



ANÁLISE MOLECULAR DA REGIÃO AZF DO CROMOSSOMO Y EM HOMENS INFÉRTEIS PELA TÉCNICA DE MLPA (MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION)

Autores Camila Calixto Moreira Dias ¹, João Monteiro de Pina Neto ¹

Instituição ¹ USP - FMRP - Universidade de São Paulo (Avenida Bandeirantes, 3900)

Resumo

OBJETIVOS

Aproximadamente 50% das causas de infertilidade são de origem masculina, destas, 25% são diagnosticadas como causas idiopáticas que podem ter base genética. As microdeleções do cromossomo Y são uma das causas genéticas da infertilidade masculina e o fator etiológico de 10-15% nos casos de azoospermia ou oligospermia grave idiopática. O cromossomo Y possui genes que estão envolvidos na espermatogênese, no desenvolvimento de células germinativas e diferenciação sexual. Microdeleções envolvendo a região AZF do braço longo do cromossomo Y estão associadas à infertilidade masculina. O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise molecular da região AZF do cromossomo Y através da técnica de MLPA em amostras de pacientes inférteis.

MÉTODOS

Para este estudo foram coletadas 25 amostras de sangue periférico de homens inférteis com azoospermia ou oligospermia grave do ambulatório de Urologia do HCRP. Para a extração do DNA utilizou-se o Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega). Na análise molecular da região AZF utilizou-se o kit SALSA MLPA probemix P360-A1, desenhado para detectar deleção/duplicação de uma ou mais sequências de DNA da região AZF. O kit contém 53 sondas, 14 sondas da região AZFa, 16 sondas da região AZFb, 13 sondas da região AZFc, duas sondas do gene DPY19L2 (localizada no cromossomo 12) e oito sondas controles (em regiões autossômicas). Para avaliar a qualidade e normalização dos dados de MLPA utilizou-se o software Coffalyser.NET (MRC-Holland).

RESULTADOS

Dos 25 pacientes analisados, 21 (86%) apresentaram padrão de amplificação das sondas dentro da faixa da normalidade e quatro (16%) apresentaram um padrão de amplificação alterado. Os pacientes um e dois apresentaram padrão de amplificação alterado da sonda EIF1AY, condizente com uma microduplicação. Esta sonda está localizada na região AZFb. Deleções na região AZFb estão associadas a infertilidade masculina, relatos de duplicação nesta região não foram encontrados na literatura. O paciente três apresentou padrão de amplificação alterado da sonda DPY19L2. Sabe-se que alterações no gene DPY19L2 estão relacionadas à globozoospermia (espermatozoides de cabeça arredondada com ausência de acrossomo). O quarto paciente apresentou sete sondas alteradas (BPY2_1, BPY2_2, BPY2_3, BPY2_4, BPY2_5, CDY1B, DAZ2_1). Estas sondas estão localizadas na região AZFc. Os genes desta região estão envolvidos na espermatogênese, a deleção desta região está associada a azoospermia ou oligospermia grave. Estudos mostram que a duplicação parcial da região AZFc está associada a infertilidade masculina (Zhang et al., 2007; Ye et al., 2013).

CONCLUSÃO

Investigações mais acuradas utilizando outras técnicas moleculares, como arrayCGH, serão realizadas para confirmar essas microduplicações e verificar se elas estão realmente associadas a infertilidade. Análise dos espermogramas também serão realizadas para verificar se pacientes com duplicações no gene DPY19L2 também apresentam globozoospermia.

Palavras-chaves: Cromossomo Y, Microdeleção, Microduplicação, Região AZF

Agência de Fomento: CAPES e FAEPA