

MICRODELEÇÃO DO CROMOSSOMO Y

Betty C. Kuhn¹; Caroline A. Gonçalves²; Adriana Zilly³

RESUMO: O cromossomo Y possui genes que estão envolvidos na espermatogênese, no desenvolvimento de células germinativas e diferenciação sexual. Deleções envolvendo o braço longo do cromossomo Y (Yq) estão associadas com falhas na espermatogênese podendo levar a infertilidade. Aproximadamente 50% das causas de infertilidade são de origem masculina, destas, 25% são diagnosticadas como causas idiopáticas que pode ter base genética. Este trabalho teve como objetivos identificar as microdeleções do cromossomo Y e indicar os principais métodos de diagnóstico genético para esse problema. Para esta revisão foram pesquisados livros, periódicos e documentos eletrônicos, que serviram de fonte para analisar a microdeleção do cromossomo Y. Três regiões do Yq (AZFa, AZFb e AZFc) estão relacionadas com a microdeleção, estudos recentes relatam a presença de uma quarta região (AZFd). Essas microdeleções são encontradas, na maioria das vezes, em pacientes azoospermicos e oligozoospermicos, Estes pacientes geralmente procuram clínicas de Reprodução Humana Assistida (RHA) para tentar contornar sua infertilidade. A incidência de pacientes com microdeleção que submetem-se a ICSI (Injeção Intracitoplasmática de espermatozoides) é de aproximadamente 10%. Esses pacientes podem apresentar espermatozoides tanto no ejaculado como nos testículos, sendo candidatos a técnicas de RHA. Se ocorrer a fertilização, esta microdeleção será passada para a prole masculina. O diagnóstico genético tem se tornado importante para fornecer as causas da infertilidade e para permitir que o médico adote o tratamento mais adequado. É importante que seja feito aconselhamento genético aos casais que se submetem a RHA, para que eles decidam qual a melhor opção para o futuro reprodutivo.

PALAVRAS-CHAVE: Cromossomo Y, Infertilidade, Microdeleção.

1 INTRODUÇÃO

A infertilidade atinge entre dez a 25% dos casais, e o fator masculino, isolado ou combinado com o feminino, contribuem com mais de 50% nos casos de infertilidade (Dada et al., 2004).

A causa de infertilidade masculina idiopática está focada na possibilidade de etiologia genética, levando ao estudo do cromossomo Y. O cromossomo Y humano é composto de um braço curto (Yp) um braço longo (Yq) e um centrômero. Ele está envolvido na regulação da espermatogênese e na patogênese da infertilidade masculina idiopática (Foresta, Moro e Ferlin, 2001).

Os genes críticos para espermatogênese estão localizados no Yq e deleções envolvendo esses genes são frequentemente encontradas em homens inférteis (Silber e Repping, 2002).

¹ Mestranda do Programa de Genética e Melhoramento – Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – PR. bettybio@hotmail.com

² Biomédica Especialista em Reprodução Humana Assistida pelo Associação Instituto *Sapientiae*, SP. caroline.g84@hotmail.com

³ Docente da Unioeste. Departamento de Enfermagem – CEL, Foz do Iguaçu – PR. aazilly@bol.com.br

Desde os anos 70 foi estabelecido que deleções no braço longo do cromossomo Y estão associadas com falhas na espermatogênese. A espermatogênese e espermiogênese são processos necessários para a diferenciação e maturação da espermatogônia em espermatozóides para torná-lo apto a fecundar (Dada et al., 2004).

A região crítica para espermatogênese é o fator de azoospermia (AZF), que posteriormente foi subdividida em AZFa, AZFb e AZFc. Os genes AZF codificam proteínas do RNA e podem estar envolvidos na regulação da expressão gênica (Dada et al., 2004). Estas deleções provavelmente ocorrem devido a um evento desigual no *crossing-over* intracromossomal na meiose durante a espermatogênese. Microdeleções podem originar-se também na prole *de novo* através de erros aleatórios na meiose em linhagens de células germinativas paternas ou de mosaicos constitucionais paterno como resultado de acidentes mitóticos. Uma deleção pode ocorrer precocemente no embrião durante a replicação do DNA, dando origem a um indivíduo mosaico com uma possível deleção nas células da linhagem germinativa testicular (Roberts, 1998).

Microdeleções na região AZFa são relativamente raras, já na região AZFb ocorre com maior frequência podendo ser isolada ou associada com deleção na região AZFc (Hopps et al., 2003). Deleções na região AZFc é o achado mais freqüente e estão associadas a uma grande extensão de fenótipos (Ferlin et al., 1999).

A análise de microdeleções no Yq deve ser feita em todo paciente infértil com contagem espermática inferior a 5×10^6 células/ml (Foresta, Moro e Ferlin, 2001). Análise por PCR (*Polymerase chain reaction*) de mutações na região AZF localiza deleções ou ausência dos genes nesta região. Seu produto é visualizado por eletroforese, para visualização sobre luz ultra-violeta (Hopps et al., 2003).

Para realização desta técnica, utiliza-se sangue periférico e STS (*Sequence tagged site* - seqüências conhecidas do DNA genômico) existentes dentro do Yq são selecionadas enfatizando as regiões AZF, quando estas seqüências estão ausentes, podem indicar uma deleção, contudo o uso de PCR falha na detecção de mosaicismos. Por essa razão, muitas vezes, a análise por FISH (*fluorescence in-situ hybridization*) pode ser o método de escolha, por permitir uma avaliação exata e sensível da microdeleção do Y em cada célula individualmente e permitir a detecção de mosaicismo (Hopps et al., 2003).

A micromanipulação de gametas permite ao embriologista contornar passos do processo de fertilização natural. O sucesso do procedimento de ICSI (Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóides) esta relacionada com vários fatores: a viabilidade do espermatozóide, a qualidade do oócito, a ativação efetiva do oócito e habilidade do oócito de tolerar manipulação intracitoplasmática (Schlegel e Girardi, 1997).

Para homens com azoospermia não obstrutiva, como nos casos de microdeleção do cromossomo Y, a recuperação de espermatozóides dos testículos é frequentemente bem sucedida utilizando uma técnica TESE (*testicular sperm extraction*) (Brandell et al., 1998).

Este trabalho teve como objetivo fazer um levantamento bibliográfico sobre a microdeleção do cromossomo Y associada a seus possíveis danos genéticos, relatar quais são as regiões e genes candidatos a sofrerem esse dano cromossômico que pode levar a infertilidade masculina, indicar quais os principais métodos de diagnóstico genético utilizados para identificar essas possíveis microdeleções, sugerir a melhor técnica de reprodução humana assistida para que, se possível, a infertilidade possa ser contornada, colaborando assim para o desenvolvimento de um melhor método diagnóstico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desta revisão sistemática da literatura foram pesquisados livros, periódicos e documentos eletrônicos, que serviram de fontes de bibliografia para descrever e analisar a microdeleção do cromossomo Y.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Infertilidade é definida como a impossibilidade de conceber após um ano de relações sexuais normais desprotegidas. A infertilidade é uma desordem multigênica complexa que pode levar a diferentes graus de falha espermatogênica (Silber e Repping, 2002).

Aproximadamente 25% dos pacientes com infertilidade masculina são diagnosticados como causas idiopáticas, o que significa que a etiologia não é conhecida. Atualmente muitos dos casos de infertilidade idiopática podem ter uma base genética. A maioria das pesquisas relacionadas à infertilidade genética masculina tem focado o cromossomo Y (Silber e Repping, 2002).

O primeiro dado, sobre a existência de fatores genéticos relacionados com a fertilidade masculina, foi relatado no ano de 1976, quando Tiepoli e Zuffardi, detectaram numa população de 1160 homens a presença de deleções citogenéticas em 06 indivíduos (em 0.5% dos homens inférteis) na região Yq. Com isso, postularam a existência de um *locus* relacionado à espermatogênese localizado no Yq11 definido como fator azoospérmico (AZF) (Martinez et al., 2000). Em dois casos, demonstraram que os pais desses pacientes com deleção carregavam um cromossomo normal, indicando que essas mutações eram eventos *de novo* (Foresta, Moro e Ferlin, 2001).

Até 1996, não foi possível realizar mais análises do cromossomo Y devido ao tamanho reduzido deste e ausência de tecnologia, a partir desta data, através do mapeamento com sondas de DNA, observaram a presença de três zonas que influenciavam a infertilidade masculina sendo determinadas como AZFa, AZFb e AZFc (Ferlin et al., 1999).

Microdeleções envolvem mais frequentemente a região AZFc (60%), com menor frequência a região AZFb (16%) e raramente a região AZFa (5%). Grandes microdeleções envolvendo duas ou três regiões AZF são diagnosticadas em 14% dos casos. Notavelmente, no restante dos 5% dos casos as microdeleções são localizadas em regiões não sobrepostas AZFa, b ou c (Foresta, Moro e Ferlin, 2001).

Não existe correlação clara entre o tamanho e a localização das deleções e o fenótipo dos testículos. Entretanto sabe-se que deleções maiores estão associadas com dano testicular mais severo (Foresta, Moro e Ferlin, 2001). Esta dificuldade de associar o genótipo com o fenótipo pode originar-se do critério de seleção utilizado para os diferentes pacientes nos diversos estudos e que podem estar baseados somente em dados clínicos (infertilidade, história, concentração hormonal e volume testicular) e/ou em dados da análise seminal (normozoospérmico, oligozoospérmico ou azoospérmico) e/ou estrutura testicular (Síndrome de células Sertoli *only*, hipoespermatogênese, impedimento espermatogênico, formas obstrutivas) (Ferlin et al., 1999).

A correlação entre genótipo/fenótipo pode se tornar mais fidedigna com melhor seleção de paciente, melhor investigação clínica e histopatológica e definição precisa dos diferentes fenótipos. Estudos de grupos de homens de diferentes origens étnicas/geográficas são necessários para determinar se existe diferença populacional entre a frequência, posição ou extensão das deleções (Krausz, Murci e McElreavey, 2000).

O primeiro gene candidato AZF foi isolado em 1993 de uma região que mostrou correspondência com AZFb. Dois anos depois, o segundo gene AZF candidato foi identificado na região AZFc. A estrutura do AZFa e os genes que ela possui foram descritos recentemente (Foresta, Moro e Ferlin, 2001). A região AZF possui 03 *loci* não

sobrepostos AZFa, AZFb, AZFc que são necessários para espermatogênese normal (Dada et al., 2004).

Deleção nas três regiões remove um ou mais desses genes candidatos (*DAZ*, *RBM1Y*, *USP9Y* e *DBY*) e causa severa testiculopatia levando a uma infertilidade masculina (Foresta, Moro e Ferlin, 2001).

Deleções que ocorrem na AZFa resultam em Síndrome de células de Sertoli *only* tipo I (SCOS I) (nenhuma presença de espermatogônia), deleções na AZFb resultam em um impedimento espermatogênico (SGA) normalmente no estágio de espermatócitos e deleções na AZFc estão associadas a SCOS tipo II (algumas espermatogônias estão presentes com espermatogênese limitada) ou hipoespermatogênese (Krausz, Murci e McElreavey, 2000).

Não existe um tratamento correto para melhorar a fertilidade de homens com microdeleção do cromossomo Y. Entretanto, conhecimento dessas microdeleções do cromossomo Y é útil por várias razões. Primeiro, a detecção de deleções no cromossomo Y fornece um diagnóstico de infertilidade. Segundo, o diagnóstico de microdeleção do cromossomo Y permite ao médico renunciar a um tratamento empírico e direcionar o paciente a reprodução assistida ou à adoção e ainda o conhecimento de microdeleções no cromossomo Y, permite informar os casais que concebera seu filho por reprodução assistida e aos que já tem um filho, a informar a ele, em uma idade apropriada, que ele provavelmente poderá ser infértil (Roberts, 1998).

O *screening* da microdeleção é, portanto, importante não só para definir a etiologia da falha na espermatogênese, por fornecer informação preciosa para o tratamento clínico mais adequado tanto para o homem como para seu futuro filho (Krausz, Murci e McElreavey, 2000).

4 CONCLUSÃO

Através da realização deste trabalho pode-se concluir que uma microdeleção no cromossomo Y leva a falhas na espermatogênese por deletar uma região no cromossomo Y que esta relacionada com esta função, interferindo deste modo na fertilidade do homem e muitas vezes fazendo com que ele não consiga uma fertilização de modo natural sendo necessário recorrer às técnicas de Reprodução Assistida. Considerando-se que a incidência de pacientes com microdeleção que se submetem a Reprodução Humana Assistida é de aproximadamente 10%, recomenda-se que todos os pacientes que procurem um tratamento para sua infertilidade com uma contagem espermática inferior a 5×10^6 células/ml sejam diagnosticados quanto a presença de microdeleções. Este diagnóstico permite ao médico encaminhar o paciente para um tratamento clínico mais adequado e fornecer um diagnóstico da infertilidade, juntamente com o diagnóstico genético deve ser feito um aconselhamento genético que é muito importante para que o casal possa decidir o futuro reprodutivo, informando-lhes sempre que esta microdeleção será invariavelmente passada para a prole masculina, fornecer informações de alternativas como a utilização da técnica de PGD para a seleção de embriões do sexo feminino para a transferência, adoção, técnicas cirúrgicas para a retirada de espermatozoides associadas à ICSI ou fertilização com sêmen de doador. Com o diagnóstico o paciente decidirá qual o melhor caminho a seguir para que uma gestação seja alcançada e também poderá preservar a fertilidade de seu futuro filho, com a técnica de criopreservação, evitando transtornos futuros a esta criança.

REFERÊNCIAS

BRANDELL, R. A. et al, AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: preliminary report of a prognostic genetic test, **Human Reproduction**, vol 13. no. 10, 2812-15, 1998.

DADA, R. et al. Yq Microdeletions—Azoospermia Factor Candidate Genes and Spermatogenic Arrest. **Journal of Biomolecular Techniques**, vol. 15, 176-183, 2004.

FERLIN, A. et al. Human male infertility and Y chromosome deletions: role of the AZF-candidate genes DAZ, RBM and DFFRY. **Human Reproduction**, vol. 14, no. 7, 1710-16, Jul. 1999.

FORESTA, C., MORO, E., FERLIN, A. Prognostic value of Y deletion analysis: The role of current methods. **Human Reproduction**, vol. 16, no. 8, 1543-47, Aug. 2001.

HOPPS, C.V. et al. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. **Hum. Rep.**, vol. 18, no. 8, 1660-65, Aug. 2003.

KRAUSZ, C., MURCI, L. Q., MCELREAVEY, K. Prognostic value of Y deletion analysis: What is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? **Human Reproduction**, vol. 15, no. 7, 1431-4, Jul. 2000.

MARTINEZ, M. C. et al. Screening for AZF deletion in a large series of severely impaired spermatogenesis patients. **Journal of Andrology**, vol 21, no. 5, 651-5, Sep./Oct. 2000.

ROBERTS, K. P. Y-Chromosome Deletions and Male Infertility: State of the Art and Clinical Implications. **Journal of Andrology**, vol. 19, no. 3, May/Jun. 1998.

SCHLEGEL, P. N., GIRARDI, S. K. In Vitro Fertilization for Male Factor Infertility. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, vol. 82, no. 3, 709-16, 1997.

SILBER, S. J., REPPING, S. Transmission of male infertility to future generations: lessons from the Y chromosome. **Human Reproduction**, vol. 8, no. 3, 217-29, Apr 2002.