

Делеция региона AZFb хромосомы Y у пациента с олигозооспермией: клиническое наблюдение и обзор литературы

Рыжков А.И.¹, Шорманов И.С.¹, Ворчалов М.М.¹, Соколова С.Ю.², Дыбин А.В.³, Черных В.Б.⁴

1 — Ярославский государственный медицинский университет
150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5

2 — Клиника «Мать и Дитя Ярославль»
150062, г. Ярославль, ул. 5-я Яковлевская, д. 17

3 — Ярославский областной перинатальный центр
150042, г. Ярославль, Тутаевское ш., д. 31в

4 — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»;
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1

Микроделеции хромосомы Y в локусе Yq11.2/AZF («фактор азооспермии») являются частой генетической причиной мужского бесплодия, связанного с азооспермией и олигозооспермией. Для делеций, целиком захватывающих регион AZFb, характерна азооспермия вследствие тяжелых нарушений сперматогенеза (блок профазы I мейоза, синдром «только клетки Сертоли»). При этом невозможно получить сперматозоиды, пригодные для искусственного оплодотворения ни из эякулята, ни из биоптата яичка. В статье представлены результаты обследования мужчины с первичным бесплодием и олигоастенотератозооспермией тяжелой степени, имеющего микроделецию Y-хромосомы в регионе AZFb. При стандартном цитогенетическом исследовании выявлен нормальный мужской кариотип (46,XY). Мультиплексная ПЦР выявила отсутствие локусов sY127, sY134 и sY142, что характерно для полных делеций AZFb. Хромосомный микроматричный анализ позволил установить, что делеция имела размер 3,5 млн п.н. и располагалась в локусах Yq11.222-q11.223 (20.583.738-24.094.882), частично захватывая регион AZFb. По-видимому, делеция возникла в результате несбалансированной рекомбинации ампликонов b1 и b5. В литературе описаны единичные случаи частичного сохранения сперматогенеза и олигозооспермии у мужчин с разными типами делеций AZFb. Представленное клиническое наблюдение и ранее описанные случаи частичного сохранения сперматогенеза у некоторых пациентов с микроделециями хромосомы Y свидетельствуют о возможности получения сперматозоидов, пригодных для ЭКО/ИКСИ, у некоторых пациентов с частичными и полными делециями AZFb и AZFb+c. В связи с этим, а также возможностью ложноположительных и/или неправильно определенных типов микроделеций хромосомы Y необходимо выполнять верификацию делеций AZF с определением их типа/подтипа.

Ключевые слова: азооспермия, олигозооспермия, мужское бесплодие, сперматогенез, Y-хромосома, микроделеции, локус AZF.

Для цитирования: Рыжков А.И., Шорманов И.С., Ворчалов М.М., Соколова С.Ю., Дыбин А.В., Черных В.Б. Делеция региона AZFb хромосомы Y у пациента с олигозооспермией: клиническое наблюдение и обзор литературы. *Медицинская генетика* 2021; 20(12): 40-52.

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.12.40-52

Автор для корреспонденции: Рыжков А.И., e-mail: 1129682@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ «МГНЦ» на выполнение НИР в 2021 году.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 01.12.2021.

AZFb region deletions of Y chromosome in oligozoospermic patient: clinical case and review

Ryzhkov A.I.¹, Shormanov I.S.¹, Vorchalov M.M.¹, Sokolova S.Y.², Dybin A.V.³, Chernykh V.B.⁴

1 — Yaroslavl State Medical University
5, Revolutsionnaya st., Yaroslavl, 15000, Russian Federation

2 — Mother and Child Clinic Yaroslavl
17, 5-ya Yakovlevskaya st., Yaroslavl, 150062, Russian Federation

3 — Yaroslavl Regional Perinatal Center
31v, Tutaevskoe shosse, Yaroslavl, 150018, Russian Federation

4 — Research Centre for Medical Genetic
1 Moskvorechie st., Moscow, 115522, Russian Federation

Y chromosome microdeletions in the AZF/Yq11.2 locus («azoospermia factor») are a common genetic cause of male infertility associated azoospermia and severe oligozoospermia. Complete AZFb region deletions are characterized by azoospermia due to severe

spermatogenesis defects (meiotic arrest at prophase I and Sertoli cell-only syndrome), while it is impossible to obtain sperm suitable for *in vitro* fertilization, neither from the ejaculate, nor from testicular biopsy. This article describes severe oligoasthenozoospermic patient with distal AZFb region deletion. According to the results of chromosome analysis, the patient had a normal male karyotype (46,XY). Multiplex PCR revealed an absence of sY127, sY134 и sY142 loci, that is characteristic for complete AZFb deletion. High-resolution array comparative genomic hybridization (arrayCGH) allowed to detect CNV (copy number variant) in Yq11.222-q11.223 loci, which is 3.5 Mb deletion (20.583.738-24.094.882), partially deleting the AZFb region. Apparently, the deletion occurred as a result of unbalanced recombination of amplicons b1 and b5. Few oligozoospermic men with various types of AZFb deletions have been reported in the literature. The presented case and previously reported patients with Y-chromosome microdeletions indicate the possibility of sperm retrieval of spermatozoa suitable for IVF/ICSI in some patients with complete and partial AZFb and AZFb+c deletions in partial preservation of spermatogenesis. In this regard, as well as the possibility of falsely positive and/or incorrectly defined AZF deletions, it is need to highly recommend to verify various deletions with the (sub)typing when Y chromosome microdeletions were detected.

Keywords: azoospermia, oligozoospermia, male infertility, spermatogenesis, Y chromosome, microdeletions, AZF locus.

For citation: Ryzhkov A.I., Shormanov I.S., Vorchalov M.M., Sokolova S.Y., Dybin A.V., Chernykh V.B. AZFb region deletions of Y chromosome in oligozoospermic patient: clinical case and review. *Medicinskaya genetika [Medical genetics]* 2021; 20(12): 40-52. (In Russ.)

DOI: 10.25557/2073-7998.2021.12.40-52

Corresponding author: Ryzhkov A.I., e-mail: 1129682@gmail.com

Funding. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 01.12.2021.

Введение

Микроделеции длинного плеча хромосомы Y являются самой частой генетической причиной мужского бесплодия, связанного с несиндромальными формами необструктивной азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени [1-9]. В среднем, делеции данного участка хромосомы Y обнаруживают у 8-10% мужчин с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени [10]. Микроделеции локуса Yq11.2 – «фактора азооспермии» (azoospermia factor, AZF) и несбалансированные цитогенетические аномалии с вовлечением длинного плеча хромосомы Y (делеции Yq, изохромосомы Yr, изодицентрические хромосомы Yr, кольцевые хромосомы Y, несбалансированные транслокации и др.) приводят к его полной или частичной потере [1-4, 6]. Согласно размеру и локализации делеций в данном локусе выделены три региона: AZFa, AZFb и AZFc [4]. Гены, расположенные в них, имеют тестис-специфичную экспрессию и необходимы для митотического и мейотического деления и созревания мужских половых клеток, а их потеря приводит к выраженному нарушению сперматогенеза, вплоть до синдрома «только клетки Сертоли» [1-3, 10]

Делеции в локусе AZF могут захватывать один, два или все три его региона, например, делеции AZFc, AZFb+c и AZFa+b+c, соответственно. Их подразделяют на полные делеции, при которых целиком утрачивается один AZF регион или более, и частичные делеции, которые не полностью захватывают какой-либо регион [1-3, 6-8]. Почти все полные делеции AZF являются мутациями *de novo* и не наследуются в связи

с мужской инфертильностью [6-9]. В основе их образования лежат механизмы, связанные с несбалансированной генетической рекомбинацией высоко гомологичных (>99%) нуклеотидных последовательностей (неаллельной гомологичной рекомбинацией – NAHR) [1-3, 11-14]. Эти повторяющиеся последовательности ДНК фланкируют границы делетируемых регионов, поэтому большинство одинаковых типов (подтипов) AZF-делеций имеет одинаковые или схожие размеры и генный состав (рекуррентные делеции). Наличие в эухроматиновой области длинного плеча хромосомы Y восьми палиндромов (P1-P8) и других протяженных повторов предрасполагает к возникновению сбалансированных (инверсии) и несбалансированных (делеции и дупликации) микроструктурных перестроек – вариаций числа копий (CNV) [15].

Наиболее частым типом полных делеций являются делеции региона AZFc или делеции b2/b4 (около 65-70% всех микроделеций хромосомы Y), на втором месте – делеции AZFb+c (15-20%), реже обнаруживают делеции регионов AZFa и AZFb (5-10%) [6, 16, 17]. Делеции AZFa+b+c в большинстве случаев обусловлены потерей всего длинного плеча хромосомы Y, и чаще всего являются следствием 46,XX тестикулярной формы нарушения формирования пола, не являясь собственно ни микроделециями, ни делециями хромосомы Y. Многие делеции AZFb+c обусловлены несбалансированными цитогенетическими аномалиями хромосомы Y (терминальными Yq делециями, изоцентрическими, кольцевыми хромосомами) [3, 6].

Для «классических» (полных) типов микроделеций AZF характерна определенная зависимость тяжести нарушения сперматогенеза от типа делеции. Так, у 50-70% пациентов с полными делециями региона AZFc сперматогенез частично сохранен, и сперматозоиды могут быть получены из эякулята или при тестикулярной биопсии [16-19]. Потеря всего длинного плеча хромосомы Y, а также полные (целиком захватывающие локус Yq11.2/AZF) делеции регионов AZFa и/или AZFb приводят к выраженному нарушению сперматогенеза, вплоть до синдрома «только клетки Сертоли» [3-8]. Наличие данных типов микроделеций хромосомы Y, а также отсутствие всего локуса AZF являются негативными прогностическими факторами для получения сперматозоидов из эякулята или при биопсии [16-20].

Регион AZFb своей дистальной частью перекрывается с проксимальной частью региона AZFc (**рисунок**).

Данная область хромосомы Y содержит 24 гена, большинство из которых присутствует в нескольких копиях, в общем количестве насчитывая 46 копий [14, 16]. При полной делеции региона AZFb, которая является результатом гомологичной рекомбинации между палиндромами P5 и проксимальной частью палиндрома P1, утрачивается область размером 6,23 млн п.н., содержащая 32 копии генов и единиц транскрипции [1-14].

Для мужчин с делециями, целиком захватывающими регион AZFb, характерно наличие азооспермии, криптозооспермии и крайне редко – олигозооспермии тяжелой степени с количеством сперматозоидов менее 0,5 млн [12, 20-24]. Делеции, целиком захватывающие регион AZFb, в большинстве случаев характеризуются гистологической картиной блока сперматогенеза на допахитенных стадиях и в пахитене профазы I мейоза, реже наличием синдрома «только

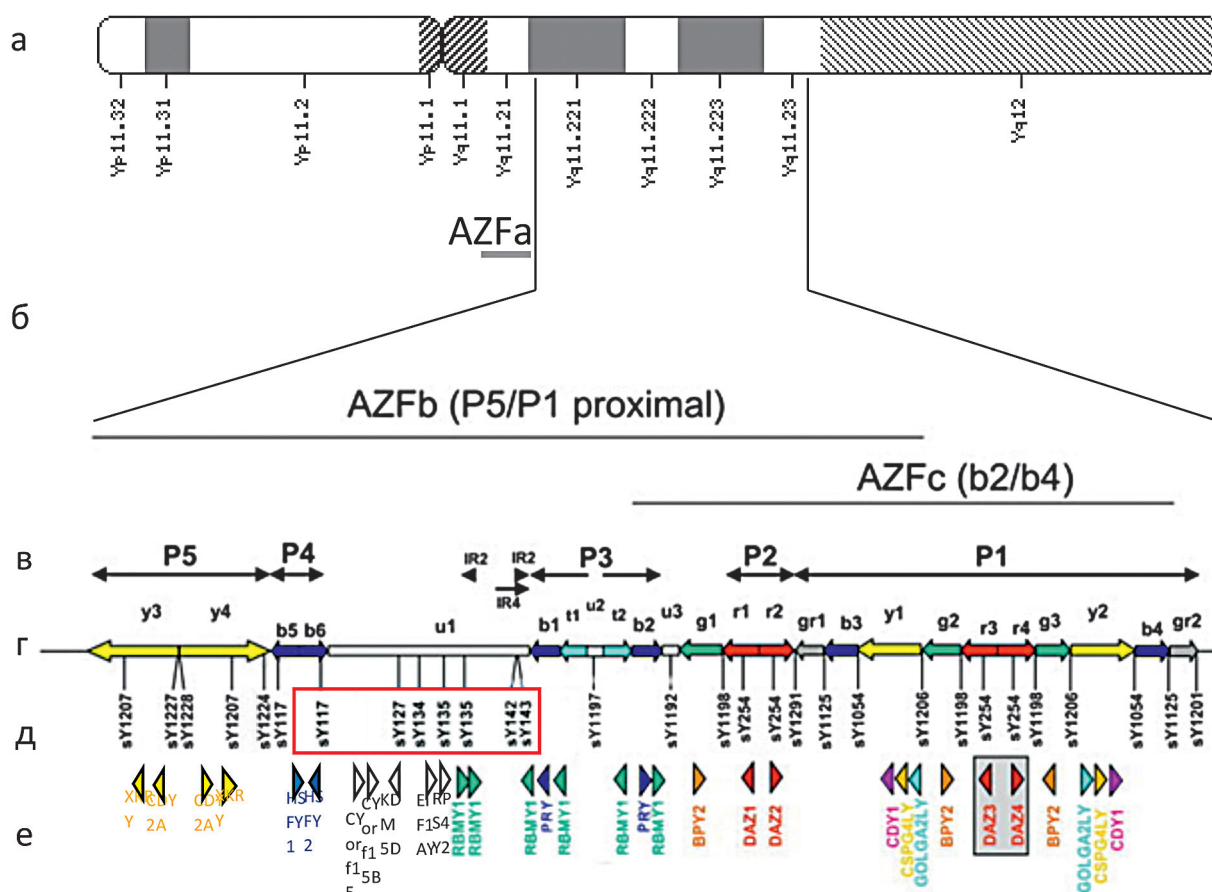


Рисунок. Идеограмма хромосомы Y человека с указанием регионов AZF, палиндромов, STS-маркеров и генов. Сверху вниз: а – идеограмма хромосомы Y человека с указанием локусов, б – регионы AZFa, AZFb и AZFc; в – палиндромы и инвертированные повторы; г – карта ампликонов (P1-P5), д – STS-маркеры, е – локализация генов в соответствии с референсной последовательностью хромосомы Y. Делетированный участок региона AZFb (sY127-sY143) у пациента P. обведен красным прямоугольником. Локусы палиндroma P4 (sY117) не исследовали методом ПЦР, но по результатам XMA делеция захватывает палиндром P4.

клетки Сертоли» [19, 24]. В связи с аплазией герминативного эпителия в извитых семенных канальцах у пациентов с полными делециями AZFb не удается получить сперматозоиды из эякулята или биоптата яичка, в том числе методом microTESE [16-18]. Тем не менее, описаны случаи частичного сохранения сперматогенеза по данным гистологического исследования и анализа незрелых половых клеток (из эякулята или биоптата тестикул) у некоторых пациентов с делециями региона AZFb [21-24]. В литературе описаны единичные пациенты с разными типами делеций AZFb, имевшие олигозооспермию, в том числе как ее тяжелую, так и нетяжелую формы. Так как в ряде этих случаев не было проведено уточнение границ делеции/картирование точек разрыва, возможно, что некоторые из них могли быть обусловлены неполными делециями региона AZFb.

В данной статье приводится описание клинического наблюдения пациента с мужским бесплодием и олигозооспермией, у которого обнаружена делеция дистальной части региона AZFb.

Клиническое наблюдение

Пациент Р., 34 г., обратился за медицинской помощью в связи с отсутствием беременности у супруги. Супруги в браке 2 года, половая жизнь регулярная, без использования контрацепции. Обследование супруги пациента не выявило каких-либо заболеваний и патологических состояний, препятствующих наступлению беременности. В анамнезе пациента не отмечено каких-либо факторов, которые могли оказать влияние на фертильный статус. Результаты двукратного спермиологического исследования обнаружили олигоастератозооспермию тяжелой степени: объем эякулята — 5,5 и 7,0 мл, концентрация сперматозоидов составила 0,2 и 0,4 млн/мл, количество подвижных сперматозоидов — 0%, общее количество сперматозоидов в эякуляте — 1,1 и 2,8 млн, соответственно, количество морфологически нормальных форм составило 1% в обоих исследованиях. Ультразвуковое исследование органов мошонки не обнаружило патологических изменений, оба яичка имели нормальный объем (по 14 мл). Гормональные исследования не выявили отклонений уровней гонадотропных гормонов (ФСГ, ЛГ) и тестостерона от нормативных значений.

После выявления генетической причины мужского бесплодия с пациентом обсуждены возможные методы решения проблемы, необходимость использования вспомогательных репродуктивных технологий, а также 100% вероятность передачи микроделеции хромосомы Y потомку мужского пола. Для решения проблемы

репродукции супружеской паре предложено проведение программ ЭКО/ИКСИ в сочетании с преимплантационной генетической диагностикой с отбором эмбрионов по полу. Пара приняла решение использовать донорскую сперму, в связи с чем экстракорпоральное оплодотворение с собственными гаметами не проводилось.

По данным стандартного цитогенетического исследования, выполненного на культивированных лимфоцитах периферической крови с использованием GTG-окрашивания, кариотип пациента определен как нормальный мужской (46,XY).

Поиск микроделеций хромосомы Y выполнен методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (мПЦР) с использованием набора STS-маркеров, рекомендованных Европейской ассоциацией андрологов (ЕАА) и Европейской сетью по контролю качества молекулярно-генетических исследований (EMQN) [25, 26]. Исследован следующий набор маркеров: *SRY* (Yp11.2) и *ZFX/ZFY* (Xp22.11/Yp11.2), sY84, sY86, sY615 (AZFa), sY127, sY134, sY142, sY1197 (AZFb), sY254, sY255, sY1291, sY1206, sY1125 (AZFc). По результатам мПЦР у пациента обнаружена делеция дистальной части региона AZFb с отсутствием маркеров sY127, sY134 и sY142 (рисунок). Дистальная точка разрыва располагалась в области проксимальной границы региона AZFc между локусами (STS-маркерами) sY142(-) и sY1197(+), проксимальная точка разрыва — между локусами sY615(+) и sY127(-).

С целью уточнения границ обнаруженной микроделеции Y-хромосомы проведен расширенный хромосомный микроматричный анализ (ХМА) — сравнительная геномная гибридизация на чипах (array-CGH). Молекулярный кариотип по результатам ХМА (в соответствии с Международной системой цитогеномной номенклатуры — ISCN 2020): arr[GRCh37]Yq11.222q11.223(20583738_24094882)×0. Таким образом, у пациента в длинном плече хромосомы Y обнаружена интерстициальная делеция размером 3511144 п.н., захватывающая локусы Yq11.222-q11.223 (дистальная часть региона AZFb) с точками разрыва: проксимальная граница делеции — 20.583.738 п.н., дистальная граница делеции — 24.094.882 п.н. Согласно данным ХМА делеция привела к потере генов *HSFY*, *CD24*, *TXLNGY*, *KDM5D*, *EIF1AY*, *RPS4Y2* и *RBM1A1* (таблица). Учитывая количество и состав утраченных генов хромосомы Y, очевидно, что данная микроделеция является патогенной. Хотя ее происхождение не удалось подтвердить, так как генетическое обследование отца пробанда не было выполнено в связи с недоступностью биологического материала, вероятно, данный вариант возник *de novo*.

Обсуждение

Тип (микро)делеций хромосомы Y в значительной мере определяет наличие и выраженность патозооспермии, нарушения сперматогенеза и мужской фертильности. Это обусловлено различиями в количестве утрачиваемых в результате делеций генов (или их копий), имеющих тестис-специфичную экспрессию и необходимых для деления и созревания мужских половых клеток. Так, делеции длинного плеча, целиком захватывающие регионы AZFa или AZFb, а также более протяженные — полные делеции AZFb+c и делеции всего локуса Yq11.2 (AZFa+b+c), характеризуются наличи-

ем необструктивной азооспермии вследствие тяжелого нарушения сперматогенеза — отсутствия сперматогенного эпителия в извитых семенных канальцах тестикул — синдрома «только клетки Сертоли» [3-6, 19-24].

Для полных («классических») делеций AZF их границы, размеры и генный состав одинаковы или очень схожи. Секвенирование хромосомы Y и картирование точек разрыва у пациентов с делециями AZF позволило установить, что механизмом их возникновения является неаллельная гомологичная рекомбинация, которая часто возникает между гомологичными участками протяженных повторов с идентичностью нуклеотидной последовательности более 99,9% [1, 13-15]. Наличие

Таблица 1

Гены хромосомы Y, отсутствующие в результате обнаруженной делеции AZFb, их характеристика и роль в сперматогенезе

Ген	Название гена	Локус	Функция белкового продукта	Роль в сперматогенезе
<i>HSFY1</i>	Heat shock factor, Y linked	Yq11.222	Транскрипционный фактор семейства активаторов транскрипции белков теплового шока (HSP)	Регулятор сплайсинга, необходимый для сперматогенеза
<i>CD24 (CD24P4)</i>	Cluster of differentiation 24 (CD24 molecule pseudogene 4)	Yq11.222	Псевдоген аутосомного гена <i>CD24</i> (локус 6q21). Белок клеточного рецептора — антиген CD24, лиганд для молекулы Р-селектина. Участвует в регуляции клеточной пролиферации и клеточно-клеточного взаимодействия и адгезии	Неизвестна
<i>TXLNGY (CYorf15A, CYorf15B)</i>	Taxilin Gamma Pseudogene, Y-Linked	Yq11.222-q11.223	Псевдоген X-сцепленного гена <i>TXLNG (CXorf15)</i>	Неизвестна
<i>KDM5D (SMCY)</i>	Lysine-specific demethylase 5D	Yq11.223	Белок-фермент, содержащий домен цинковых пальцев. Короткий пептид, производный от данного протеина, является Н-У антигеном гистосовместимости, который может привести к отторжению мужских донорских клеток у женщины-реципиента	Вовлечен в регуляцию конденсации хроматина в незрелых мужских половых клетках
<i>EIF1AY</i>	Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A, Y-linked	Yq11.223	Белок, гомологичный эукариотическому фактору инициации трансляции 1A (EIF1A), участвующий в инициации трансляции. Контролирует стабилизацию связывания экпированного 5'-конца матричной РНК с 40S субъединицами рибосом. Имеет X-сцепленный гомолог (<i>EIF1AX</i>)	Регуляция экспрессии генов в сперматогенных клетках на уровне трансляции
<i>RPS4Y2</i>	Ribosomal protein S4, Y-linked	Yq11.223	Кодирует белок S4, структурный компонент 40S субъединицы рибосом, необходимый для связывания матричной РНК с компонентами рибосомы.	Регуляция экспрессии генов в сперматогенных клетках на посттрансляционном уровне
<i>RBMV1</i>	RNA-binding motif, Y-linked	Yq11.223	Белок, содержащий РНК-связывающий мотив в N-концевой области и четыре SRGY бокса в C-концевой области	Сплайсинг и метаболизм РНК, передача клеточных сигналов и регуляция мейоза

в эухроматиновой области длинного плеча хромосомы Y пяти протяженных палиндромов (P1-P5) с большим количеством ДНК-повторов и ампликонов, располагающихся в регионах AZFb и AZFc, предрасполагает к высокой частоте рекомбинаций между ними [15]. Полные делеции региона AZFb имеют размер 6,23 млн п.н. и возникают в результате рекомбинации между гомологичными блоками размером 925 п.н. и 92 т.п.н., располагающимися в палиндроме P5 и в палиндроме P1.2 соответственно [13, 14]. В результате данных микроделеций Yq11.2 утрачиваются следующие белок-кодирующие гены: *EIF1AY*, *HSFY* (2 копии), *PRY* (2 копии), *RBMY1* (5-6 копий), *RPS4Y*, *SMCY* (*KDM5B* или *JARID1D*), по одной копии генов *CDY2* и *XKRY*, расположенных в дистальном ампликоне *yel*(yellow)4 палиндрома P5, а также часть генов региона AZFc, локализованных в дистальном участке AZFb, частично перекрывающемся с проксимальной частью региона AZFc (размером 2,3 млн п.н.): *BPY1* (1 копия); *DAZ* (2 копии), *CDY1* (1 копия) [12-14].

В представленном нами случае делеция возникла в результате несбалансированной неаллельной гомологичной рекомбинации между последовательностями ампликонов b(blue)5/6 и b(blue)3/2, расположенных в палиндромах P4 и P3, соответственно. Частичные делеции региона AZFb встречаются реже полных. Некоторые из них, так же как частичные делеции региона AZFc, могут быть полиморфными вариантами – непатогенными вариантами числа копий (CNV). Они располагаются в различных областях (проксимальной, средней или дистальной) данного региона и имеют различный генный состав и размер (от нескольких сотен до 5 млн п. н.). Делеции в проксимальной части региона AZFb захватывают плечи палиндромов P5 и/или P4, делеции в дистальной его части полностью или частично удаляют палиндромы P2 и/или P3, а также проксимальную часть палиндрома P1. Согласно результатам ХМА область делеции включает в себя гены *HSFY1*, *CD24*, *TXLNGY*, *KDM5D*, *EIF1AY*, *RPS4Y2* и *RBMY1A1*. Краткая информация о функции и роли в сперматогенезе утраченных генов представлена в таблице.

В представленном нами случае в результате частичной делеции региона AZFb были утрачены три однокопийных гена (*EIF1AY*, *RPS4Y2*, *KDM5D*), псевдогены *CD24*, *TXLNGY*, а также копии генов *HSFY* и *RBMY1*.

Ген *HSFY* локализован в палиндроме P4 хромосомы Y и представлен в двух копиях (*HSFY1* и *HSFY2*), располагающихся в ампликонах b5 и b6 соответственно [24, 25]. Первичный транскрипт, кодируемый геном *HSFY*, подвергается альтернативному сплайсингу, образуя три варианта зрелых транскриптов, имеющих различные паттерны экспрессии [26]. У человека

HSFY экспрессируется в клетках Сертоли и незрелых мужских половых клетках (сперматогониях, сперматocyтах I на стадии зиготены, продолговатых сперматидых). Вероятно, он подавляет экспрессию белков теплового шока (HSP), которые являются одними из факторов регуляции транскрипции, в сперматогенных клетках [27]. Сниженная экспрессия гена *HSFY* может быть связана с нарушением созревания мужских половых клеток [28, 29]. Vinci G с соавт. обнаружили у мужчин с азооспермией частичную делецию региона AZFb, затрагивающую только функциональные копии гена *HSFY* [30]. При обследовании 1186 мужчин из супружеских пар с бесплодием у четырех мужчин (трех с олигозооспермией и одного с азооспермией) детектирована делеция проксимальной области региона AZFb размером 768 т.п.н., которая захватывала палиндром P4 и привела к потере обеих копий гена (*HSFY1* и *HSFY2*). Данная делеция не была выявлена в контрольной группе из 1179 здоровых мужчин [31]. Эти данные указывают на то, что данная частичная делеция AZFb является патогенной и экспрессия гена *HSFY* является важной, но не абсолютно необходимой для сперматогенеза.

Ген *CD24* кодирует гликозилированный белок-рецептор CD24, располагающийся на клеточной поверхности, функционирующий как молекула адгезии и участвующий в регуляции клеточной пролиферации и клеточно-клеточного взаимодействия [27, 32, 33]. Известно, что в сперматогенных клетках уровни экспрессии мРНК и белка CD24 изменяются динамически. В дифференцирующихся мужских половых клетках, особенно в сперматидых поздних стадий и в сперматозоидах, его экспрессия высока, тогда как она отсутствует или менее выражена на ранних стадиях их развития [34]. Предполагается, что изменение экспрессии CD24 может быть связано с нарушением созревания мужских половых клеток у пациентов с блоком (арестом) сперматогенеза в профазе I мейоза [27].

Ген *TXLNGY* является псевдогеном X-сцепленного гена *TXLNG*, о его функции практически ничего не известно [30]. В регионе AZFb располагаются две его копии (*CYorf15A* и *CYorf15B*), транскрибируемые в сперматогенных клетках, функциональная значимость которых не ясна.

Ген *KDM5D* (*SMCY*) имеет общеклеточную экспрессию и кодирует гистон H3 лизин 4 (H3K4) деметилазу, которая образует белковый комплекс с MSH5 фактором репарации ДНК в сперматогенных клетках [31, 35]. Данный комплекс локализуется в конденсированной ДНК в сперматocyтах на стадиях лептотены/зиготены, что предполагает его участие в контроле прохождения мейоза и ремоделировании хромати-

на в созревающих мужских половых клетках. Белок KDM5D участвует в конденсации хроматина в сперматогенных клетках, деметилируя гистон H3K4. Вероятно, нарушение его функции, например, при делециях региона AZFb, может быть причиной остановки созревания сперматоцитов в профазе I мейоза. Делеции региона AZFb, которые бы захватывали только ген *SMCY* (*KDM5D*), не обнаружены у мужчин с бесплодием [24]. У самцов-мышей делеции гена *Kdm5d* не приводят к бесплодию [36].

Ген *EIF1AY* кодирует Y-специфическую изоформу белка eIF1A (фактор инициации трансляции 1A у эукариот), которая обеспечивает стабилизацию связывания MettRNA инициатора с 40S субъединицами рибосом [37]. Ген *EIF1AY* и его X-сцепленный гомолог ген *EIF1AX* транскрибируются во всех тканях, при этом отмечен высокий уровень экспрессии в клетках тестикул [38]. Отсутствие экспрессии гена *EIF1AY* связано с необструктивной азооспермией [39]. Vernet и соавт. продемонстрировали, что остановка развития сперматогониев у самцов мышей *XSxrbO* может быть преодолена путем добавления человеческого гена *EIF2S3Y*, гомологичного гену *EIF1AY* [40]. Эти данные указывают на консервативность функции гена *EIF1AY* и его важную роль в сперматогенезе у человека и других млекопитающих.

Ген *RPS4Y2* кодирует белок S4 рибосом (компонент субъединицы 40S) и экспрессируется в предстательной железе и яичках. В отличие от него, его X-сцепленный гомолог ген *RPS4X* имеет обще клеточную экспрессию, т.е. транскрибируется во всех органах и тканях [41]. У млекопитающих белок S4, входящий в состав рибосом, расположен на границе раздела между малой и большой субъединицами рибосом и взаимодействует с фактором инициации трансляции eIF-3, по-видимому, также контролируя экспрессию генов в клетках тестикул [42]. Экспрессия гена *RPS4Y2* тестикулярной ткани пациентов, имеющих obstructивную форму азооспермии, т.е. с сохраненным сперматогенезом, примерно в 4 раза выше, чем у пациентов с необструктивной азооспермией [41]. В связи с этим предполагается, что ген *RPS4Y2* играет определенную роль в регуляции сперматогенеза, однако точные патогенетические механизмы и фенотипические нарушения мужской фертильности при его отсутствии не установлены. Делеции, которые захватывают только ген *EIF1AY* или ген *RPS4Y2*, не описаны [24].

Ген *PRY* находится на границе делеции, обнаруженной у описанного пациента. В норме он представлен в двух копиях, располагающихся в ампликонах b1 и b2 палиндрома P3 хромосомы Y [13-15]. Его белковый продукт представляет собой фосфатазу, обнару-

женную в сперматиде и сперматозоидах, при этом увеличение (от 1,5 до 51,2%) количества гамет, в которых обнаружена ее экспрессия, позитивно коррелирует с повышенной деградацией ДНК. По-видимому, он вовлечен в процесс апоптоза мужских половых клеток [43]. Потеря обеих копий гена *PRY* возникает в результате некоторых несбалансированных структурных аномалий хромосомы Y и микроделеций ее длинного плеча, целиком захватывающих палиндром P3, например, при полных делециях AZFb, полных и неполных делециях AZFb+c. У представленного в данной статье пациента, по-видимому, присутствовали обе копии гена *PRY*. Возможно, это, а также сохранение части копий гена *RBMY1*, способствовало частичному сохранению сперматогенеза, о котором свидетельствует обнаружение олигозооспермии в раннем сперматологическом исследовании у пациента.

Ген *RBMY1* кодирует РНК-связывающий белок, имеющий тестис-специфическую экспрессию, который участвует в регуляции транскрипции в процессах дифференцировки мужских половых клеток (главным образом, в сперматогониях и в сперматоцитах ранних стадий развития). Белок RBMY, взаимодействуя с другими белковыми комплексами (9G8, SRp20, SRp30c и TRA-2 β), действует как ингибитор активности сплайсинга мРНК [44, 45]. Множество копий данного гена расположены на хромосоме Y, но большинство копий данного локуса являются псевдогенами [15, 46]. Вероятно, только 6 копий в регионе AZFb (располагающихся в палиндроме P3 и ампликоне u1) обладают высокой степенью гомологии и имеют полноразмерные открытые рамки считывания, поэтому являются функциональными [14, 15]. У обследованного нами пациента не оценивалось точное количество копий, но по данным ХМА и ПЦР, вероятно, половина функциональных копий была утрачена в результате делеции. Из-за многокопийности определение наличия/отсутствия отдельных копий генов *RBMY1* или *PRY* затруднено и требует проведения анализа специфичных для них однонуклеотидных вариантов (SNV). Число копий гена *RBMY1* у здоровых (фертильных) мужчин варьирует от 2 до 10, при этом имеет место положительная корреляция количества подвижных сперматозоидов и количества его копий [47]. Среди мужчин с количеством копий от 2 до 5 повышена частота астенозооспермии по сравнению с мужчинами, имеющими 6 копий гена (наиболее распространенный вариант числа копий данного гена). Вероятно, что утрата всех копий гена *RBMY1* приводит к мейотическому блоку и обуславливает нарушение сперматогенеза и мужское бесплодие при полных делециях AZFb [46]. Показано, что влияние экспрессии гена *RBMY1* на подвижность спер-

матозоидов опосредовано действием кодируемого им белка на функцию кальциевых каналов и везикул эндоплазматического ретикулума, обеспечивающих гиперактивацию сперматозоидов [47]. Другой механизм влияния белка RBMY1 на подвижность сперматозоидов обусловлен способностью связываться с гликогенсинтазой 3 β (Gsk3 β), ингибируя ее ферментативную функцию [48]. Ряд исследователей указывает на обратную зависимость подвижности сперматозоидов от активности GSK3 β [49, 50].

Выраженность гистологических изменений сперматогенного эпителия (синдром «только клетки Сертоли», блок сперматогенеза или гипосперматогенез), обнаруживаемых у мужчин с микроделециями хромосомы Y, определяет тяжесть патозооспермии (азооспермия или олигозооспермия) и возможность получения сперматозоидов для процедуры ЭКО/ИКСИ. Почти у всех мужчин с полными делециями региона AZFb отмечают азооспермию или криптозооспермию, при этом у них практически невозможно получить зрелые сперматозоиды, пригодные для ЭКО/ИКСИ как из эякулята, так и при биопсии яичка или его придатка. У большинства пациентов, имеющих различные варианты неполных (частичных) делеций AZFb, форма патозооспермии варьирует от умеренной и тяжелой олигозооспермии до азооспермии, а тяжесть нарушения сперматогенеза — от гипосперматогенеза до блока профазы I мейоза и синдрома «только клетки Сертоли» [17–20].

В литературе описаны единичные наблюдения мужчин с полными (или расцененными авторами как полные) делециями AZFb и AZFb+c, у которых обнаружено частичное сохранение сперматогенеза, в том числе и отсутствие азооспермии. Так, Stouffs с соавт. сообщили о двух пациентах с олигозооспермией, у которых были обнаружены делеции AZFb [21]. У обоих пациентов дистальная граница делеции была картирована между локусами sY143 и sY1192. Проксимальная граница в одном случае располагалась между локусами sY109 и sY124, в другом случае отсутствовали локусы sY97, sY102 и sY105, т.е. проксимальная граница делеции находилась между регионами AZFa и AZFb [21]. Soares с соавт. описали пациента с крайне тяжелой формой олигозооспермии (концентрация сперматозоидов менее 0,002 млн/мл), имеющего делецию AZFb с проксимальной границей между локусами sY1207 и sY1227 и дистальной границей между локусами sY1192 и TTTY3. Четыре цикла ЭКО/ИКСИ не привели к наступлению беременности, поэтому супружеская пара прибегла к программе ЭКО с донорскими сперматозоидами [22]. Zhang с соавт. сообщили о пациенте с олигоастенозооспермией тяжелой степе-

ни, имевшем делецию региона AZFb с потерей локусов (STS-маркеров) sY121, sY127, sY134 и sY143. В этом случае проксимальная граница делеции располагалась между локусами sY105 и sY121, дистальная — между локусами sY143 и sY153, и авторы оценили ее как полную AZFb делецию. Точка разрыва, по-видимому, располагалась в области палиндрома P5 или P4, однако наличие их генов не оценивалось. Проведение программы ЭКО/ИКСИ с собственными сперматозоидами позволило получить беременность у супруги, которая закончилась рождением ребенка [23].

Описанный нами вариант неполной делеции AZFb с дистальной границей между маркерами sY143 и sY1197 похож на одного из пациентов, описанных Stouffs с соавт., а также пациента AZFG189, недавно сообщенного в работе Vogt и соавт. [24]. В последнем случае делеция имела размер 4,45 млн п.н. и ее проксимальная точка разрыва располагалась в области спейсера между ампликонами b5 и b6, а дистальная точка разрыва — в ампликоне t1 палиндрома P3. Делеция, обнаруженная в представленном клиническом случае, также была вызвана рекомбинацией между палиндромами P5 и P3 [24].

В редких случаях у пациентов с делециями AZFb+c обнаруживают не азооспермию, а олигозооспермию, при этом тяжесть нарушения сперматогенеза может нарастать с возрастом. Так, Longepied с соавт. описали мужчину 30 лет с первичным бесплодием и олигозооспермией тяжелой степени — 1 млн/мл (по данным исследования одного образца эякулята) и азооспермией (в других образцах эякулята, сданных с интервалом в 1 год), у которого обнаружена делеция региона AZFb и большей части региона AZFc — делеция P5/distal P1 [25]. Впоследствии при проведении тестикулярной биопсии не удалось получить сперматозоиды, пригодные для процедуры ЭКО/ИКСИ, поэтому пара прибегла к использованию донорской спермы. Используя антитела к белку SYCP3 — основному компоненту синаптонемного комплекса (СК), авторам удалось оценить прохождение мейоза. Из 69 ядер сперматоцитов нормальное формирование СК отмечено только в трех (4%) ядрах половых клеток, которые находились на стадии ранней пахитены профазы I мейоза, в остальных 96% ядер сперматоцитов отмечены дефекты СК, при этом наиболее частой аномалией была его фрагментация или пульверизация. Авторы отметили, что в ядрах сперматоцитов не обнаружено асинопсиса, который характерен для мейотического блока при полных делециях AZFb [25].

У пациентов с делециями региона AZFb, сообщенных Zhang с соавт., при анализе микроделений хромосомы Y точки разрыва не картировались, при

этом оценивалось наличие локуса sY143, но не локуса sY1192, являющегося проксимальной границей региона AZFc и делетируемого при его полной делеции (b2/b4) [23]. В работе Longepied с соавт. локусы sY1192 и sY143 не исследовали [25], поэтому нельзя исключить, что представленный в нашем наблюдении и описанный ранее Stouffs тип делеции региона AZFb сходны с пациентами, описанными в работах Zhang и Longepied. В работе Soares с соавт., sY1192 отсутствовал и, хотя sY143 не исследовали, вероятно, этот локус также был делетирован [22]. Область между маркерами sY142 и sY1197 (21.831.728–22.377.923 п.н. сборка генома человека GRCh37) составляет 546 т.п.н. В этом участке расположено три копии тестис-специфических генов семейства *RBMY* и одна копия гена *PRY*. Кроме того, между sY1197 и «стандартной» дистальной границей региона AZFb (т.е. проксимальным плечом палиндрома P1) расположены несколько других генов, среди них гены *BPY2*, *DAZ1* и *DAZ2*. Делеции в палиндроме P3 (делеции P3a–d) и области перекрытия регионов AZFb и AZFc (ранее называемые делециями «AZFd») могут иметь разный размер и генный состав. Зачастую данные делеции являются микроделеционными полиморфизмами — вариантами хромосомы Y, которые могут наследоваться и встречаться, как у мужчин с бесплодием, так и у здоровых (фертильных) мужчин [26, 51].

Представленный клинический случай и другие случаи частичных («неклассических») делеций региона AZFb свидетельствуют, что при некоторых типах делеций данного региона хромосомы Y, в том числе патогенных, пациенты могут иметь частично сохраненный сперматогенез. Некоторые пациенты с делециями AZFb, в том числе с захватом всех копий генов *RBMY* и *PRY*, могут иметь олигозооспермию и шансы на успешное решение проблемы бесплодия с помощью процедуры ЭКО/ИКСИ с использованием собственных гамет. По-видимому, частичное сохранение сперматогенеза в представленном случае обусловлено сохранением части копий проксимальной области региона AZFc (*RBMY*, *PRY2* и *DAZ*), потеря которых имеет место при полных типах делеций AZFb и AZFb+c. Кроме того, следует учитывать, что на выраженность нарушений сперматогенеза у пациентов с микроделециями хромосомы Y могут оказывать и другие генетические, а также негенетические факторы.

Структурная организация ампликонов в длинном плече хромосомы Y человека, довольно изменчива из-за различных сбалансированных (инверсии) и несбалансированных (делеции и дупликации) микроструктурных перестроек хромосомы Y, которые имеют высокую частоту в области палиндромов и связаны с ее

гаплотипом. По данным гаплотипирования у мужчин с разными типами делеций в регионе AZFb показано, что «классическая» делеция AZFb встречается на хромосоме Y, относящейся к гаплогруппе R1b*, а все восемь исследованных «неклассических» делеций характеризовались разными гаплогруппами R1A1*, R1A1A1, I1* и F*, отличающимися по структуре ампликонов [24].

Следует особо отметить, что стандартный («базовый») набор ДНК-маркеров, рекомендованный лабораторным Руководством ЕАА/ЕМQN, являющийся «золотым стандартом» по молекулярной диагностике микроделеций хромосомы Y, не позволяет обнаруживать различные типы AZF делеций, например, некоторые неполные (частичные) делеции региона AZFb. В данном Руководстве рекомендовано в качестве первого этапа исследовать по два STS-маркера в каждом регионе (AZFa: sY84, sY86, AZFb: sY127, sY134, AZFc: sY254, sY255) [52]. При всех делециях AZF, называемых «классическими», оба маркера, расположенные в соответствующем регионе, должны быть утрачены. При отсутствии ПЦР амплификации только одного маркера необходимо заподозрить артефакт и повторить исследование. Отсутствие двух и более маркеров требует проведения второго этапа исследования с дополнительным («расширенным») набором маркеров для определения границ делеции [53]. Однако на практике повторное исследование делеций выполняется редко. Уточнение границ делеции для верификации типа (подтипа) делеции, рекомендованное Руководством, должно выполняться в референсных лабораториях, которые имеют большой опыт ДНК-диагностики данных генетических нарушений.

Заключение

Делеции, захватывающие локус AZF, представлены различными типами, при этом тяжесть нарушения сперматогенеза зависит от типа делеции, определяющего ее размер и локализацию делеции, количество и состав утраченных генов хромосомы Y. Некоторые частичные делеции дистальной части региона AZFb являются патогенными вариантами, другие — микроделеционными полиморфными вариантами, встречающимися как у мужчин с патозооспермией и нарушением репродуктивной функции, так и у фертильных мужчин. Представленный клинический случай, а также другие случаи, сообщенные ранее, наглядно свидетельствуют, что некоторые пациенты с патогенными делециями AZFb могут иметь частично сохраненный сперматогенез. Частичное сохранение сперматогенеза может быть обусловлено сохранением части копий генов региона, в частности

проксимальной области региона AZFc (*RBMY*, *PRY2* и *DAZ*), потеря которых возникает при полных типах делеций AZFb и AZFb+c. Однако механизм прохождения мейоза в некоторых незрелых половых клетках у мужчин с полными делециями AZFb и AZFb+c, так же, как и возможное прогрессирование нарушений сперматогенеза с возрастом у пациентов с микроделециями хромосомы Y требуют дальнейшего исследования. Следует отметить, что при использовании собственных гамет риск передачи микроделеции хромосомы Y составляет 100%, однако поскольку AZF делеции не приводят к тяжелым фенотипическим нарушениям (за исключением бесплодия), их наличие не является строгим показанием для выбора пола плода при пренатальной диагностике. Выбор пола эмбриона при преимплантационном генетическом тестировании в этих случаях строго не регламентирован.

Согласно представленному случаю и некоторым другим пациентам с частичными делециями региона AZFb, очевидно, что их тип невозможно определить только по «базовому» набору ДНК-маркеров (локусы sY127 и sY134), принятому в качестве рекомендованного для определения наличия/отсутствия данного региона [52, 53]. Поэтому выявление делеций AZFb с использованием данного набора маркеров, в том числе у пациентов с азооспермией, не является противопоказанием для проведения тестикулярной биопсии. При обнаружении микроделеций по результатам ПЦР с исследованием только «базового» набора ДНК-маркеров, рекомендованного для детекции микроделеций хромосомы Y, требуется обязательное проведение второго этапа молекулярно-генетического тестирования – верификации/уточнения типа(подтипа) делеций AZF с использованием дополнительных/фланкирующих маркеров, а при необходимости и анализ SNV для мультикопийных генов [52, 53]. Данный подход позволяет выявить как полные, так и неполные («неклассические») типы делеций в локусе AZF, в том числе те, при которых возможно частичное сохранение сперматогенеза. Согласно Российским клиническим рекомендациям по диагностике мужского бесплодия, тестирование на микроделеции хромосомы Y следует проводить всем пациентам с концентрацией сперматозоидов менее 5 млн/мл [54]. Европейская ассоциация урологов (EUA) рекомендует тестирование на микроделеции хромосомы Y мужчинам с концентрацией сперматозоидов менее 5 млн/мл и строго рекомендует пациентам с концентрацией сперматозоидов менее 1 млн/мл [55]. Так как некоторые мужчины с патогенными делециями AZFb и AZFb+c могут не иметь азооспермии или олигозооспермии тяжелой степени, анализ микроделеций хромосомы Y им может быть не назначен. По-

лучение информации о типе, размере, генном составе делеции позволяет более точно определить генетический и репродуктивный прогноз, успешность биопсии яичка для получения сперматозоидов, пригодных для процедуры ЭКО/ИКСИ. Это может играть решающую роль в репродуктивном прогнозе и тактике решения проблемы деторождения у пациентов с микроделециями хромосомы Y.

Литература

1. Vogt P.H. Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;224(1-2):1-9.
2. Vogt P.H. AZF deletions and Y chromosomal haplogroups: history and update based on sequence. *Hum Reprod Update.* 2005;11(4):319-336.
3. Vogt P.H. Azoospermia factor (AZF) in Yq11: towards a molecular understanding of its function for human male fertility and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online.* 2005;10(1):81-93.
4. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsch S., et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet.* 1996;5(7):933-943.
5. Ferlin A., Arredi B., Speltra E., et al. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(3):762-770.
6. Черных В.Б. AZF делеции – частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований. *Проблемы репродукции.* 2009;15(1):10-15.
7. Navarro-Costa P., Plancha C.E., Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in)fertility?. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:936569.
8. Krausz C., Casamonti E. Spermatogenic failure and the Y chromosome. *Hum Genet.* 2017;136(5):637-655.
9. Colaco S., Modi D. Consequences of Y chromosome microdeletions beyond male infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(7):1329-1337.
10. Vogt P.H., Falcao C.L., Hanstein R., Zimmer J. The AZF proteins. *Int J Androl.* 2008;31(4):383-394.
11. Costa P., Goncalves R., Ferras C., et al. Identification of new breakpoints in AZFb and AZFc. *Mol Hum Reprod.* 2008;14(4):251-258.
12. Ferlin A., Moro E., Rossi A., et al. The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J Med Genet.* 2003;40(1):18-24.
13. Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H., Brown L.G., et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet.* 2001; 29(3): 279-286.
14. Repping S., Skaletsky H., Lange J., et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet.* 2002;71(4):906-922.
15. Skaletsky H., Kuroda-Kawaguchi T., Minx P.J., et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature.* 2003;423(6942):825-837.
16. Krausz C., Quintana-Murci L., McElreavey K. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis?. *Hum Reprod.* 2000;15(7):1431-1434.
17. Hopps C.V., Mielnik A., Goldstein M., et al. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod.* 2003;18(8):1660-1665.
18. Tsujimura A., Matsumiya K., Takao T., et al. Clinical analysis of patients with azoospermia factor deletions by microdissection testicular sperm extraction. *Int J Androl.* 2004;27(2):76-81.

19. Yang Y., Ma M., Xiao C., et al. Massive deletion in AZFb/b+ c and azoospermia with Sertoli cell only and/or maturation arrest. *Int J Androl.* 2008;31(6):573-578.
20. Kleiman S.E., Yogev L., Lehavi O., et al. The likelihood of finding mature sperm cells in men with AZFb or AZFb-c deletions: six new cases and a review of the literature (1994-2010). *Fertil Steril.* 2011;95(6):2005-2012.
21. Stouffs K., Vloeberghs V., Gheldof A., et al. Are AZFb deletions always incompatible with sperm production? *Andrology.* 2017;5(4):691-694.
22. Soares A.R., Costa P., Silva J., et al. AZFb microdeletions and oligozoospermia – which mechanisms? *Fertil Steril.* 2012;97(4):858-863.
23. Zhang Y.-S., Li L.-L., Xue L.-T., et al. Complete azoospermia factor b deletion of Y chromosome in an infertile male with severe oligoasthenozoospermia: case report and literature review. *Urology.* 2017;102:111-115.
24. Vogt P.H., Bender U., Deibel B., et al. Human AZFb deletions cause distinct testicular pathologies depending on their extensions in Yq11 and the Y haplogroup: new cases and review of literature. *Cell Biosci.* 2021;11(1):60.
25. Longepied G., Saut N., Akinin-Seifer I., et al. Complete deletion of the AZFb interval from the Y chromosome in an oligozoospermic man. *Hum Reprod.* 2010;25(10):2655-2663.
26. Plotton I., Ducros C., Pugeat M., et al. Transmissible microdeletion of the Y-chromosome encompassing two DAZ copies, four RBMY1 copies, and both PRY copies. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2770.e11-16.
27. Shinka T., Sato Y., Chen G., et al. Molecular characterization of heat shock-like factor encoded on the human Y chromosome, and implications for male infertility. *Biol Reprod.* 2004;71(1):297-306.
28. Lin Y.-M., Lin Y.-H., Teng Y.-N., et al. Gene-based screening for Y chromosome deletions in Taiwanese men presenting with spermatogenic failure. *Fertil Steril.* 2002;77(5):897-903.
29. Martinez M., Bernabés M., Gomez E., et al. Screening for AZF deletion in a large series of severely impaired spermatogenesis patients. *J Androl.* 2000;21(5):651-655.
30. Vinci G., Raicu F., Popa L., et al. A deletion of a novel heat shock gene on the Y chromosome associated with azoospermia. *Mol Hum Reprod.* 2005;11(4):295-298.
31. Kichine E., Roze V., Di Cristofaro J., et al. HSFY genes and the P4 palindrome in the AZFb interval of the human Y chromosome are not required for spermatocyte maturation. *Hum Reprod.* 2012;27(2):615-624.
32. Ambasadhan R., Singh K., Agarwal J., et al. Idiopathic cases of male infertility from a region in India show low incidence of Y-chromosome microdeletion. *J Biosci.* 2003;28(5):605-612.
33. Tessari A., Salata E., Ferlin A., et al. Characterization of HSFY, a novel AZFb gene on the Y chromosome with a possible role in human spermatogenesis. *Mol Hum Reprod.* 2004;10(4):253-258.
34. Sato Y., Yoshida K., Shinka T., et al. Altered expression pattern of heat shock transcription factor, Y chromosome (HSFY) may be related to altered differentiation of spermatogenic cells in testes with deteriorated spermatogenesis. *Fertil Steril.* 2006;86(3):612-618.
35. Akimoto C., Kitagawa H., Matsumoto T., Kato S. Spermatogenesis-specific association of SMCY and MSH5. *Genes Cells.* 2008;13(6):623-633.
36. Zuo E., Cai Y.J., Li K., et al. One-step generation of complete gene knockout mice and monkeys by CRISPR/Cas9-mediated gene editing with multiple sgRNAs. *Cell Res.* 2017;27(7):933-945.
37. Kristiansen G., Sammar M., Altevogt P. Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule. *J Mol Histol.* 2004;35(3):255-262.
38. Godfrey A.K., Naqvi S., Chmatal L., et al. Quantitative analysis of Y-Chromosome gene expression across 36 human tissues. *Genome Res.* 2020;30(6):860-873.
39. Tan Y., Zhao M., Xiang B., et al. CD24: from a hematopoietic differentiation antigen to a genetic risk factor for multiple autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016;50(1):70-83.
40. Vernet N., Mahadevaiah S.K., Ellis P.J., et al. Spermatid development in XO male mice with varying Y chromosome short-arm gene content: evidence for a Y gene controlling the initiation of sperm morphogenesis. *Reproduction.* 2012;144(4):433-445.
41. Gegenschatz-Schmid K., Verkauskas G., Stadler M.B., Hadziselimovic F. Genes located in Y-chromosomal regions important for male fertility show altered transcript levels in cryptorchidism and respond to curative hormone treatment. *Basic Clin Androl.* 2019;29:8.
42. Lee M.G., Norman J., Shilatfard A., Shiekhhattar R. Physical and functional association of a trimethyl H3K4 demethylase and Ring6a/MBLR, a polycomb-like protein. *Cell.* 2007;128(5):877-887.
43. Stouffs K., Lissens W., Tournaye H., et al. The choice and outcome of the fertility treatment of 38 couples in whom the male partner has a Yq microdeletion. *Hum Reprod.* 2005;20(7):1887-1896.
44. Dreumont N., Bourgeois C.F., Lejeune F., et al. Human RBMY regulates germline-specific splicing events by modulating the function of the serine/arginine-rich proteins 9G8 and Tra2- β . *J Cell Sci.* 2010;123(1):40-50.
45. Skrisovska L., Bourgeois C.F., Steffl R., et al. The testis-specific human protein RBMY recognizes RNA through a novel mode of interaction. *EMBO Rep.* 2007;8(4):372-379.
46. Ma K., Inglis J.D., Sharkey A., et al. A Y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: candidates for the azoospermia factor AZF controlling human spermatogenesis. *Cell.* 1993;75(7):1287-1295.
47. Yan Y., Yang X., Liu Y., et al. Copy number variation of functional RBMY1 is associated with sperm motility: an azoospermia factor-linked candidate for asthenozoospermia. *Hum Reprod.* 2017;32(7):1521-1531.
48. Chua H.H., Tsuei D.J., Lee P.H., et al. RBMY, a novel inhibitor of glycogen synthase kinase 3 β , increases tumor stemness and predicts poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2015;62(5):1480-1496.
49. Silva J.V., Freitas M.J., Correia B.R., et al. Profiling signaling proteins in human spermatozoa: biomarker identification for sperm quality evaluation. *Fertil Steril.* 2015;104(4):845-856.
50. Somanath P.R., Jack S.L., Vijayaraghavan S. Changes in sperm glycogen synthase kinase-3 serine phosphorylation and activity accompany motility initiation and stimulation. *J Androl.* 2004;25(4):605-617.
51. Jobling M.A., Samara V., Pandya A., et al. Recurrent duplication and deletion polymorphisms on the long arm of the Y chromosome in normal males. *Hum Mol Genet.* 1996;5(11):1767-1775.
52. Simoni M., Bakker E., Eurlings M.C., et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *Int J Androl.* 1999;22(5):292-299.
53. 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.
54. Урология. Российские клинические рекомендации / под ред. Ю. Г. Аляева, П. В. Глыбочко, Д. Ю. Пушкаря. — М.: ГЭОТАРМедиа, 2016. — 496 с.
55. Salonia A., Bettocchi C., Carvalho J., et al. EAU guidelines on sexual and reproductive health 2020. European Association of Urology Guidelines. Arnheim: European Association of Urology Guidelines Office, 2020:232.

References

1. Vogt P.H. Genomic heterogeneity and instability of the AZF locus on the human Y chromosome. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;224(1-2):1-9.
2. Vogt P.H. AZF deletions and Y chromosomal haplogroups: history and update based on sequence. *Hum Reprod Update.* 2005;11(4):319-336.
3. Vogt P.H. Azoospermia factor (AZF) in Yq11: towards a molecular understanding of its function for human male fertility and spermatogenesis. *Reprod Biomed Online.* 2005;10(1):81-93.

4. Vogt P.H., Edelmann A., Kirsch S., et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet.* 1996;5(7):933-943.
5. Ferlin A., Arredi B., Speltra E., et al. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(3):762-770.
6. Chernykh V.B. AZF deletsii – chastaya geneticheskaya prichina besplodiya u muzhchin: sovremennoye sostoyaniye issledovaniy [AZF deletions are a common genetic cause of male infertility: state of the art] *Problemy reproduktivnoy [Russian Journal of Human Reproduction].* 2009; 15 (1): 10-15.2009;15(1):10-15. (In Russ.)
7. Navarro-Costa P., Plancha C.E., Goncalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in)fertility?. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:936569.
8. Krausz .C., Casamonti E.. Spermatogenic failure and the Y chromosome. *Hum Genet.* 2017;136(5):637-655.
9. Colaco S., Modi D. Consequences of Y chromosome microdeletions beyond male infertility. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(7):1329-1337.
10. Vogt P.H., Falcao C.L., Hanstein R., Zimmer J. The AZF proteins. *Int J Androl.* 2008;31(4):383-394.
11. Costa P., Goncalves R., Ferras C., et al. Identification of new breakpoints in AZFb and AZFc. *Mol Hum Reprod.* 2008;14(4):251-258.
12. Ferlin A., Moro E., Rossi A., et al. The human Y chromosome's azoospermia factor b (AZFb) region: sequence, structure, and deletion analysis in infertile men. *J Med Genet.* 2003;40(1):18-24.
13. Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H., Brown L.G., et al. The AZFc region of the Y chromosome features massive palindromes and uniform recurrent deletions in infertile men. *Nat Genet.* 2001;29(3):279-286.
14. Repping S., Skaletsky H., Lange J., et al. Recombination between palindromes P5 and P1 on the human Y chromosome causes massive deletions and spermatogenic failure. *Am J Hum Genet.* 2002;71(4):906-922.
15. Skaletsky H., Kuroda-Kawaguchi T., Minx P.J., et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature.* 2003;423(6942):825-837.
16. Krausz C., Quintana-Murci L., McElreavey K.. Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis?. *Hum Reprod.* 2000;15(7):1431-1434.
17. Hopps C.V., Mielnik A., Goldstein M., et al. Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Hum Reprod.* 2003;18(8):1660-1665.
18. Tsujimura A., Matsumiya K., Takao T., et al. Clinical analysis of patients with azoospermia factor deletions by microdissection testicular sperm extraction. *Int J Androl.* 2004;27(2):76-81.
19. Yang Y., Ma M., Xiao C., et al. Massive deletion in AZFb/b+ c and azoospermia with Sertoli cell only and/or maturation arrest. *Int J Androl.* 2008;31(6):573-578.
20. Kleiman S.E., Yogeve L., Lehavi O., et al. The likelihood of finding mature sperm cells in men with AZFb or AZFb-c deletions: six new cases and a review of the literature (1994-2010). *Fertil Steril.* 2011;95(6):2005-2012.
21. Stouffs K., Vloeberghs V., Gheldof A., et al. Are AZFb deletions always incompatible with sperm production?. *Andrology.* 2017;5(4):691-694.
22. Soares A.R., Costa P., Silva J., et al. AZFb microdeletions and oligozoospermia – which mechanisms?. *Fertil Steril.* 2012;97(4):858-863.
23. Zhang Y.-S., Li L.-L., Xue L.-T., et al. Complete azoospermia factor b deletion of Y chromosome in an infertile male with severe oligoasthenozoospermia: case report and literature review. *Urology.* 2017;102:111-115.
24. Vogt P.H., Bender U., Deibel B, et al. Human AZFb deletions cause distinct testicular pathologies depending on their extensions in Yq11 and the Y haplogroup: new cases and review of literature. *Cell Biosci.* 2021;11(1):60.
25. Longepied G., Saut N., Aknin-Seifer I., et al. Complete deletion of the AZFb interval from the Y chromosome in an oligozoospermic man. *Hum Reprod.* 2010;25(10):2655-2663.
26. Ploton I., Ducros C., Pugeat M., et al. Transmissible microdeletion of the Y-chromosome encompassing two DAZ copies, four RBMY1 copies, and both PRY copies. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2770.e11-16.
27. Shinka T., Sato Y., Chen G., et al. Molecular characterization of heat shock-like factor encoded on the human Y chromosome, and implications for male infertility. *Biol Reprod.* 2004;71(1):297-306.
28. Lin Y.-M., Lin Y.-H., Teng Y.-N., et al. Gene-based screening for Y chromosome deletions in Taiwanese men presenting with spermatogenic failure. *Fertil Steril.* 2002;77(5):897-903.
29. Martinez M., Bernabés M., Gomez E., et al. Screening for AZF deletion in a large series of severely impaired spermatogenesis patients. *J Androl.* 2000;21(5):651-655.
30. Vinci G., Raicu F., Popa L., et al. A deletion of a novel heat shock gene on the Y chromosome associated with azoospermia. *Mol Hum Reprod.* 2005;11(4):295-298.
31. Kichine E., Roze V., Di Cristofaro J., et al. HSFY genes and the P4 palindrome in the AZFb interval of the human Y chromosome are not required for spermatocyte maturation. *Hum Reprod.* 2012;27(2):615-624.
32. Ambasadhan R., Singh K., Agarwal J., et al. Idiopathic cases of male infertility from a region in India show low incidence of Y-chromosome microdeletion. *J Biosci.* 2003;28(5):605-612.
33. Tessari A., Salata E., Ferlin A., et al. Characterization of HSFY, a novel AZFb gene on the Y chromosome with a possible role in human spermatogenesis. *Mol Hum Reprod.* 2004;10(4):253-258.
34. Sato Y., Yoshida K., Shinka T., et al. Altered expression pattern of heat shock transcription factor, Y chromosome (HSFY) may be related to altered differentiation of spermatogenic cells in testes with deteriorated spermatogenesis. *Fertil Steril.* 2006;86(3):612-618.
35. Akimoto C., Kitagawa H., Matsumoto T., Kato S. Spermatogenesis-specific association of SMCY and MSH5. *Genes Cells.* 2008;13(6):623-633.
36. Zuo E., Cai Y.J., Li K., et al. One-step generation of complete gene knockout mice and monkeys by CRISPR/Cas9-mediated gene editing with multiple sgRNAs. *Cell Res.* 2017;27(7):933-945.
37. Kristiansen G., Sammar M., Altevogt P. Tumour biological aspects of CD24, a mucin-like adhesion molecule. *J Mol Histol.* 2004;35(3):255-262.
38. Godfrey A.K., Naqvi S., Chmatal L., et al. Quantitative analysis of Y-Chromosome gene expression across 36 human tissues. *Genome Res.* 2020;30(6):860-873.
39. Tan Y., Zhao M., Xiang B., et al. CD24: from a hematopoietic differentiation antigen to a genetic risk factor for multiple autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016;50(1):70-83.
40. Vernet N., Mahadevaiah S.K., Ellis P.J., et al. Spermatid development in XO male mice with varying Y chromosome short-arm gene content: evidence for a Y gene controlling the initiation of sperm morphogenesis. *Reproduction.* 2012;144(4):433-445.
41. Gegenschatz-Schmid K., Verkauskas G., Stadler M.B., Hadziselimovic F. Genes located in Y-chromosomal regions important for male fertility show altered transcript levels in cryptorchidism and respond to curative hormone treatment. *Basic Clin Androl.* 2019;29:8.
42. Lee M.G., Norman J., Shilatfard A., Shiekhata R. Physical and functional association of a trimethyl H3K4 demethylase and Ring6a/MBLR, a polycomb-like protein. *Cell.* 2007;128(5):877-887.
43. Stouffs K., Lissens W., Tournaye H., et al. The choice and outcome of the fertility treatment of 38 couples in whom the male partner has a Yq microdeletion. *Hum Reprod.* 2005;20(7):1887-1896.
44. Dreumont N., Bourgeois C.F., Lejeune F., et al. Human RBMY regulates germline-specific splicing events by modulating the function of

- the serine/arginine-rich proteins 9G8 and Tra2- β . *J Cell Sci.* 2010;123(1):40-50.
45. Skrisovska L., Bourgeois C.F., Stefl R., et al. The testis-specific human protein RBMY recognizes RNA through a novel mode of interaction. *EMBO Rep.* 2007;8(4):372-329.
 46. Ma K., Inglis J.D., Sharkey A., et al. A Y chromosome gene family with RNA-binding protein homology: candidates for the azoospermia factor AZF controlling human spermatogenesis. *Cell.* 1993;75(7):1287-1295.
 47. Yan Y., Yang X., Liu Y., et al. Copy number variation of functional RBMY1 is associated with sperm motility: an azoospermia factor-linked candidate for asthenozoospermia. *Hum Reprod.* 2017;32(7):1521-1531.
 48. Chua H.H., Tsuei D.J., Lee P.H., et al. RBMY, a novel inhibitor of glycogen synthase kinase 3 β , increases tumor stemness and predicts poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2015;62(5):1480-1496.
 49. Silva J.V., Freitas M.J., Correia B.R., et al. Profiling signaling proteins in human spermatozoa: biomarker identification for sperm quality evaluation. *Fertil Steril.* 2015;104(4):845-856.
 50. Somanath P.R., Jack S.L., Vijayaraghavan S. Changes in sperm glycogen synthase kinase-3 serine phosphorylation and activity accompany motility initiation and stimulation. *J Androl.* 2004;25(4):605-617.
 51. Jobling M.A., Samara V., Pandya A., et al. Recurrent duplication and deletion polymorphisms on the long arm of the Y chromosome in normal males. *Hum Mol Genet.* 1996;5(11):1767-1775.
 52. Simoni M., Bakker E., Eurlings M.C., et al. Laboratory guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions. *Int J Androl.* 1999;22(5):292-299.
 53. 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.
 54. Urologiya. Rossiyskiye klinicheskiye rekomendatsii / pod red. YU. G. Alyayeva, P. V. Glybochko, D. YU. Pushkary. [Urology. Russian clinical guidelines. Yu. G. Alyayev, P. V. Glybochko, D. Yu. Pushkar (ed.)]. M.: GEOTARMedia, 2016 .- 496 p. (In Russ.)
 55. Salonia A., Bettocchi C., Carvalho J., et al. EAU guidelines on sexual and reproductive health 2020. European Association of Urology Guidelines. Arnheim: European Association of Urology Guidelines Office, 2020:232.