



## Генетические факторы мужского бесплодия, их сочетания и спермиологическая характеристика мужчин с нарушением фертильности

Н. Ю. Сафина<sup>1</sup>, Т. А. Яманди<sup>1</sup>, В. Б. Черных<sup>2,3</sup>, Л. В. Акуленко<sup>1</sup>, С. В. Боголюбов<sup>4</sup>, И. И. Витязева<sup>4</sup>,  
О. П. Рыжкова<sup>2</sup>, А. А. Степанова<sup>2</sup>, Т. А. Адян<sup>2</sup>, Е. А. Близнец<sup>2</sup>, А. В. Поляков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова»  
Минздрава России; Россия, 127473 Москва, ул. Десятская, 20, стр. 1;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова»  
Минздрава России; Россия, 117437 Москва, ул. Островитянова, 1;

<sup>4</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России;  
Россия, 117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11

**Контакты:** Наталия Юрьевна Сафина [natal.s@mail.ru](mailto:natal.s@mail.ru)

**Цель исследования** – установить частоту генетических факторов, влияющих на мужскую репродуктивную функцию, их сочетаний и изучить их влияние на сперматогенез и спермиологические показатели.

**Материалы и методы.** Обследовано 393 мужчины с бесплодием в браке, которые по результатам цитогенетического анализа распределены по 3 группам: 135 мужчин с числовыми аномалиями половых хромосом; 58 пациентов, имеющих сбалансированные структурные аномалии хромосом; 200 мужчин с нормальным кариотипом. Выполнен поиск микроделеций Y-хромосомы, мутаций гена CFTR и анализ числа CAG-повторов гена AR.

**Результаты.** У 13 % пациентов с мутациями половых хромосом обнаружены микроделеции Y-хромосомы, представленные частичными делециями региона AZFc. В группе пациентов со структурными перестройками сочетание хромосомных нарушений с AZF-делециями и/или мутациями гена CFTR и повышенным числом CAG-повторов в гене AR отмечено у 19 % пациентов. У мужчин с нормальным мужским кариотипом частота исследованных генетических факторов примерно в 2 раза выше, чем у пациентов с аномалиями хромосом. Среди мужчин с бесплодием с нормальным кариотипом и мужчин с аномалиями кариотипа азооспермия диагностирована с одинаковой частотой (58 %). У всех мужчин, у которых выявлено наличие 2 и более различных генетических факторов мужского бесплодия, выявлены тяжелые формы патозооспермии.

**Заключение.** При наличии в генотипе сочетания генетических факторов мужского бесплодия наблюдаются более тяжелые формы патозооспермии. Это свидетельствует о возможном аддитивном влиянии сочетания генетических факторов на сперматогенез и фертильность мужчин.

**Ключевые слова:** азооспермия, дисомия Y-хромосомы, мужское бесплодие, олигозооспермия, синдром Клайнфельтера, хромосомные аномалии, AR, AZF, CFTR

**Для цитирования:** Сафина Н. Ю., Яманди Т. А., Черных В. Б. и др. Генетические факторы мужского бесплодия, их сочетания и спермиологическая характеристика мужчин с нарушением фертильности. Андрология и генитальная хирургия 2018;19(2):40–51.

DOI: 10.17650/2070-9781-2018-19-2-40-51

### Genetic factors of male infertility, their combinations and the spermatological characteristics of men with fertility failures

N. Yu. Safina<sup>1</sup>, T. A. Yamandi<sup>1</sup>, V. B. Chernykh<sup>2,3</sup>, L. V. Akulenko<sup>1</sup>, S. V. Bogolyubov<sup>4</sup>, I. I. Vityazeva<sup>4</sup>, O. P. Ryzhkova<sup>2</sup>,  
A. A. Stepanova<sup>2</sup>, T. A. Adyan<sup>2</sup>, E. A. Bliznets<sup>2</sup>, A. V. Polyakov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia;  
Build. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia;

<sup>2</sup>Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow 115522, Russia;

<sup>3</sup>N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117437, Russia;

<sup>4</sup>National Medical Research Center of Endocrinology, Ministry of Health of Russia; 11 Dmitriya Ul'yanova St., Moscow 117036, Russia

**The objective** is to study the occurrence of common genetic factors of male infertility in men with reproductive problems, their combinations and spermatological characteristics.

**Materials and methods.** 393 men with infertility in marriage were examined. According to the results of the cytogenetic study, the sample is divided into 3 groups: 135 men with numerical sex chromosome abnormalities; 58 male patients with a balanced structural rearrangement;

200 men with normal karyotype. Y chromosome microdeletions, CFTR gene mutations and CAG-repeats polymorphism of AR gene were analyzed.

**Results.** The Y-chromosome microdeletions partially AZFc deletions were detected in 13 % male patients with sex chromosome abnormalities. A combination of chromosomal abnormalities with AZF deletions and/or CFTR gene mutations and long CAG repeats of AR gene was found in 19 % infertile men with balanced chromosome rearrangements. Infertile men with normal male karyotype presented the frequency of common genetic factors of male infertility was almost 2 times higher than the combined frequency of these factors in groups of patients with chromosomes abnormalities. Azoospermia in men with normal karyotype and patients with chromosome abnormalities was diagnosed with the same frequency (58 %). In all men who have identified the presence of two or more genetic factors of male infertility, severe forms of pathozoospermia (azoospermia and severe oligozoospermia) were found.

**Conclusion.** The combination of genetic factors of male infertility is accompanied by severe forms of pathozoospermia that indicates a possible additive effect of negative effect on spermatogenesis and male fertility.

**Key words:** azoospermia, disomy Y, male infertility, oligozoospermia, Klinefelter syndrome, chromosomal abnormalities, AR, AZF, CFTR

**For citation:** Safina N.Yu., Yamandi T.A., Chernykh V.B. et al. Genetic factors of male infertility, their combinations and the spermatological characteristics of men with fertility failures. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2018;19(2):40–51.

## Введение

Бесплодие диагностируют у 5–7 % мужчин в общей популяции [1]. Нарушение репродуктивной функции может быть вызвано генетическими, средовыми факторами, а также их сочетанием. К генетическим факторам нарушения фертильности относят хромосомные и генные мутации, эпигенетические изменения. Хромосомными аномалиями, обуславливающими нарушения фертильности у мужчин, являются числовые аномалии половых хромосом (синдром Клайнфельтера, гоносомный мозаицизм, сбалансированные структурные перестройки хромосом и несбалансированные перестройки хромосом, вариации числа копий (copy number variation)) [2].

Частыми генетическими нарушениями, которые связаны с мужским бесплодием, считаются синдром Клайнфельтера, микроделеции Y-хромосомы, мутации и полиморфизмы в гене муковисцидоза (CFTR) и в гене андрогенового рецептора (AR/HUMARA) [3].

Наиболее изученные микроструктурные хромосомные перестройки при мужском бесплодии – микроделеции длинного плеча Y-хромосомы. Их обнаруживают с частотой примерно 1 на 1000 мужчин [4]. AZF-делеции могут быть полными, т. е. целиком удаляющими один или более регион локуса AZF (AZFa, AZFb или AZFc), и частичными, не полностью захватывающими какой-либо из AZF-регионов. Почти все полные AZF-делеции являются мутациями *de novo* и приводят к секреторной азооспермии или олигозооспермии тяжелой степени. Влияние частичных AZF-делеций на сперматогенез и фертильность мужчин может быть негативным, а может отсутствовать [5].

Мутации гена CFTR достаточно часто встречаются у мужчин с нарушением фертильности. Они вызывают муковисцидоз, синдром врожденной двусторонней аплазии семявыносящих протоков (congenital bilateral aplasia of vas deferens, CBAVD), обструктивную форму азооспермии [6, 7].

У мужчин с нарушением фертильности наблюдаются различные варианты CAG-полиморфизма в экзоне 1 гена AR/HUMARA. Нарушение сперматогенеза выявляется чаще у носителей «длинных» (27 и более) CAG-аллелей, чем у фертильных мужчин [3, 8].

Анализ научных публикаций свидетельствует о том, что, несмотря на большое количество исследований, четкой классификации генетических причин мужского бесплодия, которая учитывала бы все формы и фенотипические проявления, до сих пор не существует. Мало или фрагментарно изучены сочетания различных генетических факторов, снижающих фертильность, их клинические последствия и фенотипические эффекты.

**Цель исследования** – установить частоту генетических факторов, влияющих на мужскую репродуктивную функцию, их сочетаний и изучить их влияние на сперматогенез и сперматологические показатели.

## Материалы и методы

Обследованы 393 неродственных российских мужчины, обратившихся по поводу бесплодия в браке. Проводили стандартное спермиологическое, цитогенетическое, молекулярно-генетическое исследование (микроделеций локуса AZF, мутаций и полиморфизмов гена CFTR и числа CAG-повторов гена AR).

По результатам цитогенетического исследования были сформированы 3 группы: 1-я группа – 135 мужчин с числовыми аномалиями половых хромосом (с синдромами Клайнфельтера, дисомии Y-хромосомы); 2-я группа – 58 мужчин, имеющих сбалансированные структурные мутации хромосом (реципрокные и робертсоновские транслокации, инверсии); 3-я группа – 200 мужчин с нормальным кариотипом (46,XY).

Стандартный спермиологический анализ выполняли по общепринятой методике; его результаты оценивали по критериям Руководства Всемирной организации здравоохранения по лабораторному исследованию

эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью [9].

Для цитогенетического исследования использовали препараты метафазных хромосом культивированных лимфоцитов периферической крови в соответствии со стандартной процедурой с использованием GTG-окрашивания. Результаты цитогенетического исследования приведены согласно Международной системе цитогенетической номенклатуры хромосом человека [10].

Молекулярно-генетическое исследование выполняли на ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови с помощью набора реактивов для выделения DNA Prep100 по протоколу производителя.

Для поиска микроделений Y-хромосомы применяли метод мультиплексной амплификации. Для определения микроделений в локусе AZF использовали набор из 19 маркеров (SRY, ZFY, sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255, sY615, sY1237, sY1235, sY121, sY124, sY1302, sY142, sY1192, sY1197, sY1206, sY1125). Детально методика описана ранее [11].

Ген *CFTR* анализировали на наличие 22 частых мутаций (F508del, CFTRdele2,3 (21kb), 394delTT, I507del, 1677delTA, 2143delT, 2184insA, 394delTT, 3821delT, L138ins, G542X, W1282X, N1303K, R334W, 3849+10kbC>T, 604insA, 3944delGT, S1196X, 621+1q>t, E92K, 4022insT, 4015delA, 3272-26A>T), суммарно составляющих около 77 % от общего числа поврежденных хромосом, а также полиморфизм IVS8-Tn. Детально методика описана ранее [6].

Для анализа CAG-полиморфизмов экзона 1 гена *AR/HUMARA* применяли подход, предложенный R.C. Allen и соавт. [12].

Статистический анализ проводили с помощью программы Excel из пакета программ Microsoft Office 2013, используя точный критерий  $\chi^2$  Пирсона. Значимыми считали различия при уровне вероятности  $p < 0,05$ .

### Результаты

Микроделеции Y-хромосомы выявлены у 71 (18 %) обследованного пациента. Полные AZF-делеции в 1-й группе не обнаружены, а во 2-й и 3-й группах обнаружены соответственно у 1 (1,7 %) и 25 (12,5 %) пациентов. Частичные делеции региона AZFс определены у 43 мужчин: у 13 (9,6 %), 7 (12 %) и 23 (11,5 %) пациентов соответственно 1, 2 и 3-й групп. Не установлено значимых различий частоты частичных AZFс-делеций как между группами, так и между мужчинами, имеющими и не имеющими аномалии кариотипа ( $\chi^2 = 0,131$ ;  $p > 0,05$ ).

Частые мутации и полиморфизм IVS8-5T гена *CFTR* проанализированы у 164 пациентов: у 25 мужчин из 1-й группы, 16 пациентов 2-й группы, 123 пациентов 3-й группы. Мутации или IVS8-5T (аллель 5T – мягкая варьирующая мутация гена *CFTR*) обнаружены у 18 пациентов: у 2 пациентов 1-й группы (5T), у 3 мужчин 2-й группы (мутация и гомозиготность по 5T), у 13 паци-

ентов 3-й группы (3 мутации и 10 аллелей 5T). Между этими группами не выявлено значимых различий в частоте мутаций ( $\chi^2 = 0,971$ ;  $p > 0,05$ ). Обнаружены следующие мутации: у 8 пациентов – аллель 5T, у 3 – мутации в гетерозиготной форме (F508del/N, 2184insA/N, N1303K/N), у 2 – мутации *CFTR* в компаунд-гетерозиготном состоянии с IVS8-5T (mut*CFTR*/5T), что характерно для генотипа, не вызывающего муковисцидоз, но приводящего у мужчин к развитию синдрома CBAVD и обструктивной азооспермии.

Полиморфизм числа CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR/HUMARA* исследован у 152 мужчин: у 86 пациентов 1-й группы, 16 пациентов 2-й группы и 52 пациентов 3-й группы. Количество CAG-повторов варьировало от 14 до 37. Среднее количество CAG-повторов существенно не различалось между группами и составило в 1-й группе  $22 \pm 3$ , во 2-й группе –  $22 \pm 3$ , в 3-й группе –  $23 \pm 3$ . Полные мутации данного локуса гена *AR* (количество CAG-повторов более 40) не выявлены ни у одного из обследуемых. Повышенное количество CAG-повторов ( $\geq 27$ ) обнаружено у 11 (13 %) пациентов 1-й группы, у 1 (7 %) пациента 2-й группы и у 7 (13,4 %) пациентов 3-й группы. Сниженное ( $\leq 17$ ) количество CAG-повторов определено у 5 (5,8 %) мужчин с синдромом Клайнфельтера и 1 (7 %) пациента из 2-й группы. Среди пациентов 3-й группы «короткие» CAG-аллели не выявлены. Значимых различий частоты «длинных» CAG-аллелей между пациентами с нормальным и аномальным кариотипом не обнаружено ( $\chi^2 = 0,003$ ;  $p > 0,5$ ).

**Сперматологическая характеристика мужчин с нарушениями репродуктивной функции, имеющих числовые аномалии половых хромосом (1-я группа).** В этой группе обследовано 120 пациентов с синдромом Клайнфельтера и 15 пациентов с дисомией Y-хромосомы, имеющих их мозаичные или другие цитогенетические варианты (табл. 1).

Наиболее частый цитогенетический вариант синдрома Клайнфельтера представлен кариотипом 47,XXY, который выявлен у 105 (87,5 %) пациентов. Мозаичные формы и другие цитогенетические варианты синдрома Клайнфельтера обнаружены у 15 (12,5 %) пациентов.

Среди мужчин с дисомией Y-хромосомы ее регулярная форма – кариотип 47,XXY – определен у 13 (86,6 %). У 2 (13,4 %) мужчин с дисомией Y-хромосомы выявлены мозаичный вариант 46,XY/47,XXY и сочетание дисомии Y-хромосомы с робертсоновской транслокацией – 46,XXY,der(13;14)(q10;q10).

В 1-й группе спермиологическое исследование проводили у 87 пациентов, из них 76 – с синдромом Клайнфельтера и 11 – с дисомией Y-хромосомы. Анализ эякулята не выполнен остальным пациентам в связи с недоступностью биологического материала. Нарушения сперматогенеза различной степени тяжести диагностированы у всех обследованных пациентов (табл. 1).

Таблица 1. Цитогенетическая и сперматологическая характеристика пациентов 1-й группы

Table 1. Cytogenetic and spermatological characteristics of the group I patients

Кариотип Karyotype	Число пациентов Number of patients		Форма патозооспермии Pathozoospermia form	Число пациентов Number of patients		
	абс. abs.	%		абс. abs.	%	
<b>Цитогенетические варианты синдрома Клайнфельтера</b> <i>Klinefelter syndrome cytogenetic variants</i>						
47,XXY	105	87,5	Азооспермия Azoospermia	55	52,4	
			Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	6	5,7	
			Криптозооспермия Cryptozoospermia	2	1,9	
mos 46,XY/47,XXY	9	12	10	Азооспермия Azoospermia	7	58,3
mos 46,XX/47,XXY	1			Астенотератозооспермия Asthenoteratozoospermia	2	16,6
mos 46,XY/46,XX/47,XXY	1			Азооспермия Azoospermia	2	16,6
mos 46,XY/47,XXY/48,XXX	1			Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	1	8,3
47,XX,+derY	1			Не исследовали Not examined	—	—
47,XXY,9ph	1	3	2,5	Не исследовали Not examined	—	—
47,XXY,t(3,8)(q23;p21)	1			Азооспермия Azoospermia	1	33,3
<b>Цитогенетические варианты синдрома дисомии Y-хромосомы</b> <i>Cytogenetic variants of uniparental disomy syndrome</i>						
47,XXY	13	86,7	Азооспермия Azoospermia	4	36,3	
			Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	5	45,4	
			Астенотератозооспермия Asthenoteratozoospermia	1	9	
			Астенозооспермия Asthenozoospermia	1	9	
mos 46,XY/47,XXY	1	0,7	Не исследовали Not examined	—	—	
46,XXY,der(13;14)(q10;q10)	1	0,7	Не исследовали Not examined	—	—	

Азооспермия или криптозооспермия обнаружена у 67 (88 %), олигоастенотератозооспермия тяжелой степени — у 7 (9 %), астено-тератозооспермия — у 2 (2,6 %), астенозооспермия — у 3 % спермиологически обследованных пациентов с синдромом Клайнфельтера. Азооспермия обнаружена у 4 (36,4 %), олигоастеноте-

ратозооспермия — у 5 (45,5 %), астено-/тератозооспермия — у 2 (18 %) спермиологически обследованных пациентов с дисомией Y-хромосомы.

При молекулярно-генетическом анализе у 23 (17 %) из 123 обследованных пациентов 1-й группы выявлены различные генетические факторы: у 12 пациентов

с синдромом Клайнфельтера, у 3 пациентов с дисомией Y-хромосомы – частичные делеции региона AZFc (b2/b3, gr/gr), у 7 пациентов с синдромом Клайнфельтера – увеличенное (27 и более), у 2 – уменьшенное (17 и менее) количество CAG-повторов в экзоне 1 гена AR/HUMARA. Гетерозиготность по CAG-аллелям определена у 55 пациентов, гомозиготность – у 53 пациентов с синдромом Клайнфельтера, в том числе среди мозаиков гетерозиготы – 3, гомозиготы – 9.

У всех пациентов, имеющих сочетание хромосомных аномалий и генных мутаций/факторов нарушения мужской фертильности, выявлены тяжелые формы патозооспермии (табл. 2).

**Сперматологическая характеристика мужчин с нарушением репродуктивной функции, имеющих структурные мутации хромосом (2-я группа).** Данная группа включала 58 пациентов с первичным бесплодием, у которых

по результатам цитогенетического исследования выявлены сбалансированные структурные мутации хромосом. Эта группа составила 30 % обследованных пациентов с хромосомными аномалиями.

В спектре исследованных структурных мутаций хромосом большую часть составили сбалансированные реципрокные (преимущественно аутосомно-аутосомные) транслокации, обнаруженные у 27 (47 %) пациентов, а также робертсоновские транслокации, в основном с вовлечением хромосом 13 и 14 (кариотип 45,XY,der(13;14)(q10;q10)), выявленные у 23 (40 %) пациентов. Перицентрические инверсии определены у 4 (7 %) пациентов, из них аутосомные (хромосом 7, 18) – у 3, хромосомы Y – у 1. Комплексные хромосомные перестройки выявлены у 3 (5 %) пациентов: 46,XY,t(5;15)(p22;q32);t(6;12)(q15;q21); 46,XY,t(5;11)(q31,1;q33)t(6;18)(q25,1;p11,2), сочетание транслокации и инверсии –

**Таблица 2.** Сочетания аномалий половых хромосом с генетическими факторами, связанными со снижением фертильности у мужчин

Table 2. Combinations of sex chromosome anomalies with genetic factors associated with decreased fertility in men

Генотип Genotype	Число пациентов, n = 23 Number of patients		Тип патозооспермии Pathozoospermia type	Число пациентов, n = 21 Number of patients	
	абс. abs.	%		абс. abs.	%
47,XXY; del b2/b3	5	22	Азооспермия Azoospermia	4	100
47,XXY; del gr/gr	3	13	Азооспермия Azoospermia	2	100
mos 46,XY/47,XXY; del b2/b3	2	9	Азооспермия Azoospermia	2	100
47,XXY; CAG>28	5	22	Азооспермия Azoospermia	5	100
47,XXY; CAG<16	1	4	Не исследовали Not examined	–	–
47,XXY; del b2/b3; CAG<16	1	4	Азооспермия Azoospermia	1	100
mos 46,XX/47,XXY; CAG>28	1	4	Азооспермия Azoospermia	1	100
47,XXY; IVS8-5T(5T/9T); CAG>28	1	4	Азооспермия Azoospermia	1	100
mos 46,XY/47,XXY; del b2/b3; IVS8-5T(5T/7T)	1	4	Азооспермия Azoospermia	1	100
47,XYY; del b2/b3	3	13	Азооспермия Azoospermia	1	33,3
			Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	2	66,6

**Таблица 3.** Сперматологическая характеристика у мужчин с нарушением репродукции, имеющих структурные мутации хромосом  
**Table 3.** Sperm characteristics in men with reproduction disorders carrying structural chromosomal mutations

Тип аномалии хромосом Chromosome anomaly type	Число пациентов Number of patients		Тип патозооспермии Pathozoospermia type	Число пациентов Number of patients	
	абс. abs.	%		абс. abs.	%
Транслокации Translocations	33	89	Азооспермия Azoospermia	7	18
			Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	17	43,5
			Астенотератозооспермия Asthenoteratozoospermia	7	18
			Криптозооспермия Cryptozoospermia	1	2,6
			Нормозооспермия Normozoospermia	1	2,6
Инверсии Inversions	2	5,5	Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	1	2,6
			Астенотератозооспермия Asthenoteratozoospermia	1	2,6
Кольцевая хромосома (22) Ring chromosome (22)	1	2,7	Азооспермия Azoospermia	1	2,6
Транслокация, инверсия Translocation, inversion	1	2,7	Астенозооспермия Asthenozoospermia	1	2,6

46,XY,t(7;9)(q31;q34)inv(9)(q32;q34). У 1 мужчины с азооспермией обнаружена кольцевая хромосома 22 (кариотип 46,XY,r(22)(:p11→q13::)).

Спермиологическое исследование выполнено у 37 пациентов со структурными мутациями хромосом (табл. 3). Различные формы патозооспермии диагностированы у 36 (97 %) пациентов: азооспермия – у 8 (21 %), криптозооспермия – у 1 (3 %), олигоастенотератозооспермия тяжелой степени – у 18 (46 %), астенотератозооспермия – у 8 (21 %). У 1 пациента с робертсоновской транслокацией (13;14) определена нормозооспермия.

При молекулярно-генетическом исследовании у 11 (19 %) из 58 пациентов 2-й группы обнаружено сочетание структурных мутаций хромосом с другими генетическими факторами бесплодия (микроделеции Y-хромосомы, мутации гена *CFTR* и «коротких» или «длинных» CAG-повторов гена *AR*).

У одного мужчины с робертсоновской транслокацией установлено наличие полной делеции региона AZFc (del b2/b4) Y-хромосомы (табл. 4). Частичные микроделеции региона AZFc (del b2/b3, del gr/gr) выявлены у 6 (14,3 %) пациентов (от общего числа пациентов с транслокациями) и у 1 пациента с инверсией. Сочетание структурных перестроек хромосом и мутаций или аллели 5T гена *CFTR* выявлено у 3 (3,5 %) пациентов.

Таким образом, у пациентов с сочетанием хромосомных и генных мутаций выявлены преимущественно тяжелые формы патозооспермии (азооспермия, олигозооспермия тяжелой степени).

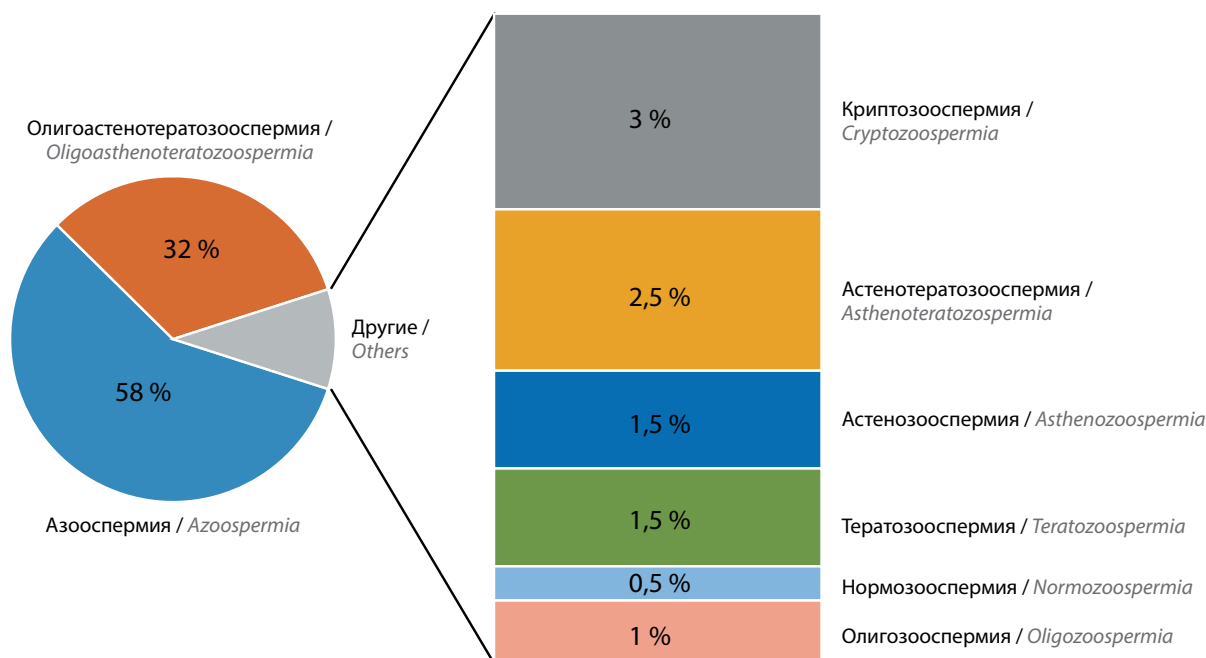
**Сперматологическая характеристика мужчин с нарушением репродуктивной функции, имеющих нормальный кариотип (3-я группа).** К данной группе отнесены пациенты, обратившиеся по поводу первичного бесплодия, у которых в ходе цитогенетического исследования не обнаружено хромосомных аномалий. В нее вошли 200 мужчин с различными формами патозооспермии или нарушения сперматогенеза и нормальным мужским кариотипом (46,XY).

В структуре спермиологических заключений у 186 (93 %) пациентов 3-й группы отмечена азооспермия, криптозооспермия или олигозооспермия тяжелой степени, у 13 (6,5 %) – астено-/тератозооспермия или олигозооспермия умеренной степени. У 1 пациента выявлена нормозооспермия (см. рисунок).

При молекулярно-генетическом исследовании у 56 (28,7 %) пациентов 3-й группы диагностированы различные генетические факторы мужского бесплодия (табл. 5). Полные делеции одного AZF-региона (a, b или c) обнаружены у 19 (34 %) мужчин 3-й группы. У 5 (9 %) пациентов выявлены делеции AZFb+c, в том числе у 1 – в сочетании вариантом IVS8-5T гена *CFTR* в гетерозиготном состоянии (см. табл. 5).

**Таблица 4.** Сочетание структурных хромосомных мутаций с генетическими нарушениями, связанными с нарушением фертильности у мужчин  
**Table 4.** Combinations of structural chromosomal mutations with genetic disorders associated with decreased fertility in men

Тип аномалии / генотип Anomaly type / genotype	Число пациентов Number of patients		Нарушения сперматогенеза Spermatogenesis disorders	Число пациентов Number of patients	
	абс. abs.	%		абс. abs.	%
Робертсоновская транслокация, полная делеция AZFc Robertsonian translocation, full (b2/b4) AZFc deletion	1	1,6	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	1	100
Робертсоновская транслокация, частичная делеция AZFc (del b2/b3) Robertsonian translocation, partial AZFc deletion (del b2/b3)	4	6,4	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	3	75
			Астенотератозооспермия Asthenoteratozoospermia	1	25
Робертсоновская транслокация, IVS8-5T вариант гена CFTR Robertsonian translocation, IVS8-5T CFTR gene variant	2	3,2	Астенозооспермия Asthenozoospermia	2	100
Реципрокная транслокация, частичная делеция AZFc (del b2/b3) Reciprocal translocation, partial AZFc deletion (del b2/b3)	2	3,2	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	2	100
Реципрокная транслокация, CFTR-мутация N1303K/- Reciprocal translocation, N1303K/-CFTR mutation	1	1,6	Азооспермия Azoospermia	1	100
Инверсия, частичная делеция AZFc (del b2/b3) Inversion, partial AZFc deletion (del b2/b3)	1	1,6	Не исследовали Not examined	—	—



**Спектр спермиологических нарушений у мужчин 3-й группы**  
**Spectrum of sperm disorders in men of group III**

**Таблица 5. Типы и частота генетических аномалий у пациентов с нормальным мужским кариотипом (3-я группа)**
**Table 5. Types and frequency of genetic anomalies in patients with normal male karyotype (group III)**

Тип аномалии / генотип Anomaly type / genotype		Число пациентов Number of patients		Тип патозооспермии Pathozoospermia type	Число пациентов Number of patients	
		абс. abs.	%		абс. abs.	%
Делеция AZFb+c AZFb+c deletion		5	9	Азооспермия Azoospermia	5	100
Делеция AZFa AZFa deletion		1	1,8	Азооспермия Azoospermia	1	100
Делеция AZFb AZFb deletion		4	3,6	Азооспермия Azoospermia	2	50
				Криптозооспермия Cryptozoospermia	2	50
Полная делеция AZFc Full AZFc deletion		14	2,6	Азооспермия Azoospermia	11	79
				Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	2	14
				Криптозооспермия Cryptozoospermia	1	7
Частичная делеция AZFc Partial AZFc deletion	del b2/b3	12	21	Азооспермия Azoospermia	7	58
				Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	5	42
	del gr/gr	8	14,3	Азооспермия Azoospermia	5	63
				Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	3	38
Мутация CFTR (F508del) CFTR mutation (F508del)		1	1,8	Азооспермия Azoospermia	1	100
IVS8-5T(5T/7T)		3	5,4	Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	3	100
Полная делеция AZFb+c, IVS8-5T (5T/7T) Full AZFb+c deletion, IVS8-5T(5T/7T)		1	1,8	Азооспермия Azoospermia	1	100
Частичная делеция AZFc (del b2/b3; del gr/gr), IVS8-5T(5T/7T) Partial AZFc deletion (del b2/b3; del gr/gr), IVS8-5T(5T/7T)		2	3,6	Азооспермия Azoospermia	1	50
				Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	1	50
Частичная делеция AZFc (del b2/b3), CAG = 30 Partial AZFc deletion (del b2/b3), CAG = 30		1	1,8	Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	1	100
IVS8-5T(5T/7T)	CAG = 33	2	3,6	Азооспермия Azoospermia	1	50
	CAG = 28			Олигоастенотератозооспермия Oligoasthenoteratozoospermia	1	50
Мутация CFTR, IVS8-5T CFTR mutation, IVS8-5T	F508del/5T	1	3,6	Азооспермия Azoospermia	1	100
	2184insA/5T	1		Азооспермия Azoospermia	1	100



**Таблица 6.** *Формы патозооспермии у мужчин с сочетанием различных генетических факторов мужского бесплодия (AZF, CFTR, AR)*  
**Table 6.** *Pathozoospermia forms in men with combinations of various genetic factors of male infertility (AZF, CFTR, AR)*

Тип патозооспермии Pathozoospermia type	Вид сочетания генетических факторов Type of genetic factors' combination					
	Числовые хромосомные аномалии, генные варианты, <i>n</i> = 21 Abnormal number of chromosomes		Структурные хромосомные аномалии, генные варианты, <i>n</i> = 10 Structural chromosomal anomalies, genetic mutations		Нормальный кариотип, генные варианты, <i>n</i> = 56 Normal karyotype, genetic mutations	
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
Азооспермия Azoospermia	19	90,5	1	10	37	66
Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени Severe oligoasthenoteratozoospermia	2	9,5	6	60	16	28,6
Астенотератозооспермия Asthenoteratozoospermia	—	—	1	10	3	5,4
Астенозооспермия Asthenozoospermia	—	—	2	20	—	—

У 1 (1,8 %) пациента диагностирована мутация F508del гена *CFTR*. Мутации в гене *CFTR* в компаунд-гетерозиготе с вариантом IVS8-5T выявлены у 2 (3,6 %) пациентов с обструктивной формой азооспермии (генотипы 2184insA/N,5T/7T и F508del/N,5T/9T). У 2 мужчин обнаружено сочетание варианта IVS8-5T гена *CFTR* и увеличенное количество CAG-повторов гена *AR* (генотипы *CFTR* 5T/7T; *AR* CAG<sub>n</sub> = 28 и *CFTR* 5T/7T; CAG<sub>n</sub> = 33).

Как можно видеть из табл. 5, среди генетических факторов (*AZF*, *CFTR* и *AR*) чаще всего отмечены микроделеции региона *AZFc*, выявленные у 23 (41 %) пациентов 3-й группы. У 3 мужчин определены частичные делеции региона *AZFc* (del b2/b3), которые сочетались у одного пациента с повышенным (*n* = 30) количеством CAG-повторов гена *AR*, а у 2 — с вариантом IVS8-5T гена *CFTR* в гетерозиготном состоянии. Сочетание нескольких различных генетических факторов, связанных с нарушением фертильности у мужчин, выявлено у 6 (10,7 %) пациентов 3-й группы.

В выявленных случаях сочетания генетических факторов мужского бесплодия во всех 3 группах преобладали тяжелые формы патозооспермии (азооспермия, олигоастенотератозооспермия тяжелой степени), которые выявлены соответственно у 100, 70 и 94,5 % пациентов 1, 2 и 3-й групп (табл. 6). У мужчин с сочетанием генетических факторов бесплодия не обнаружено изолированной тератозооспермии и нормозооспермии.

#### Обсуждение

В данном исследовании впервые изучены сочетания различных генетических факторов, связанных

с нарушением мужской фертильности (*AZF*, *CFTR*, *AR*), у мужчин с нормальным кариотипом и с хромосомными мутациями (с числовыми и структурными аномалиями).

В группе пациентов с числовыми аномалиями хромосом встречали частичные *AZF*-делеции, изменение количества CAG-повторов гена *AR* и не встречали полные делеции региона *AZF*, мутации в гене *CFTR*. У пациентов со структурными перестройками хромосом выявлены частичные *AZF*-делеции, мутации в гене *CFTR*, но не обнаружены «короткие» и «длинные» CAG-повторы гена *AR*. Это может указывать на то, что наличие у пациента 2 генетических причин мужского бесплодия (например, хромосомной мутации и полной делеции региона *AZF*) является случайным, встречается редко, и, очевидно, эти генетические факторы не зависят друг от друга.

У мужчин с бесплодием, не имеющих аномалий кариотипа, частота других исследованных генетических факторов, нарушающих сперматогенез (*AZF*, *CFTR* и *AR*), примерно в 2 раза превысила совокупную частоту данных факторов в группах пациентов с числовыми и структурными аномалиями хромосом. У пациентов с нормальным кариотипом сочетания микроструктурных перестроек Y-хромосомы и генных вариантов (в генах *CFTR* и *AR*) обнаружены чаще, чем у пациентов с хромосомными аномалиями. Сочетание 2 изменений в одном и том же факторе — мутации и аллели 5T в гене *CFTR* — может вызывать синдром CBAVD или обструктивную азооспермию.

Примечательно, что в структуре патозооспермии обследованных групп нами выявлено сходство.

В частности, азооспермию у мужчин с нормальным кариотипом и мужчин с хромосомными аномалиями регистрировали с одинаковой частотой – 58 %.

Наличие дополнительных генетических факторов, очевидно, существенно не влияло на тяжесть нарушения сперматогенеза у пациентов с синдромом Клайнфельтера, у которых в основном диагностирована азооспермия. У мужчин со структурными аномалиями чаще обнаруживали олигозооспермию тяжелой степени. Больше всего сочетаний генетических факторов, приводящих к тяжелым формам патозооспермии, выявлено у пациентов с нормальным кариотипом.

Наличия полной делеции AZF-региона(ов), мутаций в генах *AR* или *CFTR* достаточно для развития тяжелых генетически обусловленных форм мужского бесплодия, как правило первичного. Для данных микроделетций Y-хромосомы характерно тяжелое угнетение сперматогенеза, вплоть до синдрома наличия только клеток Сертоли и секреторной азооспермии, криптозооспермии или олигозооспермии тяжелой степени. Наличие в генотипе мутаций или аллели 5T в гене *CFTR* может приводить к развитию синдрома CBAVD, проявляющегося первичным бесплодием вследствие обструктивной формы азооспермии [6]. Следует подчеркнуть, что наличие частичных микроделетций AZFc-региона, только 1 мутации или аллели 5T гена *CFTR*, увеличенное или уменьшенное количество CAG-повторов в ге-

не *AR* не сами по себе вызывают мужское бесплодие, а только в сочетании с другими факторами, поскольку нарушение фертильности имеет мультифакторную этиологию. Их чаще отмечают у мужчин с тяжелыми формами патозооспермии, в частности с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени, однако они встречаются у мужчин с различной фертильностью и показателями спермограммы [3].

### Заключение

Данное исследование свидетельствует, что у пациентов с бесплодием может наблюдаться сочетание 2 и более разных генетических факторов, влияющих на мужскую фертильность. Подобные сочетания генетических факторов в генотипе (в частности, микроделетций Y-хромосомы, мутаций гена *CFTR* и увеличенного числа CAG-повторов гена *AR*) могут чаще встречаться у пациентов с бесплодием. Если они выявляются в комбинации друг с другом, это производит аддитивный эффект, усиливает негативное действие каждого, утяжеляет клинические (фенотипические) проявления. Дальнейшее изучение данного вопроса очень важно как для понимания причин мужского бесплодия, выбора адекватной тактики лечения, в том числе с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, так и для планирования профилактики генетических нарушений у потомства.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Skakkebaek N.E., Rajpert-De Meyts E., Buck Louis G.M. et al. Male reproductive disorders and fertility trends: influences of environment and genetic susceptibility. *Physiol Rev* 2016;96(1):55–97. DOI: 10.1152/physrev.00017.2015/ PMID: 26582516.
2. Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Черных В.Б. и др. Структура генетически обусловленных заболеваний органов репродуктивной системы. *Андрология и генитальная хирургия* 2011; (3):17–25. [Kurilo L.F., Sorokina T.M., Chernykh V.B. et al. Structure and pathogenesis of hereditary disorders of the human reproductive system organs. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2011;(3):17–25. (In Russ.)].
3. Черных В.Б., Руднева С.А., Сорокина Т.М. и др. Влияние CAG-полиморфизма гена андрогенового рецептора (*AR*) на сперматогенез у мужчин с бесплодием. *Андрология и генитальная хирургия* 2015;16(4):55–61. [Chernykh V.B., Rudneva S.A., Sorokina T.M. An influence of androgen receptor (*AR*) gene CAG-polymorphism on spermatogenesis in infertile men. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2015; 16(4):55–61. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2070-9781-2015-16-4-55-61.
4. Krausz C., Hoefsloot L., Simoni M., Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology* 2014;2(1):5–19. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x. PMID: 24357628.
5. Черных В.Б. AZF-делеции – частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований. *Проблемы репродукции* 2009;(1):10–5. [Chernykh V.B. AZF deletions as frequent genetic cause of male infertility: current state of study. *Problemy reproduktivnoy = Russian Journal of Human Reproduction* 2009;(1):10–5. (In Russ.)].
6. Черных В.Б., Степанова А.А., Бескоровайная Т.С. и др. Частота и спектр мутаций и IVS8-T-полиморфизма гена *CFTR* среди российских мужчин с бесплодием. *Генетика* 2010;46(6):844–52. [Chernykh V.B., Stepanova A.A., Beskorovainaya T.S. et al. The frequency and spectrum of mutations and the IVS8-T polymorphism of the *CFTR* gene in Russian infertile men. *Genetika = Russian Journal of Genetics* 2010;46(6):844–52. (In Russ.)].
7. Штаут М.И., Шилейко Л.В., Репина С.А. и др. Комплексное сперматологическое обследование пациентов с муковисцидозом. *Андрология и генитальная хирургия* 2017;18 (4):69–76. [Shtaut M.I., Schileiko L.V., Repina S.A. et al. Comprehensive semen examination in patients with cystic fibrosis. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2017;18(4):69–76. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-4-69-76.
8. Nenonen H.A., Giwercman A., Hallgren E., Giwercman Y.L. Non-linear association between androgen receptor CAG repeat length and risk of male subfertility – a meta-analysis. *Int J*

- Androl 2011;34(4):327–32. DOI: 10.1111/j.1365-2605.2010.01084.x. PMID: 20579136.
9. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 5-е изд., 2010 г. Пер. с англ. Н.П. Макарова. Науч. ред. Л.Ф. Курило. М.: Капитал Принт, 2012. [WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5<sup>th</sup> ed., 2010. Trans. from English by N.P. Makarova. Scientific ed. by L.F. Kurilo. Moscow: Kapital Print, 2012. (In Russ.)].
10. ISCN 2013: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Recommendations of the International Standing Committee on Human. Ed.: L.G. Shaffer, J. McGowan-Jordan, M. Schmid. Basel: Karger, 2013. 140 p.
11. Черных В.Б., Чухрова А.Л., Бескоровайная Т.С. и др. Типы делеций Y-хромосомы и их частота у мужчин с бесплодием. Генетика 2006;42(8):1130–6. [Chernykh V.B., Chukhrova A.L., Beskorovainaya T.S. et al. Types of Y chromosome deletions and their frequency in infertile men. Genetika = Russian Journal of Genetics 2006;42(8):1130–6. (In Russ.)].
12. Allen R.C., Zoghbi H.Y., Moseley A.B. et al. Methylation of HpaII and HhaI sites near the polymorphic CAG repeat in the human androgen-receptor gene correlates with X chromosome inactivation. Am J Hum Genet 1992;51(6):1229–39. PMID: 1281384.

### Вклад авторов

Н.Ю. Сафина: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, включая статистический, написание текста статьи;

Т.А. Яманди: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;

В.Б. Черных: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, включая статистический;

Л.В. Акуленко: разработка дизайна исследования;

С.В. Боголюбов: получение данных для анализа;

И.И. Витязева: получение данных для анализа;

О.П. Рыжкова: получение данных для анализа;

А.А. Степанова: получение данных для анализа;

Т.А. Адян: получение данных для анализа;

Е.А. Блинец: получение данных для анализа;

А.В. Поляков: разработка дизайна исследования.

### Authors' contributions

N. Yu. Safina: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, including statistics, article writing;

T.A. Yamandi: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data;

V.B. Chernykh: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, including statistics;

L.V. Akulenko: developing the research design;

S.V. Bogolyubov: obtaining data for analysis;

I.I. Vityazeva: obtaining data for analysis;

O.P. Ryzhkova: obtaining data for analysis;

A.A. Stepanova: obtaining data for analysis;

T.A. Adyan: obtaining data for analysis;

E.A. Bliznets: obtaining data for analysis;

A.V. Polyakov: developing the research design.

### ORCID авторов

Н.Ю. Сафина: <https://orcid.org/0000-0002-6236-0445>

Т.А. Яманди: <https://orcid.org/0000-0002-0347-7475>

В.Б. Черных: <https://orcid.org/0000-0002-7615-8512>

Л.В. Акуленко: <https://orcid.org/0000-0002-2959-0716>

С.В. Боголюбов: <https://orcid.org/0000-0003-1974-5005>

И.И. Витязева: <https://orcid.org/0000-0002-7916-02-12>

Т.А. Адян: <https://orcid.org/0000-0002-7714-9538>

А.В. Поляков: <https://orcid.org/0000-0002-0105-1833>

### ORCID of authors

N. Yu. Safina: <https://orcid.org/0000-0002-6236-0445>

T.A. Yamandi: <https://orcid.org/0000-0002-0347-7475>



V.B. Chernykh: <https://orcid.org/0000-0002-7615-8512>  
L.V. Akulenko: <https://orcid.org/0000-0002-2959-0716>  
S.V. Bogolyubov: <https://orcid.org/0000-0003-1974-5005>  
I.I. Vityazeva: <https://orcid.org/0000-0002-7916-02-12>  
T.A. Adyan: <https://orcid.org/0000-0002-7714-9538>  
A.V. Polyakov: <https://orcid.org/0000-0002-0105-1833>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.  
**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.  
**Financing.** The study was performed without external funding.

**Информированное согласие.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.  
**Informed consent.** All patients gave written informed consent to participate in the study.

**Статья поступила:** 10.02.2018. **Принята к публикации:** 25.02.2018.  
**Article received:** 10.02.2018. **Accepted for publication:** 25.02.2018.