

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

Мардоми Ф.Д. Email: Mardomi697@scientifictext.ru

*Мардоми Фарид Давоуд – докторант,
кафедра генетики и эволюционного учения,
Бакинский государственный университет,
г. Баку, Азербайджанская Республика*

Аннотация: *идиопатическое мужское бесплодие может быть вызвано генетическими и эпигенетическими аномалиями. Такие аномалии часто связаны со структурными и числовыми хромосомными нарушениями, микроделециями Y-хромосомы. Во многих случаях мутация генов, участвующих в сперматогенезе или развитии мужской репродуктивной системы, например CFTR, связана с мужским бесплодием. Исследования последних десятилетий подчеркивают важную роль эпигенетических механизмов (метилирование ДНК, ковалентные модификации гистонов и их замена протаминами) для оплодотворения и раннего эмбриогенеза. Целостность ДНК также важна для раннего эмбриогенеза. Несмотря на успех искусственных репродуктивных технологий для оценки риска наследственных заболеваний, необходимы эффективная диагностика и дальнейшие исследования в области мужского бесплодия.*

Ключевые слова: *сперматогенез, гены, хромосомные аномалии, мужское бесплодие, делеции, азооспермия фактор.*

SOME ASPECTS OF GENETIC FACTORS OF MALE INFERTILITY Mardomi F.D.

*Mardomi Farid Davoud - doctoral Student,
DEPARTMENT OF GENETICS AND EVOLUTIONARY DOCTRINE,
BAKU STATE UNIVERSITY,
BAKU, REPUBLIC OF AZERBAIJAN*

Abstract: *idiopathic male infertility can be caused by genetic and epigenetic abnormalities. Such abnormalities are often associated with structural and numerical chromosome disorders, Y-chromosome microdeletions. In many cases mutation of genes taking part in spermatogenesis or development of male reproduction system, like CFTR, is related to male infertility. Studies of last decades are highlighting the important role of epigenetic mechanisms (DNA methylation, covalent histone modifications and its replacement by protamines) for fertilization and early embryogenesis. DNA integrity is also significant for early embryogenesis. In spite of success of artificial reproductive technologies for estimation of risk of inherited disorders, efficient diagnosis and further investigations in the area of male infertility are needed.*

Keywords: *spermatogenesis, genes, chromosomal abnormalities, male infertility, deletions, azoospermia factor.*

УДК-577-29

Введение. По определению Всемирной организации здравоохранения бесплодным называется брак, в котором отсутствует беременность в течение 12 месяцев половой жизни без предохранения [2, с. 27-28]. Согласно этой классификации, бесплодием страдает около 15% супружеских пар, при этом в 45–50% случаев бесплодие обусловлено нарушениями сперматогенеза.

В последние десятилетия достигнут значительный прогресс в понимании причин мужского бесплодия и генетических механизмов сперматогенеза. Разработка новых молекулярно-цитогенетических методов анализа сперматогенеза позволяет выявить специфические особенности каждого этапа сперматогенеза и указать на процессы, характерные для всего организма или затрагивающие только генеративные ткани. Исследования последних лет указывают на повышение уровня генетических нарушений в сперматозоидах у пациентов с различными формами нарушения репродуктивной функции [4, с. 535-539].

Современные вспомогательные репродуктивные технологии, позволяющие преодолевать бесплодие, не способны предотвратить участие генетически аномальных гамет в оплодотворении, что может привести к рождению детей с различными патологиями. Поэтому анализ генетических причин и последствий мужского бесплодия необходим для выбора оптимальной и действенной тактики лечения и имеет важное прогностическое значение.

Клиническая оценка сперматогенеза

В медицинской практике для диагностики нарушений сперматогенеза и оценки мужской фертильности используют анализ тканей яичка и эякулят. Обычно биопсия яичка применяется при азооспермии, т. е. отсутствии сперматозоидов в эякуляте. Гистологическое исследование тканей яичка

дает возможность изучать половые клетки на всех стадиях сперматогенеза и определять степень патологического процесса или дегенеративных изменений, способность герминативного эпителия к регенерации, выявить стадию сперматогенеза, на которой происходит блокирование, а также судить о состоянии межтубочной ткани, характеризующей эндокринную деятельность яичек [3, с. 213-220].

Однако следует учитывать, что биопсия яичка — болезненная процедура и может сопровождаться осложнениями. Полностью избежать хирургических вмешательств можно, используя для диагностики различных нарушений сперматогенеза и спермиогенеза образцы эякулята. Наиболее часто в медицинской практике суждения о нарушениях функционирования половых желез и мужской фертильности составляют на основе спермограммы, включающей макроскопические, микроскопические, биохимические и иммунологические исследования эякулята. В настоящее время в клинической практике для оценки эякулята приняты нормы ВОЗ [2, с. 27-28]. Макроскопическое исследование включает в себя определение объема, вязкости, запаха, цвета и pH эякулята. Для современной андрологии наибольшее значение имеют микроскопические исследования, дающие информацию о количестве, подвижности, морфологии спермиев, а также о наличии в эякуляте клеточных и неклеточных элементов.

Характерные признаки нормального сперматозоида следующие: акросома занимает 40–60% головки, отсутствие дефектов шейки и хвоста, овальная головка длиной 4–6 мкм и шириной 2–4 мкм, цитоплазматическая капля не должна превышать по размеру головку. В отличие от большинства млекопитающих, у человека регистрируется наибольший процент морфологически аномальных спермиев. Для нормальных сперматозоидов характерно прогрессивно-поступательное движение со спиральным вращением вокруг своей оси. Отсутствие подвижности сперматозоидов (астенозооспермия) может быть вызвано нарушениями аксонемы и микротрубочек. Существенной характеристикой является соотношение количества сперматозоидов к объему эякулята. Этот критерий зависит от плотности расположения половых клеток, а также количества клеток Сертоли и степени развития эндоплазматического ретикулума клеток Лейдига. Повышенная концентрация сперматозоидов, по-видимому, не является патологическим состоянием, так как не снижает оплодотворяющую способность спермиев. Значительное снижение концентрации сперматозоидов в эякуляте (олигозооспермия) приводит к бесплодию.

Макроскопические и микроскопические характеристики эякулята у конкретного индивидуума могут варьировать. Концентрация и подвижность сперматозоидов зависят не только от периода воздержания и количества дегенерирующих клеток, но и от времени года, возраста мужчины и даже от времени суток. Возможно, что эти параметры спермограммы, в отличие от доли морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте, подвержены также влиянию этногеографических факторов и образа жизни мужчины.

Следует отметить существование взаимосвязи между основными параметрами спермограммы. Так, для сперматозоидов с нормальной морфологией характерна большая подвижность, чем для сперматозоидов с нарушением морфологии. Кроме того, нарушения сперматогенеза, приводящие к изменению морфологии, подвижности и концентрации сперматозоидов в эякуляте, редко встречаются в чистом виде [3, с. 213-220].

Несомненно, что три основных параметра спермограммы (концентрация, доля подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов) представляются важными для оценки сперматогенеза, однако их количественное выражение не является строгим диагностическим критерием бесплодия, и пациенты с аномальными параметрами спермограммы могут иметь детей без использования техник вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Поэтому для более детального анализа качества сперматозоидов используются так называемые функциональные тесты, оценивающие оплодотворяющую способность сперматозоидов.

На первом этапе происходит взаимодействие сперматозоида с цервикальной слизью. На этом основан посткоитальный тест, заключающийся в определении количества и подвижности сперматозоидов в цервикальной слизи спустя некоторое время после совершения полового акта. На практике для облегчения процедуры используется аналог цервикальной слизи — гиалуроновый полимер. Показано, что вероятность проникновения сперматозоида через этот полимер коррелирует со способностью к слиянию с яйцеклеткой [5, с. 44-54]. При попадании в полость матки начинается процесс капацитации, комплекс физиологических и биохимических преобразований, одним из которых является гиперактивация — изменение характера подвижности сперматозоида, что можно регистрировать с помощью программ компьютерного анализа изображений. На следующем этапе происходит связывание сперматозоида с блестящей оболочкой ооцита и инициация акросомной реакции — слияние внешней и внутренней мембран акросомы с выделением протеолитических ферментов.

Метод гетерологичного оплодотворения ооцитов хомячка сперматозоидами человека, предложенный E. Rudak, основан на способности сперматозоидов оплодотворять ооциты золотистого хомячка, лишенные блестящей оболочки, и позволяет оценить способность сперматозоида активировать ооцит и сформировать мужской пронуклеус. На практике в центрах репродукции чаще используется

внутрицитоплазматическая инъекция сперматозоидов в ооциты мыши, более доступные и устойчивые к механическому воздействию.

Следует отметить, что морфофункциональная оценка сперматозоидов — зрелых половых клеток, позволяет лишь косвенным образом судить о состоянии сперматогенеза. В этой связи перспективным является изучение эякулированных клеток сперматогенного ряда, находящихся на разных стадиях развития. Их доля в эякуляте составляет до 5% у здоровых мужчин и более 40% у пациентов с олигоспермией. Хромосомный материал некоторых из них может быть объектом цитогенетического анализа. Так, среди пациентов с нарушением фертильности этим методом выявляются аномалии фигур мейоза: аномальное спаривание хромосом, количество и распределение хиазм [13, с. 315-319].

Генетический контроль сперматогенеза

По оценкам некоторых исследователей, в сперматогенез вовлечены более 2000 генов, контролирующих процессы пролиферации гоноцитов и сперматогониев, мейотического деления и спермиогенеза.

Среди генов, специфически участвующих в сперматогенезе, выделяют несколько основных групп. К первой группе можно отнести гены, участвующие в развитии мужской репродуктивной системы и половой дифференцировке. Примером могут служить гены SRY, SOX9, WT1 и другие, обеспечивающие дифференцировку гонады по мужскому типу. Так, клиническая картина синдрома де ля Шапелля (кариотип 46,XX при мужском фенотипе) включает изменение наружных половых органов и отсутствие сперматогенеза. Большинство таких пациентов имеют в кариотипе транслоцированный фрагмент хромосомы Y, содержащий ген SRY [7, с. 745-752].

Около 10% случаев мужского бесплодия вызвано обструкцией семявыносящих путей. Эту патологию, вызванную аномалиями развития Вольфового протока, чаще всего связывают с нарушением трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза (CFTR — cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Мутации этого гена не влияют на процессы в самом яичке, и сперматогенез у таких пациентов практически не нарушен [11, с. 89-93].

Во вторую группу включают гены, обеспечивающие эндокринную регуляцию. Развитие и деятельность яичек находятся непосредственно под контролем центральной нервной системы, гипоталамуса и гипофиза, который осуществляется как через секрецию гормонов, так и нейрогенным путем. Причиной угнетения сперматогенеза и мужского бесплодия может быть нарушение секреции или действия гормонов.

Гипогонадотропный гипогонадизм — гетерогенное заболевание, вызванное поражением гипоталамуса, что приводит к значительному уменьшению (или отсутствию) секреции гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) и сопровождается нарушением развития репродуктивной сферы. В 20% случаев снижение уровня секреции ГнРГ вызвано синдромом Кальмана и связано с нарушением гена KALIG-1, локализованного в коротком плече X-хромосомы (Xp22.3). Примером нарушения активности ГнРГ может быть синдром Прадера–Вилли — болезнь геномного импринтинга, вызванная отсутствием отцовского локуса на хромосоме 15 (15q11-q13), который помимо ожирения и умственной отсталости, сопровождается аномалиями половых органов и бесплодием.

Функцию регуляции сперматогенеза осуществляют также клетки Сертоли и клетки Лейдига, имеющие рецепторы к фолликулостимулирующему (ФСГ) и лютеинизирующему гормону (ЛГ), поэтому снижение мужской фертильности также может быть связано со снижением активности или секреции ФСГ и ЛГ, или мутациями, нарушающими работу их рецепторов. Секретируемый клетками Лейдига основной андроген — тестостерон, последний в каскаде гормонов, регулирующих сперматогенез, обеспечивает дифференцировку сперматогониев и сперматоцитов, а также спермиогенез [3, с.213-220]. Последовательная трансформация холестерина в тестостерон происходит под влиянием пяти различных ферментных систем и нарушения на любом этапе приводят к андрогенной недостаточности, половой дисфункции и бесплодию.

Еще одной причиной мужского бесплодия может быть функциональное состояние рецептора к андрогену, ген которого содержит тринуклеотидные повторы [CAG], кодирующие глутамин. Увеличение количества повторов более 40 приводит к снижению активности этого рецептора и является причиной спинально-бульбарной мышечной атрофии (болезнь Кеннеди), которая помимо атрофии яичек и снижения качества эякулята сопровождается мышечной слабостью и мышечными атрофиями [10, с. 3777-3782].

Третью группу составляют гены, вовлеченные в процесс сперматогенеза и спермиогенеза. Здесь особого внимания заслуживают гены, локализованные в локусах AZF (azoospermia factor) в длинном плече Y-хромосомы (Yq). Выделяют три основных локуса: AZFa, AZFb и AZFc, делеции в которых обнаруживаются у пациентов с нарушением фертильности, по разным оценкам, в 1–50 %. Делеции в локусе AZFa, как правило, приводят к полному отсутствию сперматогониев и в сперматогенной ткани присутствуют только клетки Сертоли. В локусе AZFb основная роль отводится семейству генов RBMY, входящему в состав мультигенного семейства, имеющего РНК-связывающий домен. Некоторые гены

этого семейства являются псевдогенами и локализируются не только в Y-, но и в X-хромосоме. Однако только ген RBMY, локализованный в локусе AZFb, экспрессирует белок, который, вероятно, является специфическим регулятором сплайсинга в сперматогенных клетках. Делеции гена RBMY связаны с блокированием сперматогенеза на стадии мейоза [8, с. 183-198].

У пациентов с делецией в локусе AZFc наблюдается широкое варьирование клинического проявления: от олигоспермии до полного отсутствия сперматогенных клеток, причем у таких пациентов степень регрессии сперматогенного эпителия с возрастом увеличивается. В локусе AZFc локализован также ген DAZ (deleted in azoospermia), содержащий РНК-связывающий домен, что указывает на участие генов этого семейства в трансляции мРНК и, по-видимому, в дифференцировке сперматогенных клеток и мейотическом делении. Делеция DAZ может приводить к блокированию сперматогенеза на стадии пахитены. Установлено присутствие белков DAZ и в поздних сперматидеях и в хвосте сперматозоидов, что подтверждает участие этого белка в хранении и транспорте специфичной мРНК, трансляция которой репрессирована до образования зрелых сперматозоидов [1, с. 15-20].

Гены, обеспечивающие мейотическое деление, необходимо выделить в отдельную группу. Мейоз обеспечивает два основных процесса: редукцию числа хромосом и рекомбинацию генетического материала. Однако механизмы, лежащие в основе выбора сперматоцита для вступления в мейоз, до сих пор остаются слабо изученными. На сегодняшний день предлагается несколько генов — кандидатов на роль основного медиатора вступления сперматоцита в мейоз, однако единого мнения пока не существует.

Точность спаривания хромосом и формирование бивалентов, образование синаптонемного комплекса, инициация рекомбинации, контроль распределения хиазм и сегрегации хромосом, а также поддержания сестринского хроматидного сцепления необходимы для обеспечения мейотического деления. Анализ генетических аномалий мейоза на молекулярном и цитогенетическом уровне включает: выявление генов, участвующих в мейотическом делении, и визуализацию особенностей фигур мейоза. Следует отметить существование систем контроля.

Первый этап мейотического контроля, связанный со спариванием хромосом и нормальным образованием бивалентов, осуществляется на стадии зиготены. Клетки со значительными дефектами спаривания у обоих полов, по-видимому, подвергаются гибели, снижая таким образом концентрацию сперматозоидов в эякуляте. У человека для конъюгации (спаривания) хромосом необходимы двунитевые разрывы. В мониторинге и репарации этих разрывов участвует ген ATM (ген атаксии-телеангиэктазии), мутации которого приводят к остановке сперматогенеза на стадии пахитены при значительном фрагментировании хромосом [12, с. 2411-2422].

При переходе от метафазы к анафазе осуществляется контроль за прикреплением нитей веретена деления к биваленту. Этот тип контроля свойствен только мужскому гаметогенезу. Почти во всех женских половых системах наблюдается отсутствие способов проверки моноориентированных хромосом, что может быть причиной высокой частоты числовых аномалий в ооцитах по сравнению со сперматозоидами [9, с. 1495-1504].

Однако на действие контрольных механизмов сперматогенеза может накладываться ограничение существования цитоплазматических связей между сперматоцитами одной генерации. С одной стороны, эти связи могут способствовать выживанию аномального сперматоцита. С другой, распространение токсических агентов апоптотических клеток будет способствовать массовой гибели нормальных сперматоцитов, что приводит к снижению фертильности.

И наконец, можно выделить группу генов, обеспечивающих нормальное функционирование сперматозоидов и оплодотворение. Так, аномалии микротрубочек, динеиновых ручек и моторного аппарата ресничек приводят к патологии дыхательных путей (носа, носовых пазух, бронхов). У таких пациентов отмечается снижение фертильности вследствие нарушения подвижности сперматозоидов (астенозооспермия). Аналогичная картина наблюдается при синдроме неподвижности ресничек. Мутации гена фертилина (fertilin b) приводят к нарушениям связывания сперматозоида с вителиновой мембраной ооцита и невозможности оплодотворения.

В эту же группу можно отнести мутации митохондриальной ДНК (мтДНК). Мутации в любом из генов, участвующих в синтезе АТФ, могут существенно повлиять на подвижность сперматозоидов. На данный момент известно несколько мутаций и делеций мтДНК, приводящих к бесплодию у мужчин.

Заключение

Таким образом, проблема мужского бесплодия напрямую связана с общебиологической проблемой механизмов, контролирующей точность и надежность передачи генетической информации в поколениях, обеспечивая наследственность и изменчивость. Эта задача тем более актуальна, т. к. в последние десятилетия отмечается снижение качества эякулята у здоровых мужчин. Бурное развитие экспериментальной эмбриологии и генетики позволяет преодолевать многие причины мужского и женского бесплодия с использованием методов вспомогательной репродуктивной технологии. Однако

это требует тщательного изучения ближайших и отдаленных последствий искусственного вмешательства в репродуктивную сферу и разработки путей минимизации нежелательных последствий.

Список литературы / References

1. Гоголевская И.К. Y-хромосома и мужское бесплодие / Гоголевская И.К., Гоголевский П.А. // Проблемы репродукции, 1999. № 5. С. 15–20.
2. Руководство ВОЗ по стандартному обследованию и диагностике супружеских пар. М.: МедПресс, 1997. 91 с.
3. Тиктинский О.Л. Андрология / Тиктинский О.Л., Михайличенко В.В. СПб.: Медиа Пресс, 1999. 464 с.
4. A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate and severe oligospermia / Martin R.H., Rademaker A.W., Greene C. [et al.] // Biol. Reprod., 2003. Vol. 69. P. 535–539.
5. Aitken R.J. Sperm penetration into a hyaluronic acid polymer as a means of monitoring functional competence / Aitken R.J., Bowie H., Buckingham D. [et al.] // J. Androl., 1992. Vol. 13. № 1. P. 44–54.
6. Cagnacci A. Diurnal variation of semen quality in human males / Cagnacci A., Maxia N., Volpe A. // Hum. Reprod., 1999. Vol. 14. № 1. P. 106–109.
7. Clinical, endocrinological, and cytological characterization of two 46,XX males / Schweikert H.U., Weissbach L., Leyendecker G. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab., 1982. Vol. 54. P. 745–752.
8. Huynh T. Selected genetic factors associated with male infertility / Huynh T., Mollard R., Trounson A. // Hum. Reprod. Update, 2002. Vol. 8. № 2. P. 183–198.
9. Koehler K.E. Recombination and nondisjunction in humans and flies / Koehler K. E., Hawley R. S., Sherman S., Hassold T.J. // Hum. Mol. Genet., 1996. Vol. 5. P. 1495–1504.
10. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility / Tut T. G., Ghadessy F.J., Trifiro M.A. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab., 1997. Vol. 82. № 11. P. 3777–3782.
11. Silber S.J. Quantitative evaluation of spermatogenesis by testicula histology in man with congenital absence of the vas deferens undergoing epididymal sperm aspiration / Silber S. J., Partizio P., Asch R. H. // Hum. Reprod., 1990. Vol. 5. P. 89–93.
12. Targeted disruption of ATM leads to growth retardation, chromosomal fragmentation during meiosis, immune defects, and thymic lymphoma / Xu Y., Ashley T., Brainerd E. E. [et al.] // Genes Dev., 1996. Vol. 10. № 19. P. 2411–2422.
13. Templado C. Meiotic studies in human semen. Report of 180 cases / Templado C., Marina S., Coli M. D., Egozcue J. // Hum. Genet., 1980. Vol. 53. P. 315–319.