – С. 47-58

14 Foresta C., Moro E., Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis // Endocr. Rev. – 2001. – Vol. 22, N2. – P. 226-239

15 Cai Z.M. Y chromosome microdeletion and male infertility: past, present and future // Zhonghua Nan Ke Xue. – 2010. – Vol.16, N5. – P. 387-394

16 Simoni M., Bakker E., Krausz C. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions // Int J Androl. – 2004. – N27. – С. 240-249

17 Repping S., Skaletsky H., Lange J., Silber S., Van Der Veen F., et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure // Am J Hum Genet. – 2002. – №71. – P. 906-922

18 Черных В.Б., Курило Л.Ф., Шилейко Л.В. и др. Анализ микроделеций в локусе AZF у мужчин с бесплодием: совместный опыт исследований // Мед. генетика. – 2003. – №8. – С. 367-379

19 Kumari A., Yadav S.K., Ali S. Organizational and functional status of the Y-linked genes and loci in the infertile patients having normal spermioagra // PLoS One. – 2012. – N7. – e41488

20 Choi J., Song S.H., Bak C.W., et al. Impaired Spermatogenesis and gr/gr Deletions Related to Y Chromosome Haplogroups in Korean Men // PLoS One. – 2012. – N7. – e43550

21 Черных В.Б., AZF делеции – частая генетическая

причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований // Проблемы репродукции. – 2009. – №1. – С. 10-15

22 Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H., Brown L.G., Minx P.J., Cordum H.S., et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men // Nat Genet. – 2001. – N29. – P. 279–286

23 Reijo R.A., Dorfman D.M., Slee R., Renshaw A.A., Loughlin K.R., et al. DAZ family proteins exist throughout male germ cell development and transit from nucleus to cytoplasm at meiosis in humans and mice // Biol Reprod. – 2000. – N63. – P. 1490–1496

24 Huang W.J., Lin Y.W., Hsiao K.N., Eilber K.S., Salido E.C., et al. Restricted expression of the human DAZ protein in premeiotic germ cells // Hum Reprod. – 2008. – N23. – P. 1280–1289

25 Lahn B.T., Tang Z.L., Zhou J., Barndt R.J., Parvinen M., et al. Previously uncharacterized histone acetyltransferases implicated in mammalian spermatogenesis // Proc Natl Acad Sci USA. – 2002. – N99. – P. 8707–8712

26 Wong E.Y., Tse J.Y., Yao K.M., Lui V.C., Tam P.C., et al. Identification and characterization of human VC2-interacting protein: VC2IP-1, a microtubule-associated protein-like protein // Biol Reprod. – 2004. – N70. – P. 775–784

27 Poongothai J., Gopenath T.S., Manonayaki S. Genetics of human male infertility // Singapore Med J. – 2009. – Vol. 50, – N4. – P. 336-347

28 Pina-Neto J.M., Carrara R.C., Bisinella R., Mazzucatto L.F., Martins M.D., Sartoratto E., Yamasaki R. Somatic cytogenetic and azoospermia factor gene microdeletion studies in infertile men // Braz J Med Biol Res. – 2006. – N39. – P. 555–561

29 Liu R.Z. AZF deletions and male infertility // Zhonghua Nan Ke Xue. – 2012. – Vol. 18, N11. – P. 963-8

30 Wang R.X., Fu C., Yang Y.P., Han R.R., Dong Y., Dai R.L., Liu R.Z. Male infertility in China: laboratory finding for AZF microdeletions and chromosomal abnormalities in infertile men from Northeastern China // J Assist Reprod Genet. – 2010. – N27. – P. 391–396

#### Т Ұ Ж Ы Р Ы М

**Л.Н. ТУЛЕЕВА, А.Н. АРАЛБАЕВА**

*АҚ акад. Б.У. Дзарбусынов атындағы Урология*

*Ғылыми Орталығы, Алматы қ., Қазақстан*

#### **AZF ГЕНИ ДЕЛЕЦИЯЛАРЫНЫҢ ЕРКЕК БЕДЕУЛІГІНІҢ ҚАЛЫПТАСУЫНДАҒЫ РОЛІ**

Баласыз отбасыларда 50% жағдайда бедеуліктің еркектік факторы орын алады. Заманауи медицина құзырында диагностика жасаудың жаңа технологияларының болуына қарамастан, көп жағдайда еркектік инфертильдіктің себебін анықтау мүмкін болмай келеді. Соңғы онжылдықтарда жасалған ғылыми ізденістердің нәтижесінде алынған мағлұматтар бойынша идиопатиялық бедеуліктің түп негізінде генетикалық механизмдер жатқандығы дәлелденді. Бедеу ерлердің аутосомаларында немесе жыныстық хромосомаларында хромосомалық ақаулардың болатындығы анықталған. Мақалада еркектік бедеуліктің Y-хромосомада орналасқан AZF (Azoospermia factor) генінің локустарының делецияларына байланысты болатын генетикалық аспектілері туралы айтылған. Әдебиеттердегі мәліметтерге сай сперматогенез процесінің ауытқу дәрежесі AZF генінің субаймақтарында орын алатын хромосомалық қайта құрулардың сипатына байланысты болады.

**Негізгі сөздер:** бедеулік, хромосомалық ауытқулар, делециялар, AZF гені.

#### SUMMARY

**L.N. TULEYEVA, A.N. ARALBAYEVA**

*Research center of urology n.a. Dzharbussynov B.U.,*

*Almaty c., Kazakhstan*

#### **ROLE OF AZF GENE DELETION IN THE DEVELOPMENT OF MALE INFERTILITY**

Malefactoriscauseofchildlessness in couples at 50% of cases. Although modern medicine has advanced technology of diagnosis, the cause of male infertility install always fails.

According to the data obtained in studies over the past decade, the cause of idiopathic infertility has genetic roots. It is revealed that in men with infertility are chromosomal abnormalities in either the autosomes or gonosomal. This article provides a review of literature on the genetic aspects of male infertility associated with deletion of the gene loci AZF (Azoospermia factor) arranged in the Y-chromosome. As shown in sources a degree of impairment of spermatogenesis depends on the existence and nature of chromosomal rearrangements in the subregions of AZF gene.

**Key words:** maleinfertility, chromosomal rearrangements, gene AZF.

**Для ссылки:** Тулеева Л.Н., Аралбаева А.Н. Роль делеций гена AZF в развитии мужского бесплодия // J. Medicine (Almaty). – 2015. – No 7 (157). – P. 42-45

Статья поступила в редакцию 20.07.2015 г.

Статья принята в печать 29.07.2015 г.