

Частота микроделений Y-хромосомы у армянских мужчин с бесплодием

Шахсуварян Г.Р.¹, Караханян Р.¹, Саркисян Т.Ф.¹, Ижевская В.Л.²

1 — Центр медицинской генетики и первичной охраны здоровья
Армения, г. Ереван, 0001, ул. Абовян, д. 34/3

2 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1

Микроделеции длинного плеча Y-хромосомы являются частой генетической причиной мужского бесплодия, связанного с азооспермией и олигозооспермией. В различных этнических группах частота встречаемости микроделений Y-хромосомы может существенно варьировать, а их спектр иметь определенные особенности. Целью представленного исследования являлось определение частоты и структуры микроделеционных изменений локуса AZF у мужчин армянской национальности с бесплодием для оптимизации диагностических и лечебных мероприятий с применением вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: микроделеции, Y-хромосома, мужское бесплодие, сперматогенез

Для цитирования: Шахсуварян Г.Р., Караханян Р., Саркисян Т.Ф., Ижевская В.Л. Частота микроделений Y-хромосомы у армянских мужчин с бесплодием. *Медицинская генетика* 2020; 19(11): 54-57.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.11.54-57

Автор для корреспонденции: Шахсуварян Г.Р.; **e-mail:** gshahsuvaryan@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила: 20.07.2020.

Frequency of Y chromosome microdeletions in Armenian infertile men

Shahsuvaryan G.¹, Karakhanyan R.¹, Sarkisian T.¹, Izhevskaya V.²

1 — Center of Medical Genetics and Primary Health Care
34/3 Abovyan st, 0001, Yerevan, Armenia

2 — Research Centre for Medical Genetics
Moskvorechie st.1, Moscow, 115522, Russia

The long arm of the Y chromosome microdeletions are common genetic cause of male infertility, related with azoospermia and oligozoospermia. The frequency of various Y-chromosome microdeletions can vary significantly in different ethnic groups and have certain features. The aim of the presented research is to determine the frequency and spectrum of AZF (azoospermia factor) microdeletions in infertile men of Armenian nationality, in order to optimize diagnostic and therapeutic measures using assisted reproductive technologies.

Key words: microdeletions, Y-chromosome, male infertility, spermatogenesis

For citation: Shahsuvaryan G., Karakhanyan R., Sarkisian T., Izhevskaya V. Frequency of Y chromosome microdeletions in Armenian infertile men. *Medical genetics*. 2020; 19(11): 54-57. (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.11.54-57

Corresponding author: Shahsuvaryan G.; **e-mail:** gshahsuvaryan@gmail.com

Funding. The study was carried out without sponsorship.

Conflict of interest. Author declare no conflicts of interest.

Accepted: 20.07.2020.

Введение

Микроделеции длинного плеча Y-хромосомы (Yq), являющиеся частой генетической причиной мужского бесплодия (МБ), были выявлены впервые в 1976 г. Y-хромосома влияет на формирование яичек, дифференцировку клеток Лейдига,

Сертоли и других соматических клеток тестикулярной ткани, а также на развитие мужских половых клеток, тем самым непосредственно регулируя процесс сперматогенеза [1,2]. Микроделеции локуса AZF (azoospermia factor) Y-хромосомы, приводящие к азооспермии

и олигозооспермии, занимают второе место по частоте встречаемости после синдрома Клайнфельтера среди генетических причин МБ. Их обнаруживают примерно у 13% мужчин с необструктивной азооспермией и у 6–10% мужчин с тяжелой олигозооспермией [3–5].

По размерам и локализации микроделений выделяют три субрегиона локуса AZF: AZFa, AZFb, и AZFc. Микроделения четвертого локуса AZFd, как правило, не сопровождаются клинически значимым влиянием на сперматогенез [6].

Регион AZFa охватывает примерно 800 т.п.н. и содержит два гена: *USP9Y*, *DBY(DDX3Y)*. При полной делеции региона AZFa с отсутствием генов *USP9Y* и *DDX3Y* развивается синдром «только клетки Сертоли» (Sertoli cell-only syndrome, SCOS) [7]. Регион AZFb охватывает примерно 6 млн п.н. Делеции этого участка приводят к нарушению формированию первичных сперматоцитов вследствие блока сперматогенеза на допахитенных стадиях профазы I мейоза. Регион AZFb содержит 32 гена и частично перекрывается с регионом AZFc, в результате чего микроделения AZFb нередко приводят также к утрате некоторых генов региона AZFc (например, *DAZ1* и *DAZ2*) [8]. Участок AZFc занимает более 3,5 млн п.н. и содержит 23 гена из семи различных семейств: *PRY*, *TTY*, *BPY*, *DAZ*, *GOLGA2LY*, *CSPYG4LY* и *CDY* [9].

Согласно литературным данным, микроделения наиболее часто возникают в субрегионе AZFc (65–70%), реже – в регионах AZFb, AZFb+c или AZFa+b+c (25–30%), а в субрегионе AZFa они встречаются только в 5% случаев МБ.

Накопилось немало сведений, свидетельствующих о наличии этнических различий в частоте встречаемости микроделений и их фенотипических проявлений [10–11]. В Армении, где МБ является не только медицинской, но и демографической и социально-экономической проблемой, ранее не исследовали распространенность и структуру микроделений Y-хромосомы у мужчин с бесплодием.

Материалы и методы

В Центре Медицинской Генетики и Первичной Охраны Здоровья (г.Ереван, Армения) проведено молекулярно-генетическое исследование на наличие микроделений Y-хромосомы у 129 мужчин с азооспермией или олигозооспермией (< 15 млн сперматозоидов в 1 мл) армянской национальности в возрасте от 18 лет до 51 года.

Забор крови проводили из локтевой вены в специальные пробирки с EDTA для предотвращения свер-

тывания крови и деградации ДНК. Согласно рекомендациям Европейской Ассоциации Андрологов (EAA) и программе внешнего контроля за качеством (<http://www.emqn.org/emqn/>), для выявления микроделений Y-хромосомы применяли мультиплексный набор ПЦР, включающий 9 пар праймеров, позволяющий исследовать следующие Y-специфические маркеры: *SRY* (ген, определяющий мужской пол), *ZFY* (ген «цинковых пальцев»), sY84 (AZFa), sY86 (AZFa), sY615 (AZFa), sY127 (AZFb), sY134 (AZFb), sY254 (AZFc), sY255 (AZFc). Данная система позволяет определять от одного до нескольких фрагментов Y-хромосомы (в случае протяженной делеции), используя, при этом другие фрагменты в качестве положительного контроля реакции в конкретном образце. Для выделения ДНК использовали набор «DNA-Blood» (Gentra® Puregene®). Все исследования проводились после письменного согласия пациентов.

Для статистического анализа полученных данных использовался пакет программ Origin 8.5.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа 129 пациентов с олиго/азооспермией у 13 (10,1%) были выявлены микроделения Y-хромосомы. Средний возраст мужчин с микроделениями составил 29 лет.

Наиболее частыми оказались микроделения региона AZFc. Микроделения региона AZFc в нашем исследовании выявили у 8 из 13 пациентов, AZFa+b – у 2 из 13, AZFb и AZFa – по одному пациенту.

Как отмечалось выше, при микроделениях AZFc, происходит утрата генов *DAZ*, кодирующих тестис-специфичные белки, необходимые для трансляции РНК в ходе мейоза, а также способствующие активации коактиваторов PGCα, PGCβ, необходимых в процессе эмбриогенеза. Частичная делеция региона AZFc с генами *DAZ* часто приводит к азооспермии и олигозооспермии. Другой ген региона AZFc – *CDY*, экспрессирующийся в зародышевых клетках, кодирует гистон-ацетилтрансферазу в ядрах сперматид, способствующую регуляции гиперацетилирования для образования протоаминов в ядрах сперматид. Поэтому при утрате данного гена нарушается процесс дифференцировки сперматид в зрелые сперматозоиды [12]. Представленный в нашем исследовании относительно высокий процент полной делеции региона AZFc подтверждается данными, полученными в результате других исследований [9].

Выявленные в наших исследованиях делеции региона AZFa, как известно, приводят к утрате генов *USP9Y*

и *DBY (DDX3Y)*. Известно, что ген *USP9Y* кодирует гидролазу и убиквитин-специфичную протеазу, связывающую с убиквитин-белковыми конъюгатами, на уровне сперматидов [13]. Ген *DBY* кодирует РНК-хеликазу и экспрессируется в яичках, играет ключевую роль на ранних стадиях формирования сперматозоидов [14,15]. Полная делеция данного региона Y-хромосомы является причиной развития SCOS, характеризующегося уменьшенным объемом (гипоплазией) яичек [12].

У одного из обследованных нами пациентов выявлены микроделеции, затрагивающие все локусы IC и AZFabc. Подобный случай является крайне редким, указывающим, фактически, на SRY-негативную инверсию пола с мужским фенотипом. Согласно недавним исследованиям, полные делеции одновременно всех трех регионов AZF обнаруживают лишь в 10% случаев всех микроделений длинного плеча Y-хромосомы, при этом у мужчин наблюдается первичное бесплодие, вызванное необструктивной азооспермией [9].

При микроделециях AZFb происходит утрата генов *RBMY* и *PRY*, кодирующих в эмбриональных клетках тестис-специфические РНК-связывающие белки, необходимые в процессе сплайсинга и регулирующие апоптоз [16,17]. У мужчин с полными делециями AZFb и AZFb+c развивается необструктивная азооспермия.

Что касается этнических особенностей микроделений Y-хромосомы, согласно иранским исследователям, среди курдского и тюркского населения Ирана преобладающей являлась микроделеция AZFb, однако, как полагают сами авторы, подобная частота встречаемости могла быть связана с различиями между этническими популяциями региона, и является, скорее, исключением, нежели правилом в общем мониторинге микроделений [18]. Кроме того, в результатах исследований, проведенных иранскими коллегами, микроделеции маркеров SY84 и SY86 участка AZFa не были выявлены ни в одном из случаев.

При сопоставлении полученных результатов с литературными данными по частоте встречаемости микроделений Y-хромосомы в различных этнических группах, следует отметить также, что доля микроделений AZF у армянских мужчин достаточно высока — около 10%. Подобные показатели отмечены у жителей Азии, Мексики и Испании. Так, у арабов Туниса, частота встречаемости всех типов микроделений AZF составляла 11,8%, у фактически моноэтнического населения Японии — 11,7%, у жителей Испании и Мексики — 14% и 12%, соответственно [10,11,19,20].

Большинство мужчин с микроделециями Y-хромосомы являются кандидатами на проведение экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) методом ICSI. Поскольку все Y-несущие сперматозоиды,

полученные у таких пациентов, содержат микроделеции, они обязательно будут передаваться их плодам мужского пола, что приведет впоследствии к таким же репродуктивным проблемам. Кроме того, микроделеции регионов AZF, даже неполные, предрасполагают к нестабильности Y-хромосомы, поэтому могут рассматриваться как «пре-мутации» с последующей полной делецией регионов Y-хромосомы, увеличивая риск появления эмбриональных клеток с хромосомным набором 45,X. Хотя у потомства, полученного с помощью ЭКО/ICSI от многих носителей делеций региона AZFc, не обнаружены явные аномалии развития половых органов или другие соматические дефекты, обязательное медико-генетическое консультирование и предимплантационное генетическое тестирование помогут им предотвратить рождение детей с хромосомными нарушениями, а также передачу наследственного дефекта потомкам мужчин с микроделециями Y-хромосомы.

Литература

1. Kleiman S.E., Bar-Shira Maymon B., Yogev L., Paz G., Yavetz H., The prognostic role of the extent of Y microdeletion on spermatogenesis and maturity of Sertoli cells. *Hum. Reprod.* 2001; 16 (3): 399-402.
2. Repping S., Skaletsky H., Lange J., Silber S., Van Der Veen F., Oates R.D., Page D.C., Rozen S. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71(4): 906-22.
3. Черных В. Б. Генетические факторы мужского бесплодия. Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярные методы диагностики моногенных заболеваний: возможности и перспективы». Медицинская генетика 2006; 2: 8-14.
4. Черных В.Б. AZF делеции — частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований, Проблемы репродукции. 2009;1: 10-15.
5. Reynolds N., Cooke H. J. Role of the DAZ genes in male fertility. *Reprod Biomed. Online.* 2005; 10(1): 72–80
6. Kent-First M., Muallem A., Shultz J., Pryor J., Roberts K., Nolten W., et al. Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol. Reprod Dev.* 1999; 53: 27-41.
7. Choi D. K., Gong I. H., Hwang J. H., Oh J. J., Hong J. Y., Detection of Y chromosome microdeletion is valuable in the treatment of patients with nonobstructive azoospermia and oligoasthenoteratozoospermia: sperm retrieval rate and birth rate. *Korean J. Urol.* 2013; 54(2):111-6.
8. Reijo R., Lee T. Y., Salo P., Alagappan R., Brown L. G., Rosenberg M., et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet.* 1995; 10(4): 383-93.
9. Hamada A. J., Esteves S. C., Agarwal A., A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. *Clinics (Sao Paulo).* Feb 2013; 68(Suppl 1): 39–60.
10. Saliminejad K., Khorshid H. R. K. Methodological errors in screening of Yq microdeletion in Iranian azoospermic men. *The Indian Journal of Medical Research.* 2012; 135(1), 137–138.

11. Suganthi R., Vijesh V. V., Vandana N., Fathima Ali Benazir J., Y chorosomal microdeletion screening in the workup of male infertility and its current status in India. *Int. J. Fertil. Steril.* 2014;7(4): 253-66.
12. Reynolds N., Cooke H. J., Role of the DAZ genes in male fertility. *Reprod Biomed. Online.* 2005; 10(1): 72-80.
13. d'Andrea A., Pellman D., Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1998; 33(5):337-52.
14. Krausz C., Degl'Innocenti S., Nuti F., Morelli A., Felici F., Sansone M., Varriale G., Forti G., Natural transmission of USP9Y gene mutations: a new perspective on the role of AZFa genes in male fertility. *Hum. Mol. Genet.* 2006; 15(18):2673-81.
15. Nuti F., Krausz C., Gene polymorphisms/mutations relevant to abnormal spermatogenesis. *Reprod Biomed.* 2008; 16(4): 504-13.
16. Ferlin A., Moro E., Rossi A., Dallapiccola B., Foresta C., The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J. Med. Genet.*, 2003;40(1):18-24.
17. Gallego A., Rogel R., Luján S., Plaza B., Delgado F., Boronat F. AZF gene microdeletions: case series and literature review. *Actas Urol Esp.* 2014;38(10):698-702.
18. Mirfakhraie R., Mirzajani F., Kalantar S. M., Montazeri M., Salsabili N., Pourmand G. R., Houshmand M., High prevalence of AZFb microdeletion in Iranian patients with non-obstructive azoospermia. *Indian J. Med. Res.*, 2010 Sep; 132: 265-70.
19. Elfateh Fadlalla, Rulin Dai, Xin Yun, Linlin Li, Haibo Zhu, Rui-Zhi Liu. Prevalence and patterns of Y chromosome microdeletion in infertile men with azoospermia and oligozoospermia in Northeast China. *Iran J. Reprod. Med.* 2014; 12(6):383-388.
20. Khabour O. F., Fararjeh A. S., Alfaouri A. A. Genetic screening for AZF Y chromosome microdeletions in Jordanian azoospermic infertile men. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics.* 2014; 5(1), 47-50.
5. Reynolds N., Cooke H. J., Role of the DAZ genes in male fertility. *Reprod Biomed. Online.* 2005; 10(1): 72-80.
6. Kent-First M., Muallem A., Shultz J., Pryor J., Roberts K., Noltan W., et al. Defining regions of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of a fourth AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection. *Mol. Reprod Dev.* 1999; 53: 27-41.
7. Choi D. K., Gong I. H., Hwang J. H., Oh J. J., Hong J. Y., Detection of Y chromosome microdeletion is valuable in the treatment of patients with nonobstructive azoospermia and oligoasthenoteratozoospermia: sperm retrieval rate and birth rate. *Korean J. Urol.* 2013; 54(2):111-6.
8. Reijo R., Lee T. Y., Salo P., Alagappan R., Brown L. G., Rosenberg M., et al. Diverse spermatogenic defects in humans caused by Y chromosome deletions encompassing a novel RNA-binding protein gene. *Nat Genet.* 1995; 10(4): 383-93.
9. Hamada A. J., Esteves S. C., Agarwal A., A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. *Clinics (Sao Paulo)*. Feb 2013; 68(Suppl 1): 39-60.
10. Saliminejad K., Khorshid H. R. K. Methodological errors in screening of Yq microdeletion in Iranian azoospermic men. *The Indian Journal of Medical Research.* 2012; 135(1), 137-138.
11. Suganthi R., Vijesh V. V., Vandana N., Fathima Ali Benazir J., Y chorosomal microdeletion screening in the workup of male infertility and its current status in India. *Int. J. Fertil. Steril.* 2014;7(4): 253-66.
12. Reynolds N., Cooke H. J., Role of the DAZ genes in male fertility. *Reprod Biomed. Online.* 2005; 10(1): 72-80.
13. d'Andrea A., Pellman D., Deubiquitinating enzymes: a new class of biological regulators. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 1998; 33(5):337-52.
14. Krausz C., Degl'Innocenti S., Nuti F., Morelli A., Felici F., Sansone M., Varriale G., Forti G., Natural transmission of USP9Y gene mutations: a new perspective on the role of AZFa genes in male fertility. *Hum. Mol. Genet.* 2006; 15(18):2673-81.
15. Nuti F., Krausz C., Gene polymorphisms/mutations relevant to abnormal spermatogenesis. *Reprod Biomed.* 2008; 16(4): 504-13.
16. Ferlin A., Moro E., Rossi A., Dallapiccola B., Foresta C., The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J. Med. Genet.*, 2003;40(1):18-24.
17. Gallego A., Rogel R., Luján S., Plaza B., Delgado F., Boronat F. AZF gene microdeletions: case series and literature review. *Actas Urol Esp.* 2014;38(10):698-702.
18. Mirfakhraie R., Mirzajani F., Kalantar S. M., Montazeri M., Salsabili N., Pourmand G. R., Houshmand M., High prevalence of AZFb microdeletion in Iranian patients with non-obstructive azoospermia. *Indian J. Med. Res.*, 2010 Sep; 132: 265-70.
19. Elfateh Fadlalla, Rulin Dai, Xin Yun, Linlin Li, Haibo Zhu, Rui-Zhi Liu. Prevalence and patterns of Y chromosome microdeletion in infertile men with azoospermia and oligozoospermia in Northeast China. *Iran J. Reprod. Med.* 2014; 12(6):383-388.
20. Khabour O. F., Fararjeh A. S., Alfaouri A. A. Genetic screening for AZF Y chromosome microdeletions in Jordanian azoospermic infertile men. *International Journal of Molecular Epidemiology and Genetics.* 2014; 5(1), 47-50.

References

1. Kleiman S.E., Bar-Shira Maymon B., Yogev L., Paz G., Yavetz H., The prognostic role of the extent of Y microdeletion on spermatogenesis and maturity of Sertoli cells. *Hum. Reprod.* 2001; 16 (3): 399-402.
2. Repping S., Skaletsky H., Lange J., Silber S., Van Der Veen F., Oates R. D., Page D. C., Rozen S., Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 71(4): 906-22.
3. Chernykh V.B. Geneticheskiye faktory muzhskogo besplodiya [Genetic factors of male infertility]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2006; 2: 8-14. (In Russ.)
4. Chernykh V.B. AZF deletsii - chastaya geneticheskaya prichina besplodiya u muzhchin: sovremennoye sostoyaniye issledovaniy [AZF deletions are common genetic cause of male infertility: the current state of research] *Problemy reproduktivnoy genetiki [Russian Journal of Human Reproduction]*. 2009;1: 10-15. (In Russ.)