

Azoospermie při nálezu rozsáhlé přestavby Y chromozomu – isochromozomu i(Y)(p10)

Azoospermia with the finding of an extensive rearrangement of the Y chromosome – isochromosome i (Y)(p10)

Marek Broul^{1,2,3}, Lucie Lišková⁴, Petra Kučerová^{1,7}, Kamila Žižková^{1,8}, Jana Laštůvková⁴, Vlasta Čejnová⁴, Vjačeslav Harmaš⁴, Filip Cihlár^{3,5}, Lucie Radovnická⁶, Aneta Hujová³

¹Sexuologické oddělení, Krajská zdravotní, a. s., Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

²Urologické oddělení, Krajská zdravotní, a. s., Nemocnice Litoměřice, o. z.

³Fakulta zdravotnických studií, Univerzita Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem

⁴Oddělení lékařské genetiky, Krajská zdravotní, a. s., Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

⁵Radiologická klinika Fakulty zdravotnických studií Univerzity J. E. Purkyně v Ústí nad Labem a Krajské zdravotní, a. s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

⁶Interní oddělení Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, Krajská zdravotní, a. s.

⁷Klinika urologie a robotické chirurgie Fakulty zdravotnických studií Univerzity J. E. Purkyně v Ústí nad Labem a Krajské zdravotní, a. s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

⁸Gynekologické oddělení, Krajská zdravotní, a. s., Nemocnice Chomutov, o. z.

Došlo: 29. 11. 2023

Přijato: 20. 12. 2023

Kontaktní adresa:

MUDr. Marek Broul, Ph.D., MBA, FECSM

Sexuologické oddělení, Krajská zdravotní, a. s. –

Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

Sociální péče 3316/12 A, 400 01 Ústí nad Labem

e-mail: marek.broul@kzcr.eu

Střet zájmů: Žádný.

Prohlášení o podpoře: Jedná se o nezávislý článek, který nebyl podpořen žádným grantem ani firmou.

ABSTRAKT

Broul M, Lišková L, Kučerová P, Žižková K, Laštůvková J, Čejnová V, Harmaš V, Cihlár F, Radovnická L,

Hujová A. Azoospermie při nálezu rozsáhlé přestavby Y chromozomu – isochromozomu i(Y)(p10).

V článku uvádíme kazuistiku mladého muže, který byl vyšetřován pro neplodnost. Spermio-gram prokázal azoospermii. Teprve komplexní sexuologické, urologické a genetické vyšetření objevilo příčinu neplodnosti páru, a to strukturní aberaci chromozomu Y – isochromozom i(Y)(p10), duplikace krátkých ramének chromozomu Y a delece celého dlouhého raménka Y (tudíž i celé oblasti AZF genu). Tento nález koreloval s klinickým nálezem azoospermie. Isochromozom Yp (ORPHA:98797) je vzácná gonozomální aberace charakterizovaná variabilními klinickými projevy zahrnujícími: normální zdravé fertilní muže, muže s infertilitou a muže s obojetnými genitáliemi a inkompletní maskulinizací. Po zjištění této chromozomální aberace se pár rozhodl pro asistovanou reprodukci s využitím spermií dárce.

KLÍČOVÁ SLOVA

Neplodnost, genetické vyšetření, spermioqram, syndrom prázdné selly, aberace chromozomu Y, isochromozom i(Y)(p10).

ABSTRACT

Broul M, Lišková L, Kučerová P, Žižková K, Laštůvková J, Čejnová V, Harmaš V, Cihlář F, Radovnická L, Hujová A. Azoospermia with the finding of an extensive rearrangement of the Y chromosome – isochromosome i (Y) (p10).

In the article we present a case report of a young man who was undergoing investigation for infertility. Spermogram results showed azoospermia. Only a complex sexological, urological and genetic examination found the cause of the couple's infertility, namely a structural aberration of the Y chromosome - isochromosome i(Y)(p10), duplication of the short arm of the Y chromosome and deletion of the entire long arm of the Y chromosome (hence the entire AZF gene region). This finding correlated with the clinical findings of azoospermia. Isochromosome Yp (ORPHA:98797) is a rare gonosomal aberration characterised by variable clinical manifestations including: normal healthy fertile men, men with infertility and men with ambiguous genitalia and incomplete masculinisation. After the discovery of this chromosomal aberration, the couple decided to undergo assisted reproduction using donor sperm.

KEY WORDS

Infertility, genetic evaluation, spermioqram, empty sella syndrome, Y chromosome aberration, isochromosome i(Y)(p10).

.....

ÚVOD

Uvádíme kazuistiku třicetiletého muže, který byl vyšetřen na našem oddělení pro neplodnost v manželství. S manželkou mají asi rok pravidelné nechráněné pohlavní styky, ale k otěhotnění nikdy nedošlo. Manželka je zdravá, chodí na pravidelné

gynekologické prohlídky, žádná patologie u ní zjištěna nebyla. Její gynekolog doporučuje provést spermioqram partnera. Spermioqram prokázal azoospermii, která byla následně dovyšetřena. Teprve komplexní sexuologické, urologické a genetické vyšetření objevilo příčinu neplodnosti páru.

VLASTNÍ KAZUISTIKA

K prvnímu vyšetření se pacient dostavil v prosinci roku 2022. Byl kompletně vyšetřen včetně ultrazvukového vyšetření. V jeho osobní anamnéze je pouze psoriáza, pacient je v péči gastroenterologa pro ulcerózní kolitidu, dlouhodobě užívá Salofalk. Jeho rodinná anamnéza je zcela negativní, údaje o vrozených vývojových vadách, mentálních retardacích v rodokmenu proband neudává.

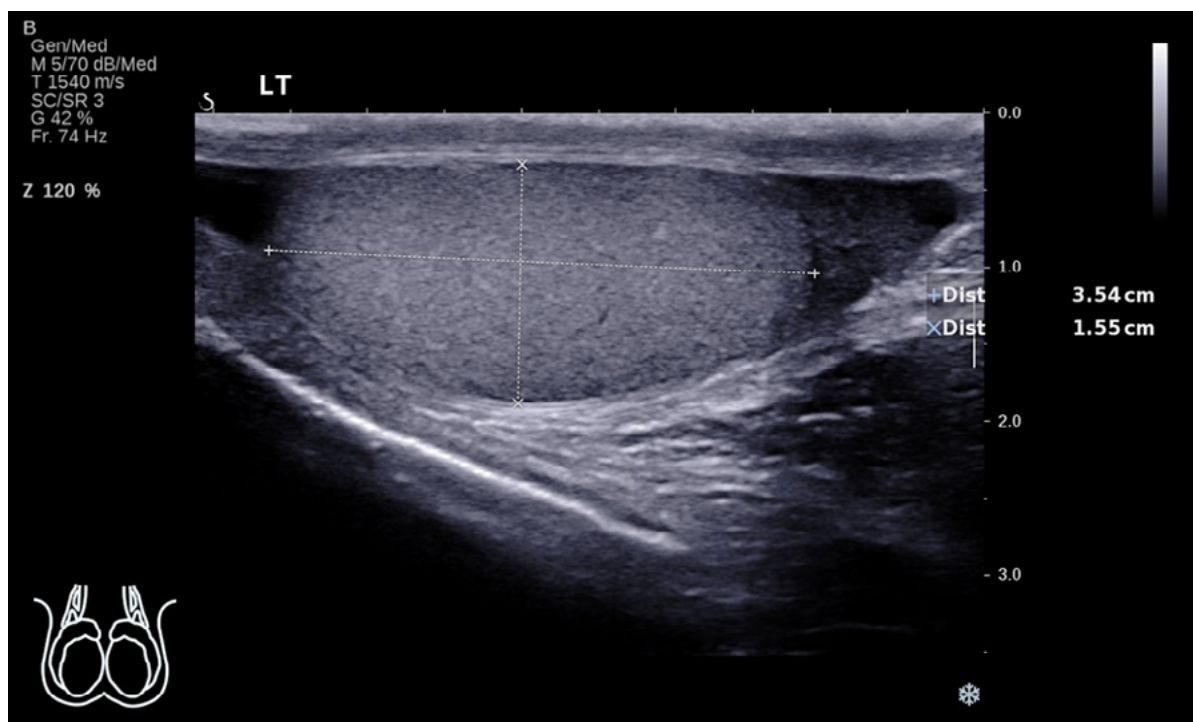
Objektivní vyšetření konstatuje ženský typ postavy, převládá ukládání tuku na břicho a v oblasti boků, mammy jsou tvořeny tukovou tkání, facies bez stigmatizace, vousy rostou, patro bez patologického nálezu, chrup v normě, genitál mužský, pubické ochlupení přítomno. Bilaterálně zjištěna mírná hypotrofie varlat. Dále bylo provedeno ultrazvukové vyšetření varlat s nálezem: bilaterálně symetrický nález, obě varlata ve skrotu, homogenní, bez ložisek, obvyklé echogenity, bez extenzivních kalcifikací. Vlevo patrná drobná hydrokéla na hranici normy, vpravo bez zmnožené tekutiny. Nadvarlata normální struktury, bilaterálně v oblasti horního pólu varlete při nadvarletí drobná cysta velikosti 5 mm vlevo a 6 mm vpravo – tedy drobná cysta nadvarlete na každé straně. Rozměry varlete vlevo: 35 × 16 × 24 mm – 9,5 ml a varle je tedy menší než je norma. Vpravo: 36 × 17 × 26 mm – 11 ml a tedy též trochu menší než norma.

Dále byly provedeny odběry minerálů, hormonů, PSA, hormonů štítné žlázy a 2× spermioqram.

Minerály S_{Sodík}: 137; S_{Draslík}: 4,2; S_{Chloridy}: 101; S_{Vápník}: 2,48; S_{Fosfor}: 1,25; S_{Hořčík}: 0,77.

Sacharidový metabolismus S_{Glukóza}: 5,60.

Hormony S_{LH}: 2,9; S_{FSH}: 7,6; S_{Testosteron}: 8,42; S_{Prolaktin}: 380,7.



Obr. 1. Levé varle o rozměrech 3,54 × 1,55 cm

Fig. 1. Left testicle with dimensions 3,54 × 1,55 cm

Tab. 1. Spermiogram s nálezem azoospermie

Tab. 1. Spermiogram with azoospermia finding

Spermiogram:		
Abstinence (dny)	4	Závěr: azoospermie
Množství (ml)	5	
Koncentrace (mil./ml)	0	
Pohyblivost	—	
Morfologicky intaktní (%)	—	
Přidatné buňky	—	
Jiné	epitelie, pH 8,5	

Štítná žláza TSH: 3,96; S_T4 volný: 13,63; S_T3 volný: 5,06; S_Anti TG: 14,3; S_Anti TPO: 9,22; S_Anti TSH: < 0,80.

Tumorové markery S_PSA: 0,641; S_PSA volný: 0,251; S_fPSA/PSA index: 39,16.

Spermiogram byl poté zopakován, opět s nálezem azoospermie.

Vzhledem k nálezu zvýšené hladiny prolaktinu byla dále doplněna magnetická rezonance hypofýzy. Poté byl pacient odeslán ke genetickému vyšetření.

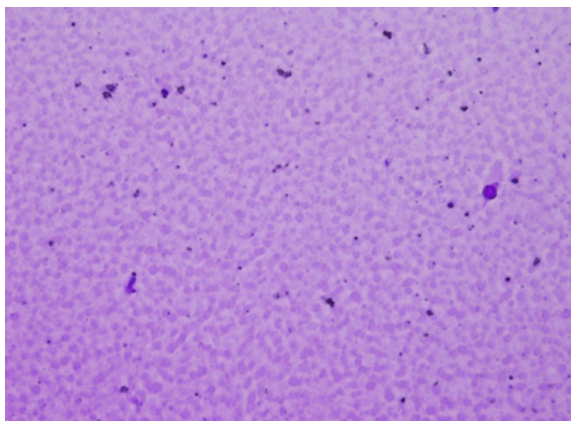
Magnetická rezonance hypofýzy prokázala nález prázdné selly. Tkáň hypofýzy byla výrazně redukována a utlačena dorzálně i laterálně s propagací

mozkomíšního toku intraselárně, který utlačoval tkáň hypofýzy a vyvážel jen jemný lem, který konturoval turecké sedlo do šíře 1–2 mm, stopka byla zachována bez dislokace, okolí bylo klidné bez známek patologických intenzit, chiasma opticum bylo bez zjevné patologie.

Pro tento nález na magnetické rezonanci byl pacient odeslán k endokrinologickému vyšetření. Endokrinologem zvolen konzervativní postup, kontroly doporučeny jednou ročně.

GENETICKÉ VYŠETŘENÍ

Chromozomální vyšetření lymfocytů periferní krve pacienta prokázalo patologický mužský karyotyp s derivovaným chromozomem Y – i(Y) (p10): 46,X,i(Y)(p10). Následným FISH vyšetřením s použitím specifické sondy pro lokus SRY a centromerické sondy pro Y byla zjištěna přítomnost 2 signálů pro SRY lokus (krátká raménka) a jeden signál pro centromeru chromozomu Y – karyotyp: 46,X,i(Y)(p10).ish i(Y)(p10)(SRY+,DYZ3+,DYZ1-,SRY+).nuc ish(DXZ1,DYZ3)x1[200]. U pacienta byl zjištěn monocentrický isochromozom krátkých



Obr. 2. *Spermiogram s nálezem azoospermie*
Fig. 2. *Spermiogram with azoospermia finding*

ramének chromozomu Y ve všech analyzovaných buňkách lymfocytů periferní krve.

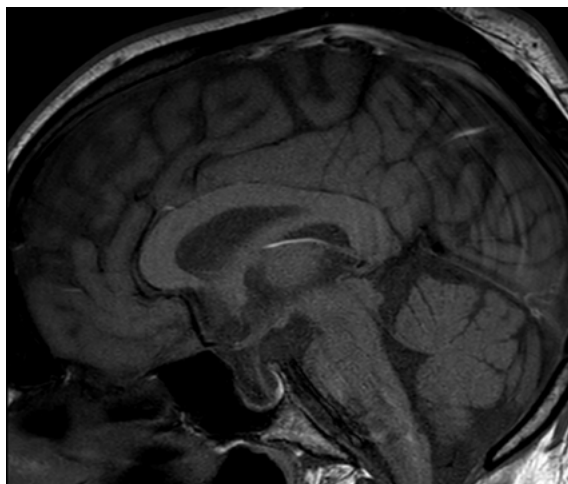
Tento nález byl potvrzen metodou MICROARRAY. U vzorku periferní krve pacienta byl stanoven profil arr[GRCh37] Yp11.32p11.2(237562_8875193)x2,Yq11.21q12(14556841_59300085)x0, který prokázal 8,68Mb duplikaci celého krátkého raménka (oblast p11.32-p11.2) a zároveň 44,7Mb delecí celého dlouhého raménka chromozomu Y (oblast q11.21-q12).

Stejně tak molekulárně genetické vyšetření genové oblasti AZFa (sY82, sY83, sY86, sY84, sY1065, sY88, M259, sY625), AZFb (sY105, sY121, sY127, sY131, sY134) a AZFc (sY1192, sY1191, sY153, sY1291, sY157, sY254, sY255, sY160) chromozomu Y prokázalo delecí v celém lokusu AZF (a + b + c) a koreluje s rozsáhlou přestavbou chromozomu Y.

Molekulárně genetickým vyšetřením variant genu CFTR bylo u pacienta vyloučeno nosičství 50 nejčastějších patogenních variant genu CFTR v ČR.

ZÁVĚR GENETICKÉHO VYŠETŘENÍ

U probanda byla zjištěna strukturální aberace chromozomu Y – isochromozom i(Y)(p10), duplikace krátkých ramének chromozomu Y a delecí celého dlouhého raménka Y (tudiž i celé oblasti AZF genu). Tento nález koreluje s klinickým nálezem azoospermie. Isochromozom Yp (ORPHA:98797) je vzácná gonozomální aberace charakterizovaná variabilními klinickými projevy zahrnujícími: normální zdravé



Obr. 3. *Magnetická rezonance s nálezem syndromu prázdného sedla*
Fig. 3. *Magnetic resonance imaging with findings of empty sella syndrome*

fertilní muže, muže s infertilitou a muže s obojetnými genitáliemi a inkompletní maskulinizací.

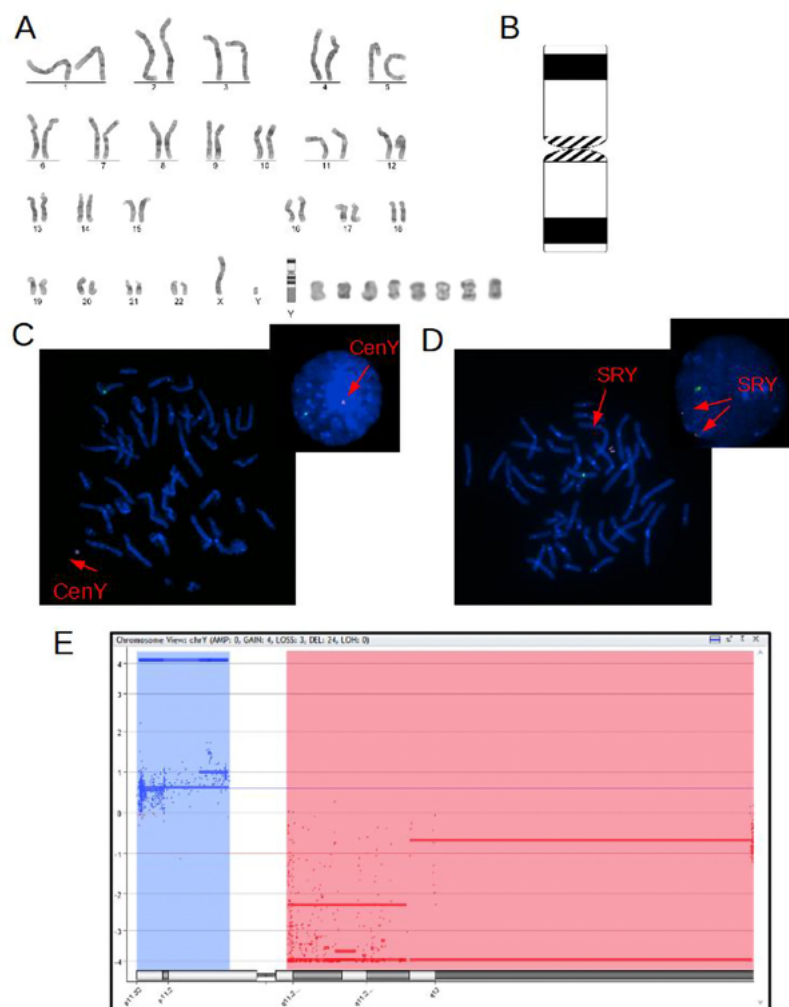
fertilní muže, muže s infertilitou a muže s obojetnými genitáliemi a inkompletní maskulinizací.

DISKUZE

V současné době je na světě 10 až 15 % neplodných párů. Sterilita je podle Světové zdravotnické organizace (WHO) definována jako neschopnost otěhotnět po jednom roce pravidelného pohlavního styku bez antikoncepčních prostředků. Neplodnost je z 50 % na straně muže a z 50 % na straně ženy, zhruba u 20 % pacientů se nepodaří odhalit příčinu (1, 5). U 5 až 13 % je neplodnost způsobená chromozomovými aberacemi. Mezi nejčastější patří aneuploidie gonozomů způsobující známé syndromy, dále translokace a jiné strukturní abnormality (2).

U 6 % infertilních mužů byla prokázána strukturální abnormalita chromozomu Y: duplikace, delecí, inverze, dicentrický chromozom a ring chromozom. U mužů s azoospermií je prokázána abnormalita chromozomu Y až v 15 % případů. Často je detekován mosaicismus linie 45,X spolu s linií s abnormálním Y chromozomem – zde je poté značná variabilita fenotypového projevu (3). Delecí celého lokusu AZF (a+b+c) je spojena s azoospermií.

U mužů s delecí v lokusu AZFc bylo zjištěno, že se stoupajícím věkem může dojít ke snížení



Obr. 4. Genetické vyšetření lymfocytů periferní krve pacienta

Fig. 4. Genetic testing of the patient's peripheral blood lymphocytes

A: Chromozomální vyšetření – karyogram G-pruhování: 46,X,i(Y)(p10), výřez i(Yp) z více mitóz

B: Přestavbový ideogram – isochromozom Yp

C: FISH vyšetření – mitóza a interfázní jádro (sonda CenX(DXZ1) zelený/CenY(DYZ3) červený signál – Wuhan Biotech.) pouze jeden centromerický signál svědčí pro isochromozom i(Yp)

D: FISH vyšetření – mitóza a interfázní jádro (sonda CepX(DXZ1) zelený/Yp11.31(SRY) červený signál – Vysis) – dva signály SRY lokusu

E: array-CGH: chromosom Y (Agilent, ISCA v2 (8x60k))

arr[GRCh37] Yp11.32p11.2(237562_8875193)x2,Yq11.21q12(14556841_59300085)x0

8,68 Mb duplikace celého krátkého raménka (oblast p11.32–p11.2) a zároveň 44,7 Mb delece celého dlouhého raménka chromosomu Y (oblast q11.21–q12)

množství spermií až k azoospermii, tudíž jim je doporučena kryoprezervace spermií pro pozdější možnost asistované reprodukce s využitím vlastních spermií a tedy biologického rodičovství (4).

ZÁVĚR

U našeho pacienta byla genetikem zjištěna rozsáhlá přestavba Y chromozomu – isochromozom i(Y)

(p10), tj. duplikace krátkých ramének chromozomu Y a delece celého dlouhého raménka Y (tudíž i celé oblasti AZF lokusu). Tento náález vysvětluje etiologii azoospermie u probanda. Lokus AZF se rozděluje do tří oblastí AZFa, AZFb, AZFc. Možnost získání funkčních spermií u pacientů koreluje s charakterem delece AZF lokusu (o jakou oblast se jedná a zda je delece oblasti parciální či kompletní). Například při nálezu mikrolece AZFc oblasti mohou pacienti podstoupit TESE/ICSI s přibliž-

ně 50% úspěšností získání funkčních spermií (5). Vzhledem k nálezu kompletní delece celého AZF lokusu (AZFa+b+c) je úspěšnost použití metod MESA a TESE/TESA u probanda prakticky vyloučena (6). Pacientovi bylo doporučeno využít pro případnou graviditu v partnerství použití spermie dárce. S tímto postupem pacient souhlasil a dárcovství využil. V současné době je partnerka v pátém měsíci těhotenství.

Samotná diagnóza azoospermie, tj. absence spermií v ejakulátu, je již dostatečně závažným nálezem, který vyžaduje pečlivé a komplexní vyšetření. Avšak pro dosažení co nejlepšího pochopení příčin této podmínky a následně i efektivního léčebného plánu je nezbytné provést genetické vyšetření pacienta. Genetické vyšetření hraje klíčovou roli v identifikaci genetických variant či mutací spojených s azoospermií. Může odhalit genetické abnormality spojené s tvorbou spermií, transportem spermií nebo jinými faktory, které mohou ovlivnit re-

produkční schopnost jedince. Mezi časté genetické příčiny azoospermie, tj. absence spermií v ejakulátu, patří například chromozomální aberace, mikrolece na Y chromozomu a mutace genu pro cystickou fibrózu (CFTR) a další. Pro genetické vyšetření je klíčová spolupráce klinika s genetikem, který může navrhnout a interpretovat vhodné genetické testy. Výsledky genetického vyšetření umožňují ošetřujícím lékařům a genetikům lépe porozumět příčinám azoospermie u konkrétního pacienta a přizpůsobit léčbu genetické příčině jeho obtíží.

Celkově lze konstatovat, že komplexní vyšetření pacienta s azoospermií a následné genetické vyšetření jsou nezbytné k plnému pochopení této reprodukční poruchy a následnému zahájení efektivní léčby. Genetická analýza přináší hlubší vhled do příčin azoospermie a umožňuje personalizovaný přístup k léčbě, což může výrazně zlepšit šance pacienta na dosažení požadovaného reprodukčního úspěchu.

LITERATURA

1. Massart A, Lissens AW, Tournaye H, et al. Genetic causes of spermatogenic failure. Asian Journal of Andrology [Internet]. 2012; 14(1): 40–48. ISSN 1008-682X. Available from: doi:10.1038/aja.2011.67.
2. Meschede D, Lemcke B, Exeler JR, et al. Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection-prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. Human Reproduction [Internet]. 1998; 13(3): 576–582. ISSN 0268-1161. Available from: doi:10.1093/humrep/13.3.576.
3. Isodicentric Ychromosome: Case Study [Internet]. [vid. 2023-11-27]. Available from: <https://scirp.org/journal/paperinformation.aspx?paperid=112302>.
4. Colaco S, Modi D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility. Reproductive Biology and Endocrinology [Internet]. 2018; 16(1): 14. ISSN 1477-7827. Available from: doi:10.1186/s12958-018-0330-5.
5. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. Andrology [Internet]. 2014; 2(1): 5–19. ISSN 2047-2927. Available from: doi:10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x.
6. Yuen W, Golin AP, Flannigan R, et al. Histology and sperm retrieval among men with Y chromosome microdeletions. Translational Andrology and Urology [Internet]. 2021; 10(3): 1442–1456. ISSN 2223-4683. Available from: doi:10.21037/tau.2020.03.35.