



СПЕКТР МИКРОДЕЛЕЦИЙ Y ХРОМОСОМЫ, ВКЛЮЧАЯ ФАКТОР АЗООСПЕРМИИ (AZF) У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С НАРУШЕНИЯМИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ

¹Султанова Ш.Т., ²Фроянченко Г.А., ¹Далимова Г.А., ¹Алиева Д.А.

¹Республиканский Специализированный Научно практический Медицинский Центр
Эндокринологии им. академика Ё.Х Туракулова.

²Ташкентского Государственного стоматологического Института. Узбекистан

✓ Резюме

Введение. Проблема изучения микроделеций Y хромосомы, включая локус AZF у детей и подростков актуальна, однако в литературе соответствующих исследований крайне мало.

Цель исследования – изучить спектр микроделеций Y хромосомы, включая анализ структуры AZF-локуса и делеции гена SRY у мальчиков и подростков с осложненными формами крипторхизма (К).

Материалы и методы исследования. У 5 мальчиков и подростков проведено общеклиническое, общее и специальное андрологическое исследование, цитогенетическое, молекулярно-генетическое обследование (ПЦР), магнитно-резонансная томография

Результаты исследования. Высокая результативность (в 3-х из 5 случаев) выявления микроделеций Y хромосомы с делециями AZF локуса у представленных пациентов свидетельствует о необходимости продолжения исследований в данном направлении и рекомендации расширения показаний к тестированию на микроделеции AZF локуса Y хромосомы мальчиков и подростков с нарушением полового развития.

Выводы. Высокая результативность выявления микроделеций Y у представленных пациентов свидетельствует о необходимости продолжения исследований в данном направлении и рекомендации расширения показаний к тестированию на микроделеции AZF локуса Y хромосомы мальчиков и подростков с нарушением полового развития.

Ключевые слова: AZF-локус, Y хромосомы делеции, гипогонадизм, крипторхизм, фертильность.

Y-XROMOSOMALARNING MIKRODELECIYASINING SPEKTRI, SHU JUMLADAN BOLA VA O'SMIRLARDAGI AZOOSPERMIYA OMILLARI (AZF)

¹ Sultanova Sh.T., ²Froyantchenko G.A., ¹ Dalimova G.A. , ¹Alieva D.A.

¹O'zbekiston Respublikasi SSV Akad Y. Turakulov nomidagi. Respublika
ixtisoslashtirilgan ilmiy-amaliy Endokrinologiya" Markazi

²Toshkent Davlat Stomatologiya Institutini

✓ Rezyume

Kirish. Y xromosoma, jumladan, bolalar va o'smirlardagi AZFning mikrosodeliyalarini o'rganish muammosi dolzarbdir, ammo adabiyotda tegishli tadqiqotlar juda kam. Tadqiqotning maqsadi xromosomalarning mikrododeliyalarining spektrini, shu jumladan, inforchidizmning murakkab shakllari bo'lgan AZF -lokusning tuzilishi va o'g'il va o'spirinlardagi o'g'rilar singanligini tahlil qilish.

Material va metodlar. 5 o'g'il va o'smirlardagi materiallar va usullar umumiy klinik, umumiy va maxsus andrologik tadqiq, sitogenik, molekulyar tibbiy ko'rikdan o'tkazildi (PCR) magnit rezonansni tekshirish

Natijalar. Yuqori samaradorlik (5 holatdan 3tasi) AZF Lokusomalaridagi AZF Lokusesining mikrododeliyasini aniqlash ushbu yo'nalish bo'yicha tadqiqotlar va AZF Lokus Y-ning sinovini kengaytirish zarurligini bildiradi O'g'il bolalar va o'smirlarning jinsiy rivojlanish buzilishlari bilan xromosoma.

Hulosa. Taqdim etilgan bemorlarda Y-xromosomaning AZF lokusning mikroleciya moddalarni aniqlashning yuqori samaradorligi ushbu yo'nalish bo'yicha tadqiqotni davom ettirish zarurligini va jinsiy rivojlanishdagi o'g'il bolalar va o'spirinlarning xromosomalarining sinovlarini kengaytirish zarurligini bildiradi.

Kalit so'zlar: AZF-lokus, Y xromosoma, gipogonadizm, kriptorxizm

THE RANGE OF MICRO -DELICIA OF THE Y CHROMOSOMES, INCLUDING THE AZOOSPERMIA FACTOR (AZF) IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH SEXUAL DEVELOPMENT DISORDERS

¹ Sultanova Sh.T., ²Froyantchenko G.A., ¹ Dalimova G.A. , ¹Alieva D.A.

¹Republican Specialized Scientific and Practical Center for Endocrinology of the Republic of Uzbekistan named after Acad Y.Kh. Turakulov.,

²Tashkent State Dental Institute

✓ Resume

Introduction. The problem of studying the microdelias of Y chromosome, including AZF's locus in children and adolescents, is relevant, however, there are very few corresponding studies in the literature. The purpose of the study is to study the spectrum of microdelias of the chromosomes, including the analysis of the structure of the AZF -Lokus and deletion of the SRY gene in boys and adolescents with complicated forms of cryptorchidism (K). Materials and methods in 5 boys and adolescents conducted a general clinical, general and special andrological study, cytogenetic, molecular genetic examination (PCR), magnetic resonance imaging. The results. High effectiveness (in 3 out of 5 cases) detection of mikroleciya of Y chromosomes with AZF Lokus deeds in the presented patients indicates the need to continue research in this direction and recommendation to expand the testing of the AZF of the AZF Lokus Y chromosome of boys and adolescents with sexual developmental disorders. **Conclusions.** The high effectiveness of detection of mikroleciya in the presented patients indicates the need to continue research in this direction and recommendations for expanding the testimony of testing AZF Locus Y Chromosomes of boys and adolescents with puberty developmental development.

Key words: AZF-Lock, Y chromosome of deletion, hypogonadism, cryptorchidism, fertility.

Актуальность

Микроделеции Y хромосомы, затрагивающие локус ZF, выявляются с частотой от 5 до 15% среди мужчин с бесплодием и изменением показателей спермограмм с зависимостью между степенью нарушений сперматогенеза (от олиго до азооспермии) и локализацией делеций [4,5]. При этом исследования микроделеций Y большей частью сосредоточены на сравнении мужчин с идиопатическим бесплодием (без аномальных андрологических данных) с контролем из фертильных лиц или общей популяцией, поскольку считается, что влияние делеций AZF-локуса на мужской фенотип ограничены нарушением сперматогенеза. Между тем, анализ опыта крупных клинико-генетических исследований AZF делеций не дает такой однозначности в трактовке клинических проявлений. Наряду с исследованиями, не фиксирующими достоверных различий частоты микроделеций Y в группах мужчин с идиопатическим и неидиопатическим поражением яичек [1,4,6,7], есть данные о повышенной частоте нарушений полового развития (гипоплазия яичек, монархизм, гипогонадизм и варикоцеле) в группе

выявленных носителей делеций AZF [10]. Такие различия в оценке фенотипических корреляций легко объяснимы методиками отбора и обследования лиц для диагностики AZF локуса, но при этом те же авторы особо отмечают важность скрининга микроделеций Y при очевидных причинах повреждения яичек, чтобы избежать ненужного лечения.

Выявление микроделеций Y и хромосомных аномалий в AZF регионе у взрослых пациентов стало клинически важным показателем и успешно внедряется в практику вспомогательных репродуктивных технологий. Но приведенные выше исследования [5,6,7,10] позволяют считать, что анализ микроделеций Y может оказаться перспективным подходом в дифференциальной диагностике нарушений полового развития и среди детей и подростков. Учитывая гетерогенность этиологических факторов таких нарушений, определение роли микроделеций при нарушениях полового развития позволило бы сделать гормональную или хирургическую терапию у таких пациентов этиопатогенетически более обоснованной. Т.о проблема изучения микроделеций Y хромосомы, включая локус AZF у детей и подростков является актуальной, однако в литературе соответствующих исследований крайне мало.

По данным авторов из Кореи, микроделеции Y-хромосомы являются важной причиной идиопатической олиго- или азооспермии. Микроделеции в геномной ДНК наблюдались в 8 из 50 случаев, в 3 — с азооспермией, в 1 — с тяжелой олигоспермией и в 4 — с олигоспермией. Общая частота удаления составила 16,0% (8/50). Делеционные области были сосредоточены на AZFd и AZFc. Авторы сделали вывод, что во избежание передачи потомству микроделеций пациенты с идиопатической олиго- или азооспермией должны быть обследованы на наличие микроделеций Y-хромосомы перед лечением бесплодия [12]

Как отметили исследователи, выполнившие многострановое исследование в 2020 г (Финляндия, Аргентина, Турция), Крипторхизм связан с риском низкого качества спермы и повышенным риском опухолей зародышевых клеток яичка [13]. Они подчеркнули, что имеются данные, подтверждающие, что крипторхизм связан со снижением выработки гормонов яичка в более позднем возрасте. Было показано, что крипторхизм ухудшает долговременную функцию клеток Сертоли, но может также поражать клетки Лейдига. Гипогонадизм может быть причиной или следствием крипторхизма. Состояния, связанные со снижением уровня или действия андрогенов, могут проявляться односторонним или двусторонним крипторхизмом. С другой стороны, гипогонадизм может быть следствием крипторхизма. Несколько исследований показали, что крипторхизм, особенно двусторонний крипторхизм, связан со сниженным сперматогенезом и уровнем ингибина В и повышенным уровнем ФСГ во взрослом возрасте. . [13].

В некоторых исследованиях аналогичные гормональные изменения наблюдались во время мини-полового созревания и полового созревания. Несколько исследований показали снижение функции клеток Лейдига в период мини-пубертатного периода, по крайней мере, при более тяжелых формах крипторхизма. Необходимы дополнительные исследования связи между более поздней функцией яичек, особенно эндокринной функцией, и возрастом операции или типом крипторхизма. Более того, необходимы исследования, изучающие основные механизмы крипторхизма, которые вызывают снижение выработки гормонов яичка. Наконец, необходимы дополнительные исследования, изучающие предикторы гипогонадизма во взрослом возрасте и меры по снижению риска гипогонадизма. [13, 14].

Европейская ассоциация урологов и Европейское общество детских урологов опубликовали рекомендации по ведению не опустившихся яичек. Они рекомендовали гормональное лечение LH-RHa (Агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона) для сохранения потенциала фертильности мальчиков с двусторонним крипторхизмом [14]. По результатам рандомизированного контролируемого исследования (Литва, Швейцария), опубликованного в 2018 г, было установлено, что терапия LH-RHa корректирует нарушение мини-полового созревания у мальчиков с двусторонним крипторхизмом. Рекомендуются дальнейшие исследования. [15].

Вместе с тем, остается до конца неизученными многие вопросы как относительно прогноза бесплодия у подростков, так и ранней диагностики и лечения заболевания.

Все вышеуказанное послужило причиной для настоящего исследования.

Цель исследования - изучить спектр микроделений Y хромосомы, включая анализ структуры AZF-локуса и делеции гена SRY у мальчиков и подростков с осложненными формами крипторхизма (К).

Материал и методы

В исследование были включены дети и подростки мужского пола в возрасте от 11 мес до 18 лет, обследуемые по поводу гипогонадизма, у которых выявлялись осложненные случаи К: 2-х сторонняя абдоминальная форма, сочетание К с уменьшением объема тестикул, анорхизм, сочетание К с гипоспадией.

Всем больным проводилось общеклиническое исследование, включавшее:

1) Общеклинические, биохимические исследования - общий анализ крови, мочи, липидный спектр (триглицериды, ОХ, ЛПНП, ЛПВП), АЛТ, АСТ, билирубин

2) Гормональные методы исследования крови (СТГ, ИФР-1, ТТГ, пролактин, ЛГ, ФСГ, свободный тестостерон, свободный тироксин, пролактин, кортизол – в сыворотке крови, проводили в радиоиммунной лаборатории РСНПМЦ Эндокринологии МЗ Руз им. акад. Е.Х. Туракулова, используя наборы фирмы «IMMUNOTECH» Республика Чехия.), проведение проб с ХГ при необходимости для выявления вторичного гипогонадизма.

3) Антропометрические и генитометрические исследования (объем тестикул определяли с помощью орхидометра Прадера), половое развитие оценивали в соответствии с таблицами стадий полового созревания Tanner J. (1980) в модификации Д.М. Скородок, и Н.Савченко (1984) [8].

4) ЭКГ, УЗИ половых органов

5) Рентгенологические методы исследования:

-Рентгенограмма кисти с определением зон роста и костного возраста

-КТ или МРТ турецкого седла – с целью исключения объемных образований гипоталамо-гипофизарной области.

-МРТ абдоминальной области для локализации абдоминальных форм крипторхизма и дифференциального диагноза анорхизма или монорхизма.

6) Цитогенетическое исследование проводилось по стандартной методике с культивированием периферической крови (0,5 мл) в течение 72 часов и анализом G-бэндинга метафазных хромосом. Молекулярно-генетический анализ для выявления AZF делеций Y хромосомы проводился исследованием следующих STS-маркеров: AZFa: sY86, sY84, sY615; AZFb: sY127, sY134, sY142; AZFc: sY242, sY254, sY255, sY1197, sY1206, sY1125, sY1291, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени коммерческим набором ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия).

Полученные данные были обработаны с использованием компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica_6. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Средние значения (М) были рассчитаны, стандартные отклонения среды (м)

Результат и обсуждение

Основные клиничко-лабораторные данные пациентов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клинический и статус пациентов

Показатель	М±SD (min-max)
Число пациентов	5
Пол (муж/жен)	5/нет
Изолированный дефицит СТГ/МДГА	нет/ да (ЛГ, ФСГ)
Паспортный возраст, годы	9,9±0,7 лет (11 мес-18,0)
Костный возраст, годы	6,7±0,5 (10-15 лет)
КВ/ПВ	1, 5 ±0,4
Рост, см	151,0 ±7,8 (от 80 см до 172 см)
Вес, кг	35,0 ±6,3 (от 10 кг до 62 кг)
SDS роста	2,4±0,6 (от -1,7 до +3,0).

Примечание: СТГ- соматотропный гормон, МДГА – множественный дефицит гормонов аденогипофиза

Как видно из таблицы 1, имелось достоверное отставание костного возраста у обследованных пациентов. При этом, у пациентов было обнаружено нормальные уровни СТГ на фоне достоверно низких концентраций ЛГ, ФСГ ($p < 0,05$).

В таблице 2 дано распределение больных по 5 стадиям пубертата Дж. Таннера

Таблица 2.

Распределение больных по 5 стадиям пубертата Дж. Таннера.

Стадии Пубертата по Таннеру	Возраст, лет, по стадиям пубертата по Таннеру	Всего n= 5
I	препубертат	5
II	$11,7 \pm 1,3$ лет	-
III	$13,2 \pm 0,8$ лет	-
IV	$14,7 \pm 1,1$ лет	-
V	$15,5 \pm 0,7$ лет	-
Всего – 5		

Как видно из таблицы 2, у всех 5 пациентов была выявлена 1 стадия пубертата по Таннеру, хотя у 3х пациентов средний возраст достигал 18 лет.

Среди 5 обследованных пациентов с осложненными формами К, в двух случаях цитогенетическим и молекулярно-генетическим исследованием аномалий Y хромосомы выявить не удалось, но у трех пациентов анализ оказался информативным (таблица 3).

Цитогенетические изменения Y хромосомы установлены в 2 наблюдениях:

- в кариотипе пациента А. установлен мозаицизм с присутствием 45,X клеточного клона (40%) и клона клеток с терминальной делецией Y хромосомы 46X,del (Y)(qter);
- у пациента С. Выявлен вариант полиморфизма Y хромосомы – кариотип 46, XY qh+.

Молекулярно-генетический анализ выявил микроделеции локуса AZF Y хромосомы у 3-х пациентов:

- делеции маркеров всех регионов локуса AZF (del AZFa+b+c) у пациента А с цитогенетически идентифицируемой делецией Y хромосомы;
- делеции отдельных маркеров a, b и c регионов AZF локуса у пациента с полиморфизмом хромосомы Y (Y qh+) (табл.1);
- делецию региона AZFc – sY1291 у пациента III. с нормальным кариотипом 46 XY.

Все эти нарушения представлены в таблице 3.

Таблица 3

Клинические данные пациентов, обследованных с анализом микроделений Y хромосомы, включая анализ структуры AZF-локуса и делеции гена SRY у мальчиков и подростков с осложненными формами крипторхизма

№	Пациент, клинический статус	Диагноз	кариоти п	Делеция Y	Делетированный маркер	Гормональное исследование		
						Тестостерон (п 0-38 нмоль/л)	ФСГ (п 9.0-30.0 мМе/мл)	ЛГ- (п 1.7-8.6 мМе/мл)
1	А., 4г. 11 мес SDS роста – 1.7 V testes 2 ml penis 2 sm G1	2-х ст К, Состояние после орхиопексии Гипоплазия тестикул, Гипоспадия	45,X, (40%) 46X,del (Y)(qter).	AZFa AZFb AZFc	sY86, sY84, sY615, sY127, sY134, sY142 sY1197, sY254 sY255, sY1291s sY1125, sY1206 sY242 (del AZF a–c)	0.51	0.63	0.45
2	Ш., 11 лет 6 мес SDS роста + 1.0 V testes -abs penis 3 sm G1	2-х ст К, Гипоплазия обоих тестикул	46 XY	AZFc	sY1291	0.7	0.71	0.96
3	Р., 18 лет р 8,0 sm V testes -2 G1	Состояние после 2-х ст К. Гипопл-я обоих тестикул	46 XY	отсутствует		0.60	0,47	0,66
4	С., 18 лет р – 8 sm V testes -3 G1	Гипогонадотропный гипогонадизм Гипоплазия тестикул	46,XY qh+	AZFa AZFb AZFc	sY86 sY134 sY1197	0,087	0,38	0,4
5	М. 1.5 года SDS роста +0.1 testes -abs , penis 3 sm G1	2-х ст К, анорхизм (?)	46 XY	отсутствует		0.31	0.43	0.52

Заключение

В настоящее время продолжается интенсивное изучение хромосомных аномалий, в том числе аномалий Y хромосомы, микроделений, делеций AZF локуса Y в этиологии мужского бесплодия и гипогонадизма [1,3,5,10,11].. В то же время, по ряду объективных причин, роль этих состояний в генезе нарушений полового развития у детей и подростков не определена и требует проведения активных исследований. Настоящая работа представляет собой анализ случаев нарушения полового развития у мальчиков и подростков, наблюдаемых по поводу осложненных форм крипторхизма, проведенный с использованием цитогенетических и молекулярно-генетических методов. Результаты клинико-генетического исследования у пациентов оказались высокоинформативными и позволили установить в 3-х из 5 случаев присутствие у пациентов различных микроделений Y хромосомы с делециями AZF локуса.

Таким образом, определение микроделений может оказаться перспективным подходом в дифференциальной диагностике, что позволит этиопатогенетически назначать гормональную или хирургическую терапию у пациентов с нарушениями полового развития.



Выводы: Высокая результативность выявления микроделений Y у представленных пациентов свидетельствует о необходимости продолжения исследований в данном направлении и рекомендации расширения показаний к тестированию на микроделеции AZF локуса Y хромосомы мальчиков и подростков с нарушением полового развития.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Зобкова Г.Ю., Баранова Е.Е., Донников А.Е. и др. Спектр делеций фактора азооспермии (AZF) у мужчин с нормальным и нарушенным сперматогенезом // Проблемы репродукции. -2017.- № 4. С.109-113.
2. Немцова М.В. Данцев И.С., Михайленко Д.С., Лоран О.Б. Генетические аспекты синдрома тестикулярной дисгенезии и составляющих его состояний // Онкоурология.-2018.- №3.- Т.14. С.92-104.
3. Окулов А.Б., Мираков К.К., Володько Е.А. и др. Крипторхизм – ретроспектива и вопросы настоящего времени. // Детская хирургия. - 2017. -Т. 21.- № 4. -С. 202-206.
4. Тавокина Л.В. Мужское бесплодие. Генетические бесплодие //Почки. -2014. -№2 (8) www.mif-ua.com. С.9-13.
5. Тулеева Л.М., Аралбаева А.Н. Роль делеций гена AZF в развитии мужского бесплодия //MEDICINE. -2015. № 7. С.42-45
6. Черных В.Б., Курило Л.Ф., Шилейко Л.В. и др . Анализ микроделений в локусе AZF у мужчин с бесплодием: совместный опыт исследований // Медицинская генетика. -2003. – Т.2. №8.-С. 367-379.
7. Черных В.Б. AZF делеции — частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований // Проблемы репродукции. – 2009. - №1. – С.10-14.
8. Шабалов Н.П. Диагностика и лечение эндокринных заболеваний у детей и подростков. Москва 2017. 408 с
9. Attalla K., Arnone E., Williot P., Greenfield S. Cryptorchidism: experience and reason // Can J Urol.- 2017 – Vol.24(4). – P8941-8945.
10. Giachini C., Nuti F., Marinari E., Forti G., Krausz C. Partial AZFc deletions in infertile men with cryptorchidism // Hum Reprod. 2007 Sep;22(9): P. 2398-403
11. Kang Z., Qiao N., Tan Z., Tang Z., Li Y. Expression patterns and changes of the LCN2 gene in the testes of induced cryptorchidism and busulfan-treated mice // Syst BiolReprod Med. - 2017; 63(6) P.364-369.
12. Guimei Yao, Guian Chen Tianming Pan Study of Microdeletions in the Y Chromosome of Infertile Men with Idiopathic Oligo- or Azoospermia // Journal of Assisted Reproduction and Genetics volume 18, pages612–616 (2001)
13. Wiwat Rodprasert, Helena E. Virtanen, Juho-Antti Mäkelä, and Jorma Toppari. Hypogonadism and Cryptorchidism // Front Endocrinol (Lausanne). 2019; 10: 906. Published online 2020 Jan 15. Doi: 10.3389/fendo.2019.00906
14. Radmayr C., Dogan H.S., Hoebeke P. et al. Management of undescended testes: European association of urology /European society for paediatric urology guidelines. // Journal of Pediatric Urology. 2016;12(6):335–343. doi: 10.1016/j.jpuro.2016.07.014.
15. Beata Vincel, Gilvydas Verkauskas, Vytautas Bilius, Darius Dasevicius, Dalius Malcius, et al. Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Corrects Defective Mini-Puberty in Boys with Cryptorchidism: A Prospective Randomized Study // Biomed Res Int. 2018; 2018: 4651218. Published online 2018 Jul 3. doi: 10.1155/2018/4651218

Поступила 09.09.2022