

Роль генетического исследования в диагностике мужского бесплодия: примеры собственных клинических наблюдений и их теоретическое обоснование

Ф.И. Костев¹, Р.Б. Чистяков¹, С.В. Богацкий¹, А.В. Руденко¹, А.Н. Зачеславский¹, Ю.А. Кабак²

¹Одесский национальный медицинский университет

²Коммунальное учреждение «Городская клиническая больница №10», г. Одесса

Представлены два клинических случая мужского бесплодия, обусловленного азооспермией на фоне аномалий (количественных и качественных) гоносом, и теоретическое обоснование роли аномалий гоносом в генезе репродуктивных нарушений. Результаты исследований свидетельствуют, что большим бесплодием и азооспермией необходимо проводить цитогенетическое исследование для дифференцирования патологии и выбора адекватной тактики андрологической реабилитации.

Ключевые слова: мужское бесплодие, хромосомные нарушения, цитогенетическое обследование, синдром де ла Шапелля.

Аномалии половых хромосом (гоносом) обуславливают около 2% всех случаев бесплодия у мужчин [1]. Значительно больше пациентов с цитогенетическими нарушениями выявляют в тех случаях, когда бесплодие сопровождается нарушением сперматогенеза и гипогонадизмом: от 19,4% до 64% [8].

Для пациентов с генетическими нарушениями репродуктивной функции характерны синдромы, связанные с аномалиями в системе половых хромосом (гоносом) [7, 11, 17, 22]. Результаты исследований, проведенных у пациентов мужского и женского пола, свидетельствуют о том, что аномалии хромосом X и Y составляют около 2/3 всех хромосомных нарушений [7, 12, 22, 28]. Частота синдромов, обусловленных аномалиями гоносом, составляет 4,6 на 1000 новорожденных [2]. Также известно, что около 2% мужчин страдают инфертильностью [18]. Среди мужчин с бесплодием и нарушением сперматогенеза у 5–15% обнаруживают хромосомные нарушения: аномалии гоносом составляют 75%, аутосом – 25% [9, 10, 16]. При аномалиях гоносом отмечается отсутствие множественных пороков развития и умственной отсталости (приблизительно у 1% больных диагностирована задержка умственного развития), и это отставание выражено значительно меньше, чем при аномалиях аутосом [13, 29].

Аномалии гоносом делят на количественные (моносомии и полисомии) и структурные (транслокации, делеции, дупликации, инсерции, инверсии), представленные полными и мозаичными формами [3–6, 33]. Наиболее распространенными являются синдромы Клайнфельтера (кариотип 47,XXY; частота до 1,5 на 1000 новорожденных), дисомии Y (кариотип 47,XY; частота 1 на 1000 новорожденных). Структурные перестройки хромосомы Y достаточно редки [11, 12, 25, 27, 30].

Причиной генетически обусловленного мужского бесплодия, связанного с нарушением сперматогенеза, является мутация в одном из локусов хромосомы Y [15, 31]. Анализируя терминальную делецию Y-хромосомы предположили существование генного комплекса мужской фертильности в дистальном участке эухроматиновой части длинного плеча хромосомы Y (Yq11). Этот локус назвали фактором азооспермии (AZF). Локализация AZF в районе Yq11 была подтверждена молекуляр-

ными исследованиями [31].

На Y-хромосоме локализовано более 100 генов и последовательностей ДНК, и лишь функции 16 из них определены [15].

Ген, контролирующий гаметогенез у мужчин, расположен в эухроматиновой части длинного плеча хромосомы Y-фактор азооспермии (AZF) [19]. С помощью молекулярных методов была установлена неоднородная структура этого гена. Микроделеции, вызывающие нарушения репродуктивной функции у мужчин, были картированы в трех различных субрегионах Yq11. У пациентов с микроделециями этих локусов выявлено нарушение сперматогенеза на различных стадиях в зависимости от потери определенного участка AZF.

Хромосома Y делится на три участка: эухроматиновое короткое плечо Yp11, эухроматиновая проксимальная часть длинного плеча Yq11 и гетерохроматиновый дистальный участок Yq12 [20]. Можно предположить наличие, как минимум, трех локусов в Yq11, контролирующих сперматогенез, причем каждый из них ответствен за разные стадии этого процесса. Последствием нарушения в каждой из указанных последовательностей является азооспермия или олигозооспермия тяжелой степени, поэтому эти локусы получили названия AZFa, AZFb и AZFc. Изучается их роль в процессе сперматогенеза [31].

На хромосоме Y человека расположены гены, контролирующие дифференцировку пола, формирование яичек и процесс сперматогенеза [21, 24]. Потеря или нарушение структуры этих генов, как правило, приводит к нарушению развития половой системы [14, 23, 26].

Синдром де ла Шапелля (XX-male) с кариотипом 46, XX у пациентов с мужским фенотипом встречается с частотой 1 на 20 000–24 000 новорожденных мальчиков. Доказано, что у большинства пациентов материал хромосомы Y транслоцирован на короткие плечи одной из хромосом X; длинное плечо хромосомы Y в таких случаях утрачивается, отсутствует и локус AZF, что объясняет азооспермию [7]. Однако в настоящее время допускается наличие гена AZF у больных с синдромом де ла Шапелля [9].

Синдрому де ла Шапелля присуща мужская психосоциальная ориентация; клинически и эндокринологически синдром XX-male напоминает синдром Клайнфельтера, за исключением некоторых клинических различий. В постпубертатный период у таких пациентов, как и у индивидуумов с синдромом Клайнфельтера, определяются разной степени недостаточность тестостерона, в 1/3 случаев гинекомастия, уменьшенные размеры яичек и азооспермия. Продукция тестостерона и ответ на стимуляцию хорионическим гонадотропином снижены, базальный и стимулированный РГЛГ уровень ФСГ и ЛГ повышен. У 10% пациентов отмечают гипоспадию, обусловленную недостаточной выработкой тестостерона клетками Лейдига во внутриутробный период развития. По сравнению с мужчинами с кариотипом 47,XXY у мужчин с кариотипом 46,XX значительно ре-

же встречаются интеллектуальные и психосоциальные нарушения. Для них характерен более низкий рост (средний рост 168 см), чем при кариотипе 47,XXY или у здоровых мужчин с кариотипом 46,XY. Одной из особенностей, отличающих пациентов с синдромом XX-male, является малый размер зубов (Y-сцепленное наследование). В отличие от пациентов с кариотипом 47,XXY они обычно обладают нормальными пропорциями скелета. У пациентов с синдромом де ла Шапелля в первые 20 лет жизни не определяется никаких пограничных расстройств и каких-либо генитальных аномалий [9].

Описанные выше генетические синдромы редко диагностируют, в связи с чем каждый клинический случай аномалии гоносом заслуживает отдельного внимания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Приводим клинические примеры собственных наблюдений больных бесплодием с аномалиями половых хромосом, которые находятся под нашим наблюдением с 2007 года. Генетические исследования выполнены в медико-генетической лаборатории Одесского национального медицинского университета, а наблюдаемые больные были проконсультированы в лаборатории генетики Медико-генетического научного центра РАМН, г. Москва.

Комплекс обследования включал: сбор анамнеза, осмотр, антропометрию; оценку гормональных показателей – тестостерон общий (Т), лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и пролактин (ПРЛ); исследование секрета предстательной железы для исключения воспалительного процесса; спермограмму; ультразвуковое исследование органов мошонки и предстательной железы; кариотипирование; цитогенетический анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Больной П., 1970 года рождения, житель г. Одессы, обратился в связи с отсутствием детей в браке на протяжении 3 лет. Из анамнеза известно, что пациент имел отставание в физическом развитии; адекватные эрекции с 12 лет; эякуляция с 14 лет, связанная с поллюцией; поллюции с 14 до 18 лет 1 раз в 20–30 дней; половая жизнь с 17 лет, регулярная – с 22 лет до настоящего времени; состоит в первом браке, беременностей у жены не отмечено.

Антропометрические данные: рост – 160 см, масса тела – 76 кг, окружность груди – 114 см, окружность талии – 100 см, окружность таза – 95 см, окружность бедра (под ягодичной складкой) – 62 см, окружность голени – 41 см, высота ног (до верхних границ вертела бедренной кости) – 85 см, длина руки – 62 см, длина кисти – 16,1 см; телосложение правильное, дизморфий нет; малый размер зубов; оволосение лобка по мужскому типу; половой член нормальных размеров, яички обычных размеров и консистенции.

Дополнительные исследования

Спермограмма: объем – 2,0 мл; консистенция вязкая; разжижение через 30 мин; цвет спермы – бело-серая, мутная; запах специфический (цветов конского каштана); Ph – 8,0; в эякуляте сперматозоидов нет; лейкоциты – до 10^6 в 1 мл; макрофаги единичные в препарате.

Половые гормоны: ФСГ – 2,69 мМЕ/мл, ЛГ – 13,5 мМЕ/мл, Т – 10,1 нмоль/л, ПРЛ – 415 нмоль/л.

УЗИ органов мошонки: эхо-признаки гипоплазии яичек; предстательная железа – 31×21×30 мм, обычных размеров; структура однородная; плотность обычная.

Проведено кариотипирование по лимфоцитам периферической крови: 46XX (рисунк).

Молекулярно-генетическая диагностика: с целью определения наличия гена AZF проведен поиск делеций в локусах AMG



(хромосома X), AMGL (центромерный район хромосомы Y), SRY, ZFY, sY84, sY86, sY615 (AZFa); sY127, sY134 (AZFb); sY254, sY255 (AZFc) хромосомы Y. Локус AZF отсутствует.

На основании проведенных анамнестических, клинических и молекулярно-генетических исследований верифицирован синдром де ла Шапелля.

Пациенту была назначена заместительная терапия тестостероном ундеконатом в дозе 1000 мг один раз в 12 нед. На фоне которой спустя 9 мес было отмечено усиление проявления вторичных половых признаков (понижение тембра голоса, усиления роста волос на лице, увеличение мышечной массы). Пациент продолжает находиться на заместительной терапии.

Следующий клинический пример из числа наблюдаемых нами пациентов представлен редкой формой количественной аномалии гоносом.

Больной В., 1985 года рождения, житель г. Одессы, обратился с бесплодием, в браке более 1 года. Адекватные эрекции с 13 лет; эякуляция с 14,5 года, связанная с поллюцией; половая жизнь с 18 лет, регулярная – с 20 лет; состоит в первом браке, беременностей у жены не отмечено.

Антропометрические данные: рост – 175 см, масса тела – 68 кг, окружность груди – 93 см, окружность талии – 88 см; телосложение правильное, дизморфий нет; оволосение лобка по мужскому типу; половой член нормальных размеров, яички обычных размеров и консистенции.

Дополнительные исследования

Спермограмма: объем – 3,0 мл; консистенция жидкая; разжижение через 30 мин; цвет спермы – сероватая, мутная; запах специфический (цветов конского каштана); Ph – 7,0; в эякуляте сперматозоидов нет; лейкоциты – 200 тыс./мл.

Половые гормоны: ФСГ – 40,9 мМЕ/мл, ЛГ – 4,6 мМЕ/мл, тестостерон – 14,4 нмоль/л.

УЗИ предстательной железы и органов мошонки: яички и придатки обычных размеров и эхогенности; предстательная железа – 36×27×39 мм, обычных размеров; структура однородная; плотность обычная.

Исследование кариотипа: мозаицизм 45,X/46,XY.

При анализе кариотипа в 13% исследованных метафаз выявлен клон клеток, не содержащих Y-хромосому (45,X).

Возникновение клона 45,X вероятнее всего обусловлено постзиготической утратой Y-хромосомы. Наряду с мозаичным кариотипом возможно и наличие микроделеций в локусе AZF.

Описанные клинические примеры представляют интерес в связи с отсутствием фенотипических проявлений генетических аномалий. Поводом для обследования пациентов и верификации диагноза послужило обращение пациентов в связи с бесплодием в браке.

ВЫВОДЫ

Цитогенетическое исследование у больных, страдающих мужским бесплодием с азооспермией, позволяет определить генез заболевания и перспективы андрологической реабилитации.

Пациентам с выявленными генетическими аномалиями и проявлениями гипогонадизма необходимо проводить гормонотерапию по заместительному или стимулирующему типу в целях поддержания андрологического статуса.

Роль генетического дослідження в діагностиці чоловічого безпліддя: приклади власних клінічних спостережень та їхнє теоретичне обґрунтування
Ф.І. Костев, Р.В. Чистяков, С.В. Богацкий, О.В. Руденко, О.М. Зачеславський, Ю.А. Кабак

Представлено два клінічні випадки чоловічого безпліддя, зумовленого азооспермією на тлі аномалій (кількісних і якісних) гоносом, та теоретичне обґрунтування ролі аномалій гоносом у генезі репродуктивних порушень. Результати досліджень свідчать, що хворим на безпліддя та азооспермію необхідно проводити цитогенетичне дослідження для диференціювання патології та вибору адекватної тактики андрологічної реабілітації.

Ключові слова: чоловіче безпліддя, хромосомні порушення, цитогенетичне обстеження, синдром де ла Шапелля.

The role of genetic studies in the diagnosis of male infertility: examples of shareholders of clinical observations and theoretical basis
F.I. Kostev, R.V. Chistyakov, S.V. Bogatsky, A.V. Rudenko, A.N. Zacheslavsky, U.A. Kabak

Here are presented two cases of the male azoospermia-influenced infertility in the setting of gonosomes anomalies (quantity and quality) and theoretic substantiation of the gonosomes anomaly role in the genesis of the reproductive disorder. Results of our researches confirm that patients with infertility and azoospermia need cytogenetic studies in order to differentiate pathology and select appropriate tactics of andrology rehabilitation.

Key words: male infertility, chromosome disorder, cytogenetic screening, de la Shapell syndrome.

Сведения об авторах

Костев Федор Иванович – Одесский национальный медицинский университет; 65082, г. Одесса, пер. Валиховский, 2, тел.: (048) 729-87-46. E-mail: prof.kostev@gmail.com

Чистяков Руслан Борисович – Одесский национальный медицинский университет; 65082, г. Одесса, пер. Валиховский, 2; тел.: (067) 486-09-22. E-mail: ruschystyakov@mail.ru

Богацкий Сергей Владимирович – Одесский национальный медицинский университет; 65082, г. Одесса, пер. Валиховский, 2; тел.: (093) 785-65-71. E-mail: bogatskiy@yahoo.com

Руденко Александр Викторович – Одесский национальный медицинский университет, 65082, г. Одесса, пер. Валиховский, 2, тел.: (067) 764-99-87. E-mail: rudenko_a_v@mail.ru

Зачеславский Александр Николаевич – Одесский национальный медицинский университет, 65082, г. Одесса, пер. Валиховский, 2, тел.: (067) 917-78-54.

Кабак Юрий Анатольевич – КУ ГКБ №10, 65074, г. Одесса, ул. Малиновского, 61; тел.: (067) 489-42-49. E-mail: urolog8@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бочков Н.П. Клиническая генетика (учебник) 2002;448.
- Ворсанова С.Г., Казанцева Л.З., Демидова И.А., Юров Ю.Б. Использование методов молекулярно-цитогенетической диагностики в практике генетического консультирования. Информационное письмо, 1990.
- Ворсанова С.Г. Хромосомные аномалии у детей с недифференцированной олигофренией и супружеских пар с отягощенным акушерским анамнезом по данным молекулярно-цитогенетических исследований: Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. Киев, 1991; 52.
- Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Дерягин Г.В. и др. Идентификация хромосом X в интерфазных ядрах с помощью гибридизации нуклеиновых кислот in situ для выявления анеуплоидий // Бюлл. экспер. биол. мед., 1991;10:72–77.
- Ворсанова С.Г., Казанцева Л.З., Юров Ю.Б. и др. Использование молекулярно-цитогенетических методов диагностики в генетической клинике // Вопросы охраны материнства и детства, 1991;11:71–76.
- Ворсанова С.Г., Казанцева Л.З., Берешева А.К., Демидова И.А. Результаты молекулярно-цитогенетической диагностики супружеских пар с нарушением репродуктивной функции при медико-генетическом консультировании. Молекулярная диагностика наследственных болезней (XY «чистой» дисгенезисное консультирование: Сб. научных трудов. – М.: МОНИКИ, 1995; Т. 1:124–133.
- Ворсанова С.Г., Шаронин В.О., Курило Л.Ф. Аномалии половых хромосом при нарушении репродуктивной функции у мужчин // Пробл. репрод., 1998;2: 12–21.
- Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышев В.Н. Медицинская цитогенетика (учебное пособие). – М.: Медпрактика-М, 2006; 300.
- Калинченко С.Ю., Тишова Ю.А., Асанов А.Ю. и др. Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика синдрома де ла Шапелля (синдром XX-male): обзор литературы и описание одного клинического случая // Пробл. репрод., 2003;5:58–63.
- Курило Л.Ф. Возможности цитогенетического исследования мейоза при мужском бесплодии // Цитол. и генет., 1989; 23:2:63–70.
- Курило Л.Ф. Генетически обусловленные нарушения мужской репродуктивной системы / Сб.: Сексология и андрология. – К., 1996; 28–46.
- Курило Л.Ф., Шилейко Л.В., Мхитарова Е.В. и др. Структура наследственной патологии половой системы при обследовании пациентов с нарушением репродукции / Тез. конф. «Инвалидиз. наследственные заболевания», МГНЦ РАМН, Москва, XI 1997.
- Маринчева Г.С., Гаврилов В.И. Умственная отсталость при наследственных болезнях. – М.: Медицина, 1988;255.
- Осипова Г.Р. Исследование гена SRY при некоторых нарушениях детерминации пола (XY «чистой» дисгенезис гонад, синдроме Шерешевского-Тернера, XX-инверсии пола): Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 1997;24.
- Affara N., Bishop C., Brown W. et al. Report of the international workshop on Y chromosome mapping 1995. Cytogenet Cell Genet 1996;73:33–76.
- Barakat A.I., Seikaly M.G., Kaloustian V.M. Urogenital abnormalities in genetic diseases. J of Urology 1986;136:4:778–785.
- Borgaonkar D.S. Chromosomal variation in man. A catalog of chromosomal variants and anomalies. Alan R.Liss, Inc., NY, 5th edition, 1989.
- Goncalves J., Rocha T., Vale F. et al. Delineation of genetic basis of azoospermia. Eur J Hum Genet 1996;4S1:21.
- Henegariu O., Hirschmann P., Kilian K. et al. Rapid screening of the Y chromosome in idiopathic sterile men, diagnostic for deletions in AZF, a genetic Y-factor expressed during spermatogenesis. Andrologia 1994;26:97–106.
- ISCN 1995. An international systeme for human cytogenetic nomenclature, Mitelman F.
- Kucheria K., Mc Elreavey K., Fellous M. The present status of our understanding of human sex determination. Cytogenet Cell Genet 1997;77:113.
- Kurilo L., Mchitarova E., Schilejko L. et al. Chromosomal anomalies in patients with reproductive failures. Abst. ESMG-28th An Meet IV-1996, London.
- McElreavey K.D., Vilain E., Abbas N. et al. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. Proc Natl Acad Sci USA, 1993;90:3368–3372.
- Micic M., Nikolis J., Micic S., Diklic V. Y chromosome anomalies and male fertility. Hellenic Association of medical geneticists and university of Thessaloniki. 1st Balkan meeting on human genetics. Greece, 1994;91.
- Peterlin B., Kunej T., Zorn B. et al. Sterility associated with Y chromosome abnormalities. Cytogenet Cell Genet 1997;77:83.
- Petit C., Levillers J., Rouyer F. et al. Isolation of Sequences from Xp22.3 and deletion mapping using sex chromosomes rearrangements from human X-Y interchange sex reversal. Genomics 1990;6:651–658.
- Rothwell N.Y. Understanding genetics: sex chromosome anomalies in humans, 3rd edn. NY: Oxford university press, 1983;113–118.
- Shirley G., Tierney S., Ushaho J. The edinburgh study of growth and development of children with sex chromosome abnormalities. Birth Defects: Original article series., 1982;18:4:41–60.
- Vogel E., Motulsky A.G. Human Genetic. NY., Springer-Verlag, 1986.
- Vogt P. Y chromosome function in spermatogenesis. In: Spermatogenesis-Fertilization-Contraception. Molecular, cellular and endocrine events in male reproduction. Springer Verlag, NY, 1992;4:226–257.
- Vogt P.H., Edelman A., Kirsch S. et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. Hum Molec Genet 1996;5:7:933–943.
- S.Karger, Basel, 1995;5–115.
- Vorsanova S.G., Yurov Y.B., Soloviev I.V. et al. Molecular-cytogenetic diagnosis of chromosomal anomalies in genetic counseling. Cesko-Slovenska pediatrie 1997;7:538–544.

Статья поступила в редакцию 31.01.2013