

Современные возможности генетической диагностики мужского бесплодия

Сорокина Т.М., Соловова О.А., Черных В.Б.

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
Москва, Россия

Тяжелые формы мужского и женского бесплодия, привычного невынашивания беременности, аномалий формирования пола часто обусловлены генетическими причинами или связаны с генетическими факторами. Медико-генетическое обследование и консультирование пациентов с нарушением репродукции зачастую ограничивается использованием стандартных рутинных исследований, поэтому не позволяет выявить многие наследственные формы репродуктивной патологии. Методы геномного анализа позволяют повысить эффективность диагностики генетически обусловленных нарушений репродукции, вызванных генными мутациями и вариациями числа копий (CNV), но их пока широко не используют в практическое медицине. В статье рассмотрены современные возможности медико-генетического обследования мужчин с нарушением фертильности, а также приведены показания и алгоритмы диагностики генетических причин мужского бесплодия, связанного с различными формами патозооспермии.

Ключевые слова: мужское бесплодие, генные варианты, патозооспермия, хромосомные аномалии, флуоресцентная гибридизация *in situ*, хромосомный микроматричный анализ, секвенирование экзома, AZF, CFTR

Для цитирования: Сорокина Т.М., Соловова О.А., Черных В.Б. Современные возможности генетической диагностики мужского бесплодия. *Медицинская генетика* 2019; 18(12): 3-15.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.12.3-15

Автор для корреспонденции: Черных Вячеслав Борисович; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования России на выполнение НИР.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 29.11.2019.

Modern opportunities and indications for genetic diagnosis of male infertility

Sorokina T.M., Solovova O.A., Chernykh V.B.

Research Centre for Medical Genetics
Moscow, Russia

Severe forms of male and female infertility, recurrent miscarriage, abnormalities in disorders of sex development are often due to genetic causes or are associated with genetic factors. Genetic examination and counseling of patients with reproductive problems is often limited to the use of standard routine techniques, therefore, it is not possible to identify many hereditary forms of reproductive pathology. Genomic analysis methods can improve the diagnosis of genetic reproductive disorders caused by gene mutations and copy number variations (CNVs), but they are not yet widely used in practical medicine. The article discusses the modern possibilities of medical-genetic examination of infertile men with, as well as the indications and diagnostic algorithms for the genetic causes of male infertility associated with various forms of pathozoospermia.

Key words: male infertility, gene variants, spermatogenesis, chromosome abnormalities, fluorescence *in situ* hybridization, array comparative genomic hybridization, exome sequencing, AZF, CFTR

For citation: Sorokina T.M., Solovova O.A., Chernykh V.B. Modern opportunities and indications for genetic diagnosis of male infertility. *Medical genetics* 2019; 18(12): 3-15. [In Rus]

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.12.3-15

Corresponding author: Chernykh Vyacheslav; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

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: 29.11.2019

Введение

С проблемой бесплодия сталкиваются около 15% супружеских пар, при этом у 7% мужчин из общей популяции отмечают нарушение фертильности [1]. На долю «мужского фактора» приходится около 50% случаев бесплодия в браке. В большинстве случаев это связано со снижением количественных и/или качественных показателей эякулята, которые диагностируют у 50–60% мужчин из супружеских пар с бесплодием [2]. Стандартное спермиологическое исследование является наиболее эффективным клиническим методом определения потенциала мужской фертильности [3]. Нативный эякулят является доступным биологическим материалом, а его показатели в значительной мере отражают способность мужских гамет к оплодотворению, поэтому *стандартное спермиологическое обследование* необходимо проводить каждой супружеской паре с бесплодием в самом начале обследования. Сперматологические диагнозы и их критерии приведены в **табл. 1**.

Азооспермия, олигозооспермия тяжелой степени, тотальная или субтотальная астено- и тератозооспермия (например, синдром «неподвижных ресничек», глобулозооспермия и другие синдромальные формы патозооспермии) – выраженные сперматологические нарушения, как правило, связанные со стойким первичным бесплодием и требующие обязательного проведения медико-генетического обследования и консультирования.

Несмотря на использование различных методов обследования мужчин и женщин, эффективность выявления причин бесплодия и привычного невынашивания беременности остается недостаточной, при этом более чем у половины супружеских пар истинные причины проблем с деторождением не удается выявить.

Многочисленные исследования свидетельствуют, что многие случаи «идиопатического бесплодия» связаны с генетическими факторами [1, 4].

В этиологии различных аномалий формирования пола и развития половой системы, тяжелых форм мужского и женского бесплодия, а также большинства случаев репродуктивных потерь лежат генетические нарушения [4, 5]. Степень их негативного влияния на репродуктивную систему и фертильность зависит от уровня изменения генома (геномного, хромосомного, геномного, эпигенетического), типа и тяжести патогенного варианта, наличия и выраженности (%) мозаицизма, генетического фона, а также действия средовых и других факторов. Генетическими причинами и факторами нарушения фертильности могут являться хромосомные аномалии (численные и структурные), несбалансированные микроструктурные перестройки хромосом (вариация числа копий – *copy number variation, CNV*) и генные варианты, ведущие к аномалиям дифференцировки и/или развития органов половой системы, нарушению гаметогенеза, снижению количества и/или качества половых клеток [2, 6].

В настоящее время генетическая диагностика мужского бесплодия, обусловленного азооспермией или олигозооспермией тяжелой степени, в большинстве случаев ограничена и включает выполнение стандартного цитогенетического исследования (СЦИ, анализ кариотипа в лимфоцитах периферической крови), анализ на микроделеции Y-хромосомы в локусе AZF (Azoospermia Factor, фактор азооспермии), частые патогенные варианты и 5T аллель гена муковисцидоза (CFTR), определение количества CAG –повторов в экзоне 1 гена рецептора андрогенов (AR/HUMARA) [4]. У пациентов с нарушением формирования пола с аномалиями ка-

Таблица 1

Сперматологические диагнозы и их критерии согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения [3]

Сперматологические диагнозы	Сперматологические критерии
Азооспермия	Отсутствие сперматозоидов в эякуляте
Криптозооспермия	Наличие единичных сперматозоидов в осадке эякулята (после центрифугирования)
Олигозооспермия	Сниженное количество сперматозоидов в эякуляте (менее 15 млн/мл и/или 39 млн в эякуляте)
Астенозооспермия	Сниженная подвижность сперматозоидов: количество прогрессивно подвижных сперматозоидов («PR») менее 32%
Тератозооспермия	Сниженное количество морфологически нормальных сперматозоидов менее 4%
Нормозооспермия	Нормальные (референсные) значения показателей сперматозоидов: общее количество 39 млн и более, количество прогрессивно подвижных сперматозоидов – 32% и более, количество нормальных сперматозоидов – 4% и более

риотипа СЦИ может быть при необходимости дополнено флуоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) и молекулярно-генетическим исследованием числа копий и патогенных вариантов некоторых генов (например, SRY, CYP21B, AR), вовлеченных в контроль дифференцировки пола и развития репродуктивной системы, различными методами (ПЦР, КФ-ПЦР, MLPA, методов секвенирования ДНК и др.) [4].

Развитие молекулярных технологий позволило разработать новые подходы и высокопроизводительные методы для диагностики различных наследственных заболеваний и генетически обусловленных нарушений, в том числе заболеваний репродуктивной системы. Среди них двумя основными методами являются массовое параллельное секвенирование (MPS) или секвенирование нового поколения (NGS) и хромосомный микроматричный анализ (ХМА, сравнительная геномная гибридизация на олигонуклеотидных чипах, агауСГН). Данные молекулярные методы анализа генома активно используют в преимплантационном генетическом тестировании для детекции полных и сегментных анеуплоидий (ПГТ-А), однако недостаточно широко применяют в постнатальной диагностике нарушений формирования пола, развития и функции органов репродуктивной системы.

Генетические факторы мужского бесплодия

Хромосомные аномалии

Аномалии половых хромосом занимают ведущее место в структуре генетически обусловленных форм патологии органов половой системы и могут быть связаны как с гоносомными синдромами, так и с другими синдромальными и несиндромальными формами нарушений репродукции [5,7]. Частота хромосомных аномалий у мужчин с бесплодием в среднем составляет 5–7% и более высока (10–15%) при азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени [4,7]. Она в значительной мере зависит от критериев формирования выборки пациентов, в частности от тяжести нарушения сперматогенеза и формы патозооспермии, наличия аномалий формирования пола, гипогонадизма, клинических форм нарушения фертильности и других факторов.

Численные аномалии половых хромосом (гоносом) у мужчин с бесплодием преимущественно представлены синдромом Клайнфельтера (СК): классическая формой СК с кариотипом 47,XXY и мозаичными формами, например, 47,XXY/46,XY [8]. Среди мужчин с нарушением фертильности дисомия Y-хромосомы встречается редко, поскольку для пациентов с данной гоносомной анеуплоидией не характерно бесплодие [9].

В спектре структурных аномалий половых хромосом у мужчин с нарушением репродуктивной функции отмечают следующие перестройки гоносом: делеции, кольцевые хромосомы, транслокации, инверсии, изо- и изодицентрические хромосомы. Для многих из них (кроме транслокаций и инверсий) характерен мозаицизм по хромосоме Y, в том числе скрытый, возможно различие в количестве (%) Y-несущих клеток в разных тканях. У пациентов с мозаицизмом по хромосоме Y клиническая форма и выраженность фенотипических проявлений, в частности степень маскулинизации и тяжесть нарушения сперматогенеза, в значительной мере зависят от цитогенетического варианта мозаицизма (например, X/XY, XX/XY, X/XY/XY), доли Y-несущих клеток, их представленности в различных тканях, в частности в тестикулярной ткани) и наличия структурных аномалий Y-хромосомы, простираясь от нарушений дифференцировки гонад до низкоуровневого мозаицизма у пациентов с сохранной фертильностью [10]. Наличие хромосомного мозаицизма или химеризма с разным набором гоносом или подозрение на него требует исследования двух или более тканей различного гистогенеза (лимфоциты периферической крови, клетки буккального эпителия, фибробласты кожи, биоптаты гонад) с использованием молекулярно-цитогенетических (FISH, ХМА) и/или молекулярно-генетических методов (ПЦР, КФ-ПЦР, MLPA).

Наиболее распространенными аномалиями аутосом у пациентов с бесплодием и невынашиванием беременности являются робертсоновские (РТ) и реципрокные сбалансированные транслокации. РТ составляют около 17% от общего количества структурных aberrаций хромосом, обнаруживаемых при СЦИ у мужчин с бесплодием [11]. У 80–90% мужчин с РТ отмечают необструктивную азооспермию или олигозооспермию тяжелой степени, в остальных случаях менее тяжелые формы патозооспермии или нормозооспермию [12]. Реципрокные транслокации с точками разрыва в дистальных участках коротких и длинных плеч хромосом не всегда распознают при СЦИ и выявляют при дополнительном FISH исследовании по поводу повторяющихся сегментных анеуплоидий (делеций и дупликаций) у эмбриона при ПГТ-А.

Для многих генетически обусловленных аномалий формирования пола и нарушения фертильности характерно первичное бесплодие. Однако для носителей сбалансированных перестроек хромосом (робертсоновских и реципрокных транслокаций, некоторых инверсий аутосом), сверхчисленных малых маркерных хромосом, вследствие повышенного уровня анеуплоидии гамет, гонадного мозаицизма возможны как первичное, так и вторичное бесплодие, невынашива-

ние беременности (в том числе привычное), снижение фертильности или сохранная репродуктивная функция с повышенным риском невынашивания и рождения детей с врожденными пороками развития (ВПР) и умственной отсталостью [13].

Микроделеции Y-хромосомы

Согласно международным рекомендациям и руководствам по исследованию AZF-микроделений показателями для исследования являются азооспермия, криптозооспермия и выраженная олигозооспермия (количество сперматозоидов в эякуляте менее 5 млн в двух и более исследованиях) [14]. При выявлении данной патологии можно с большой вероятностью говорить о мужском факторе бесплодия. Так, секреторная азооспермия в среднем у 11% мужчин и олигозооспермия тяжелой степени у 8% обусловлена микроделециями длинного плеча хромосомы Y или цитогенетически идентифицируемыми хромосомными аномалиями (например, изодицентрическими и кольцевыми хромосомами Y, Y-аутосомными и X-Y транслокациями) с потерей части или всего локуса Yq11.2 [15]. При этом большинство клинически значимых структурных аномалий хромосомы Y связаны с полной или частичной делецией региона AZF (Azoospermia factor – «фактор азооспермии»), расположенного в эухроматиновой области длинного плеча Y хромосомы (локус Yq11.21-23). В нем располагаются более 30 генов, контролирующих сперматогенез [16–18]. В локусе выделены три (суб)региона: AZFa, AZFb и AZFc [16–19]. Делеции региона AZFc (полная делеция данного региона обозначается как 'b2/b4') – наиболее частые и составляют около 70–75% всех «полных», клинически значимых микроделений в локусе AZF [16,18]. Второе место по частоте встречаемости (около 15%) занимают делеции, захватывающие регионы AZFc и/или AZFb (AZFb+c и AZFb делеции). Делеции AZFa региона составляют в среднем 5% от всех клинически значимых микроделений длинного плеча хромосомы Y [16,18]. В остальных случаях обнаруживают другие типы AZF-делений (например, AZFa+b и AZFa+b+c), а также микроделеции Yq, располагающиеся вне AZF регионов [18]. Наиболее распространённым методом детекции микроделений хромосомы Y является мультиплексная ПЦР с анализом двух или более маркеров из каждого AZF региона, который дополняется амплификацией последовательностей локусов *SRY* и *ZFX/ZFY* (в качестве внутреннего контроля реакции) [20].

Микродупликации в локусе AZF, затрагивающие различные его регионы, описаны у мужчин, но для них не показана клиническая значимость в развитии нарушения сперматогенеза и мужского бесплодия [21]. Дупликации длинного плеча хромосомы Y или его

фрагмента, включающего AZF-регион(ы), может быть следствием гоносомной аномалии, например, изодицентрической хромосомы Y. Для пациентов с данными типами аберраций хромосомы Y, как правило, характерно нарушение формирования пола и бесплодие [22].

Неполные (частичные) AZF-делеции, в большинстве случаев частично удаляющие AZFc и/или AZFb регион(ы), характеризуются вариабельностью в состоянии сперматогенеза и показателей спермограммы у их носителей (от нормозооспермии до астено-/тератозооспермии, олигозооспермии различной степени и азооспермии), что обусловлено потерей только части копий генов (*DAZ*, *CDY1*, *RBMY* и других) данных регионов [23,24]. Наличие некоторых типов частичных делеций регионов AZF можно рассматривать как predisposing фактор к нарушению сперматогенеза и снижению фертильности у мужчин [24].

Микроструктурные перестройки аутосом и хромосомы X

Не только микроделеции хромосомы Y, но и некоторые несбалансированные микроструктурные перестройки (варианты числа копий – CNV) различных аутосом и хромосомы X могут вызывать нарушения сперматогенеза и/или репродуктивной функции, быть генетической причиной мужского бесплодия или фактором нарушения фертильности [19,25–27]. Значимость различных CNV варьирует, и многие выявленные аутосомные и X-сцепленные CNV не имеют клинической значимости. Так, при обследовании мужчин с различным статусом фертильности (с бесплодием и фертильных) выявлены 73 CNV (44 дупликации и 29 делеций) хромосомы X, из них 12 микроделений хромосомы X только у пациентов с бесплодием. При этом количество X-сцепленных CNV, выявленное у мужчин с бесплодием, значимо выше по сравнению с фертильными мужчинами (0,57 против 0,21 делеций/чел.) и больше средний размер делеции (11,79 т.п.н. против 8,13 т.п.н.) [28,29]. Делеции, захватывающие ген *DMRT1*, обнаружены у 0,3% пациентов с азооспермией неясного генеза [30]. Как правило, для обнаружения аутосомных и X-сцепленных CNV используют arrayCGH, кроме того, детекция микроделений и дупликаций возможна путём таргетного генетического анализа с использованием технологий XMA, MPS MLPA, ПЦР в реальном времени.

Генные варианты в этиологии нарушения фертильности у мужчин

Гены, контролирующие репродуктивную функцию у мужчин, могут регулировать формирование пола и развитие органов мочеполовой системы, процессы,

необходимые для созревания мужских гамет и реализации репродуктивной функции. В значительной мере генетические нарушения влияют на деление и созревание мужских половых клеток, развитие и функцию других клеток тестикулярной ткани (клеток Сертоли, Лейдига, клеток эпидидимиса). Выявлено множество генов, контролирующих различные этапы сперматогенеза, в частности, миграцию, пролиферацию и апоптоз первичных половых клеток, деление и дифференцировку незрелых мужских половых клеток (сперматогониев и сперматоцитов), прохождение различных стадий мейоза, созревание сперматид и сперматозоидов [5].

Вследствие многочисленности случаев многофакторного нарушения фертильности, неспецифичности фенотипических нарушений у пациентов с бесплодием, в том числе вызванным генетическими причинами, а также выраженной генетической гетерогенности несиндромальных и синдромальных форм мужского бесплодия, вызванных патогенными CNV (кроме микроделений хромосомы Y) или генными вариантами, в неотобранных выборках пациентов с бесплодием анализ отдельных генов или панелей генов имеет низкую диагностическую эффективность. У пациентов с тяжелыми формами нарушения репродукции может быть использовано геномное исследование (например, секвенирование экзона/генома и в определенных клинических случаях – ХМА) в качестве дополнительного генетического теста. Кроме того, полноэкзомное секвенирование или секвенирование клинического экзона, а также анализ на носительство патогенных вариантов частых моногенных заболеваний (муковисцидоз, фенилкетонурия, спинальная амиотрофия, нейросенсорная тугоухость, дефицит 21-гидроксилазы и др.) повышают эффективность прекоцепционной профилактики наследственных заболеваний у потомства.

Гены, связанные с азооспермией и олигозооспермией

Одной из частых причин обструктивной азооспермии является врожденное или приобретенное нарушение проходимости семявыносящих протоков, двустороннее поражение придатков яичка. Врожденное нарушение проходимости семявыносящих протоков может быть, как двухсторонним, так и односторонним (синдромы CBAVD и CUAVD, соответственно) [31–33]. Причинами около половины случаев синдрома CUAVD и около 80% случаев синдрома CBAVD являются патогенные варианты в гене муковисцидоза – *CFTR* [33]. Муковисцидоз (*МВ*) – тяжелое прогрессирующее моногенное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, вызываемое патогенными вари-

антами в гене *CFTR* – трансмембранного регулятора проводимости ионов натрия и хлора [34]. В настоящий момент описано более 2 тыс. патогенных вариантов гена *CFTR*, наиболее частым из которых является мутация F508del [база данных по патогенным вариантам гена *CFTR* – The Cystic Fibrosis Mutation Database, <https://www.cftr2.org/>].

Более чем 97% мужчин, больных МВ, инфертильны вследствие нарушения проходимости семявыносящих путей [33]. У 85–90% мужчин с МВ диагностируют обструктивную форму азооспермии, уменьшение объема эякулята (олигоспермию) с изменением pH среды в кислую сторону (pH <7,0) и низкой концентрацией фруктозы в семенной жидкости. В большинстве ДНК-исследований, проведенных у мужчин с бесплодием, для поиска мутаций в гене *CFTR* используют анализ панелей частых патогенных вариантов от единичных до 30 и более) [33]. Частота патогенных вариантов достоверно выше в группе лиц, у которых диагностированы азооспермия и/или криптозооспермия в сравнении с пациентами с олигозооспермией, астенозооспермией и нормозооспермией [32]. Однако значительная часть мутаций у мужчин с CBAVD остается невыявленной [32,35], поэтому точная оценка генетического риска не всегда возможна. Повысить эффективность выявления мутаций гена *CFTR* можно при анализе большого числа патогенных аллелей, и особенно с использованием секвенирования всей последовательности гена и анализа его микроделений и микродупликаций, например, методом MLPA [31,33].

Недавно выявлен еще один ген, ответственный за развитие двусторонней аплазии семявыносящих протоков у пациентов, не имеющих патогенных вариантов в гене *CFTR*, при относительно редком варианте аплазии семявыносящих протоков (синдром CBAVDX). Данный ген *ADGRG2* располагается на хромосоме X и в норме находится в гемизиготном состоянии, а его патогенные варианты обнаружены у 15–20% пациентов с CBAVD, не имеющих патогенных вариантов или 5T аллеля в гене *CFTR* [36,37].

В отличие от обструктивной формы, необструктивная форма азооспермии и олигозооспермия тяжелой степени характеризуются многообразием причин и выраженной генетической гетерогенностью. Выявлено множество генов, которые связаны с несиндромальными формами азооспермии и олигозооспермии (*KLHL10*, *MEIOB*, *NANOS1*, *SOHLH1*, *SYCE1*, *SYCP2*, *SYCP3*, *SPINK2*, *SPATA17*, *TAF4B*, *TEX11*, *TEX15*, *TDRD9*, *ZMYND15* и др.) [5]. Около 2 тысяч генов имеют отношение к мужской фертильности. Относительно часто мужское бесплодие и патозооспермию связывают с X-сцепленными генными мутациями. Так, пато-

генные варианты гена андрогенового рецептора (*AR*) обнаруживают у 2% мужчин с бесплодием, имеющих азооспермию или олигозооспермию без признаков нечувствительности к андрогенам или с признаками ее мягких форм [38].

Генетически обусловленная астено-/тератозооспермия

Кроме таких форм патозооспермии, как азооспермия и олигозооспермия, генетически обусловленное мужское бесплодие, неподдающееся лечению, а в ряде случаев непреодолимое и с помощью методов вспомогательных репродуктивных технологий – ВРТ (ЭКО/ICSI) может быть обусловлено морфологическими или ультраструктурными аномалиями мужских и женских гамет (“синдромальными” гаметопатиями), выраженным снижением или утратой подвижности и/или оплодотворяющей способности сперматозоидов. К синдромальным формам тератозооспермии относят синдром «неподвижных ресничек» (первичная цилиарная дискинезия/синдром Картагенера), глобулозооспермию, синдромы множественных аномалий жгутика, дисплазию фиброзного слоя жгутика, синдромы ацефалических сперматозоидов, «незрелого хроматина».

Первичная цилиарная дискинезия, ПЦД (Primary ciliary dyskinesia, PCD, MIM#244400)- гетерогенная группа аутосомно-рецессивных и X-сцепленных рецессивных заболеваний, обусловленных дефектами строения и функций реснитчатого аппарата жгутиков и ресничек. Мужчины с ПЦД страдают бесплодием из-за субтотальной или тотальной астенозооспермии. Электронная микроскопия сперматозоидов (ЭМИС) позволяет диагностировать различные аномалии ультраструктуры аксонемы и других компонентов жгутика (динеиновых ручек, радиальных спиц, центральных микротрубочек) и является важным диагностическим тестом.

В составе аксонемы и примыкающих к ней структур обнаружено более 250 различных белков. В связи с этим до внедрения методов NGS в практику проведение ДНК-диагностики данного высоко гетерогенного наследственного заболевания являлось сложной задачей и имело низкую эффективность. До недавнего времени, в основном, проводили анализ мажорных мутаций двух генов (*DNAI1* и *DNAH5*, кодирующих белки наружных динеиновых ручек аксонемы, связанных с ПЦД/синдромом Картагенера. Выявлены несколько десятков генов, патогенные варианты в которых вызывают нарушения в строении жгутиков сперматозоидов и ведут к ПЦД. Эти гены кодируют белки динеиновых ручек (*DNAH5*, *DNAI1*, *DNAI2*, *DNAL1*, *DNAH11* и др.), радиальных спиц (*RSPH4A*, *RSPH9*, *RSPH4A*),

центральной пары микротрубочек (*HYDIN*), нексинных мостиков (*CCDC39*, *CCDC40*), факторов сборки динеина (*DNAAF1*, *DNAAF2*, *DNAAF3* и др.) и регуляторные белки (*CCNO*, *MCIDAS*) [39].

Пенетрация оболочек яйцеклетки сперматозоидами – важный этап в оплодотворении. Причиной ее нарушений может быть редкая генетически обусловленная «синдромальная» форма тератозооспермии – глобулозооспермия. Выявлены два гена (*DPY19L2* и *SPATA16*), патогенные варианты в которых приводят к тотальной глобулозооспермии, при этом все сперматозоиды имеют округлую головку вследствие отсутствия акросомы. Ген *DPY19L2* (12q14.2), кодирует белок, который необходим в процессе сперматогенеза для удлинения головки сперматозоида и формирования акросомы. Патогенные варианты гена *DPY19L2* обуславливают около 60–80% причин глобулозооспермии. Ген *SPATA16* располагается в локусе 3q26.31. Кодируемый им белок активизирует процессы биогенеза акросомы и вовлечен в контроль сегрегации хромосом в процессе мейоза. Гомозиготные патогенные варианты генов *DPY19L2* и *SPATA16* могут приводить к высокой частоте анеуплоидий, что является показанием для проведения преимплантационного генетического тестирования на анеуплоидии (ПГТ-А) в программах ЭКО/ICSI [40].

Проведение помимо стандартного спермиологического анализа ЭМИС в случаях выраженной астенозооспермии и астенотератозооспермии, а также тотальной или субтотальной тератозооспермии повышает эффективность определения генетически обусловленного мужского бесплодия, а в ряде случаев синдромальной патозооспермии, позволяет определить ее форму и даже гены, которые необходимы для исследования (например, при глобулозооспермии, определенных морфологических вариантах ПЦД).

Анеуплоидия в сперматозоидах как фактор снижения мужской фертильности

В ходе сперматогенеза у человека происходят уменьшение количества наследственного материала с диплоидного до гаплоидного хромосомного набора, генетическая рекомбинация, а также компактизация и созревание хроматина. Эти процессы подвержены нарушениям и возникновению различных (геномных, хромосомных, генных и эпигенетических нарушений), в результате которых могут возникать числовые и структурные хромосомные аномалии (ХА). Методом FISH может быть оценена анеуплоидия по частоте встречаемости гамет с хромосомным дисбалансом по различным хромосомам [41].

У здоровых фертильных мужчин в среднем частота встречаемости сперматозоидов с анеуплоидией по хромосомам всего ряда в среднем составляет 4–5% [42]. При этом в среднем частота встречаемости сперматозоидов с дисомией по аутосомам составляет 0,1%. Частота встречаемости сперматозоидов с дисомией по хромосоме 21 составляет 0,17%, а с дисомией по половым хромосомам – 0,26% [42]. У здоровых фертильных мужчин с нормозооспермией количество сперматозоидов с анеуплоидией по аутосомам и гоносомам варьирует от 0,03 до 0,75% [43]. Среди мужчин с нарушением сперматогенеза, тератозооспермией, олигозооспермией в сочетанной или изолированной формах частота встречаемости сперматозоидов с анеуплоидией может значительно превосходить таковую в группе здоровых фертильных мужчин с нормозооспермией [44].

В зависимости от степени нарушения сперматогенеза или формы патозооспермии частота встречаемости анеуплоидных гамет может превосходить референсные значения в 1,5–3 раза или более. Высокая частота мейотического нерасхождения хромосом в большей степени связана с изменением концентрации сперматозоидов в эякуляте, нежели с изменением других сперматологических показателей, например, количества (%) прогрессивно подвижных и морфологически аномальных сперматозоидов. Для мужчин с тяжелой формой олигозооспермии при концентрации сперматозоидов менее 1 млн/мл в среднем характерна наиболее высокая частота встречаемости сперматозоидов с анеуплоидией. Частота встречаемости сперматозоидов с XY-дисомией у пациентов с выраженной олигоспермией составляет $1,20 \pm 1,12\%$, поэтому их можно отнести в группу риска по передаче потомству дополнительного хромосомного материала или сверхчисленных хромосом [45]. Высокая частота мейотического нерасхождения хромосом у мужчин с патозооспермией негативно влияет на способность сперматозоидов к оплодотворению и на эффективность имплантации бластоцисты, поэтому является важным фактором мужской фертильности [46].

Современные подходы к генетической диагностике мужского бесплодия

В связи с выраженной этиологической гетерогенностью многих генетически обусловленных форм нарушения репродуктивной системы значительное количество патогенных вариантов не удается выявить при стандартном медико-генетическом обследовании. Особенно это касается генных мутаций и CNV в связи с недостаточно широким использованием в практической медицине молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов исследования.

До недавнего времени высокоразрешающие методы анализа генома не применяли широко в практической медицине в связи с высокой стоимостью, сложностью и длительностью выполнения анализа и интерпретации полученных результатов. Их использование в диагностике генетических форм мужского и женского бесплодия, невынашивания беременности остается недостаточным.

Сравнительная геномная гибридизация позволяет выявлять изменение копийности хромосом и их фрагментов и комплексно оценить наличие несбалансированных изменений генома по всем хромосомам [47]. В настоящее время ХМА широко используют в постнатальной и пренатальной диагностике хромосомных болезней, в частности микроделеционных и микродупликационных синдромов, в ПГТ-А. Помимо несомненных преимуществ у ХМА есть и определенные ограничения, в частности, невозможность выявить сбалансированные перестройки хромосом (реципрокные и Робертсоновские транслокации, инверсии), низкоуровневый хромосомный мозаицизм, химеризм, тетраплоидию. В диагностике бесплодия ХМА может быть использован как дополнительный метод генетического исследования, например, у пациентов с цитогенетически определенными структурными аномалиями хромосом для уточнения точек разрыва при несбалансированных ХА, определения маркерных хромосом, для детекции несбалансированных структурных перестроек и протяженных областей с потерей гетерозиготности.

В последние годы для диагностики наследственных и генетически обусловленных заболеваний активно используют MPS. Полногеномное исследование особенно актуально при редких или спорадических генетически обусловленных заболеваниях, синдромах и состояниях, в том числе связанных с нарушением репродукции, генетическая диагностика которых рутинными методами трудна или неэффективна. Его использование для диагностики наследственных форм мужского бесплодия актуально в тех случаях, когда применением только рутинных генетических исследований (анализ кариотипа, *AZF*, *CFTR*) не позволяет выявить генетические причины нарушения фертильности. Использование полноэкзомного секвенирования показано при отсутствии частых патогенных вариантов и частого (мажорного) гена, при выраженной генетической гетерогенности патозооспермии, например, при несиндромальной необструктивной азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени, синдромальной тератозооспермии. Его выполнение рекомендовано в качестве основного метода молекулярно-генетической диагностики для таких форм мужского беспло-

дия, как, глобулозооспермия, астенозооспермия вследствие ПЦД.

Исходя из собственного опыта и результатов анализа научной литературы нами предложены рекомендации по использованию различных методов лабораторной диагностики генетически обусловленных нарушений репродуктивной функции у мужчин в зависимости от формы патозооспермии (табл. 2).

После клинико-генетического обследования всем пациентам с нарушением фертильности рекомендовано выполнение СЦИ (анализ кариотипа в лимфоцитах периферической крови). При выявлении хромосомных аномалий решается вопрос о необходимости дальнейшего медико-генетического обследования и его тактика. Так, при необходимости (например, при обнаружении маркерных хромосом, выявлении мозаицизма или подозрении на мозаицизм) необходимо дополнительное молекулярно-цитогенетическое исследование – FISH на соматических клетках (лимфоцитах, буккальном эпителии, фибробластах, биоптатах гонад). У мужчин-носителей ХА или пациентов с нормальным мужским кариотипом по показаниям и

при отсутствии азооспермии, криптозооспермии может быть исследована анеуплоидия в сперматозоидах, определен тип сегрегации перестроенных хромосом.

Пациентам с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени рекомендовано молекулярно-генетическое исследование на наличие микроделаций хромосомы Y и анализ на частые патогенные и полиморфизм IVS8-Tn гена *CFTR*, числа CAG-повторов гена *AR* (табл. 2, рис. 1). При подозрении на моногенные формы нарушений репродуктивной системы может быть выполнен таргетный анализ гена(ов), связанных с нарушением формирования пола и/или синдромальными формами азооспермии/олигозооспермии (например, генов *AR*, *SFI*, *WTI*). При отсутствии синдромальных форм и нарушений, выявленных упомянутыми выше методами, в качестве дополнительного углубленного исследования можно рекомендовать ХМА и секвенирование экзона (табл. 2).

У пациентов с выраженной (тотальной и субтотальной) астенозооспермией и тератозооспермией, астено-тератозооспермией тяжелой степени, неудача программы ЭКО/ICSI рекомендовано проведение

Таблица 2

Рекомендуемые исследования для диагностики генетических форм мужского бесплодия у пациентов с различными сперматологическими диагнозами

Результаты семиологического исследования	Рекомендуемые исследования
Азооспермия или олигозооспермия тяжелой степени	СЦИ (анализ кариотипа) Микроделации AZF, мутации гена <i>CFTR</i> , CAG-повторы гена <i>AR</i> FISH на соматических клетках (лимфоцитах, буккальном эпителии, фибробластах, биоптатах гонад) – по показаниям Таргетный анализ генов, связанных с синдромальными формами азооспермии/олигозооспермии, НФП (<i>AR</i> , <i>SFI</i> , <i>WTI</i> , <i>TEX11</i> и др.) – по показаниям или как дополнительное ХМА (дополнительное исследование) Секвенирование экзона/генома (дополнительное исследование)
Астено-/тератозооспермия тяжелой степени	СЦИ (анализ кариотипа) ЭМИС FISH на соматических клетках (лимфоцитах, буккальном эпителии, фибробластах, биоптатах гонад) - по показаниям FISH сперматозоидов – по показаниям (дополнительное) Таргетный анализ генов, связанных с синдромальными формами астено-/тератозооспермии Секвенирование экзона/генома (дополнительное) ХМА (дополнительное исследование)
Олиго-/астено-/тератозооспермия нетяжелой степени и нормозооспермия	СЦИ (анализ кариотипа) ЭМИС (дополнительное) FISH на соматических клетках (лимфоцитах, буккальном эпителии, фибробластах, биоптатах гонад) – по показаниям Таргетный анализ генов, связанных с синдромальными формами – по показаниям FISH сперматозоидов – по показаниям (дополнительное) Секвенирование экзона/генома (дополнительное) ХМА (дополнительное исследование)

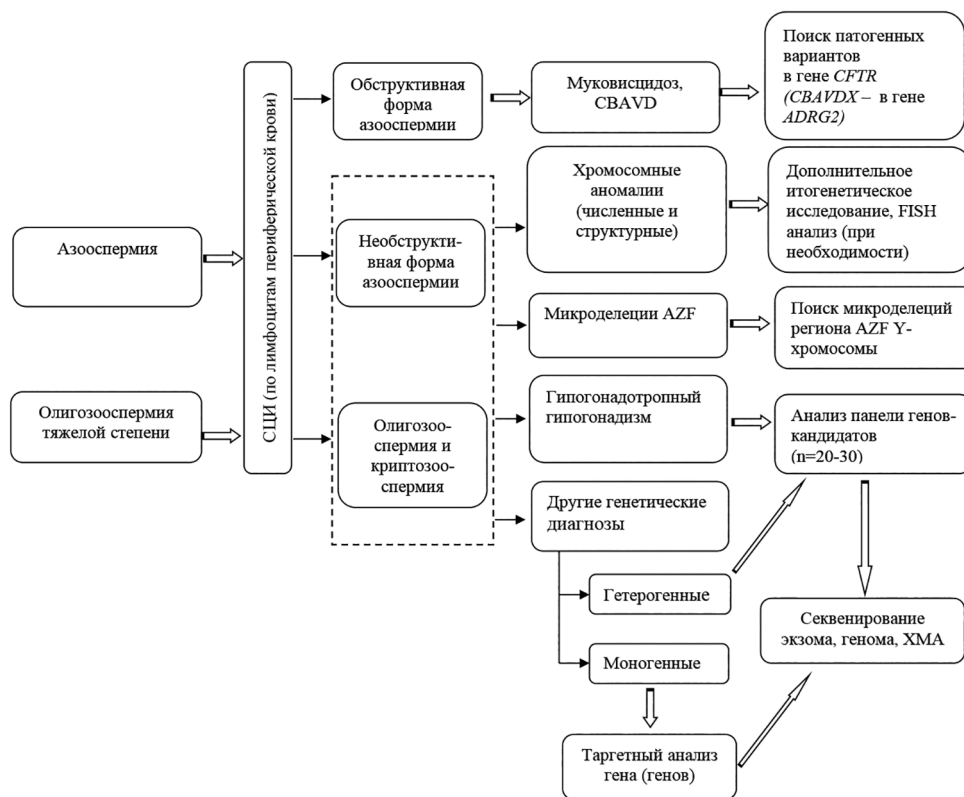


Рис. 1. Общая схема цитогенетического и молекулярно-генетического обследования мужчин с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени.



Рис. 2. Общий алгоритм поиска патогенных вариантов в генах, связанных с синдромальной астено- / тератозооспермией.

ЭМИС для выявления ультраструктурных нарушений мужских гамет (например, синдрома «незрелого» хроматина, аномалий акросомы и аксонемы, дисплазии фиброзного слоя, агенезии центриоли и др.). При обнаружении синдромальных форм тератозооспермии возможен таргетный анализ генов, ответственных за формы сперматозоидопатии с низкой гетерогенностью (например, при глобулозооспермии). В случаях мужского бесплодия с высоко гетерогенными выраженными нарушениями строения и функций сперматозоидов показано секвенирование экзома/генома, дополняемого при необходимости таргетным анализом ответственных генов, в том числе анализом их микроделеционных и микродупликационных перестроек методом MLPA (рис. 2).

Для пациентов с олиго-/астено-/тератозооспермией нетяжелой степени или с нормозооспермией основным генетическим исследованием является анализ кариотипа методом СЦИ. Остальные генетические исследования рекомендованы при наличии показаний, в частности, синдромальных форм мужского бесплодия. Например, при наличии синдромальных форм нарушений репродукции, совместимых с умеренно тяжелыми формами патозооспермии (например, синдром Кальмана, синдром Рейфенштейна/мягкие формы нечувствительности к андрогенам и др.) показан таргетный анализ генов, связанных с соответствующими синдромами. При выявлении у плода хромосомных аномалий, а также повторных неудачах программ ЭКО/ICSI, в том числе связанных с анеуплоидией у эмбрионов при ПГТ-А, может быть рекомендован FISH-анализ анеуплоидии в сперматозоидах.

Конечно, невозможно описать все возможные клинические ситуации, поэтому следует рассматривать предложенные нами выше рекомендации не как некие строгие директивы, а как основы при определении тактики дальнейшего, в том числе дополнительного генетического обследования. Отдельно следует упомянуть, что наличие одного генетического нарушения не исключает другого и их сочетаний («double trouble»), особенно у пациентов с тяжелыми формами бесплодия. В последнее время медико-генетическое обследование пациентов с нарушением фертильности и супружеских пар, планирующих беременность, все чаще включает тестирование на носительство частых патогенных вариантов моногенных заболеваний (МВ, фенилкетонурия, спинальная амиотрофия, нейросенсорная тугоухость, дефицит 21-гидроксилазы и др.). В будущем выполнение секвенирование экзома/генома будет шире использоваться, что позволит не только повысить эффективность выявления генетических причин нарушений репродукции, но и профилактики наследственных заболеваний.

Заключение

Современные геномные технологии, как молекулярно-цитогенетические, так и молекулярно-генетические, позволяют детектировать различные генетические нарушения и варианты. Они успешно применяются для диагностики различных генетически обусловленных заболеваний, в том числе нарушений репродукции. Однако не следует пренебрегать клинико-генетическим обследованием и недооценивать возможности стандартных СЦИ и FISH. Во многих случаях генетической диагностики нарушений репродукции без их использования невозможно обойтись. Именно сочетание общепринятых методов генетической диагностики и новых молекулярных технологий геномного и постгеномного анализа, а также методов андрологического, репродуктологического обследования существенно повышает эффективность выявления причин бесплодия, оценки прогноза и тактики преодоления проблем репродукции у пациентов с нарушением фертильности. Залогом успешной диагностики генетических нарушений репродукции является индивидуальный подход в объеме и тактике обследования мужчин с нарушением фертильности. Надеемся, что приведенные выше общие рекомендации будут полезны многим врачам-генетикам и другим специалистам в области репродуктивной медицины.

ЛИТЕРАТУРА

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.
2. Olesen I.A., Joensen U.N., Petersen J.H., et al. Decrease in semen quality and Leydig cell function in infertile men: a longitudinal study. *Hum Reprod.* 2018; 33(11): 1963–1974.
3. WHO. Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010.
4. Черных В.Б., Яманди Т.А., Сафина Н.Ю. Новые молекулярные технологии в диагностике генетической причин мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2017; 18(1): 10–22.
5. Соловова О.А., Черных В.Б. Гены несиндромальных форм азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени. *Андрология и генитальная хирургия* 2019; 20(2): 16–28.
6. Курило Л.Ф. Аномалии развития половой системы вследствие генных мутаций (Обзор литературы). *Клиническая и экспериментальная морфология* 2014; 2 (10): 58–65.
7. Курило Л.Ф., Андреева М.В., Коломиец О.В. и др. Генетические синдромы с нарушениями развития органов половой системы. *Андрология и генитальная хирургия* 2013; 14(4): 17–27.
8. Lanfranco F., Kamischke A., Zitzmann M., et al. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004; 364: 273–283.
9. Abdel-Razic M.M., Abdel-Hamid I.A., ElSobky E.S. Nonmosaic 47, XYY syndrome presenting with male infertility: case series. *Andrologia* 2012; 44: 200–204.

10. Layman L.C., Tho S.P., Clark A.D., et al. Phenotypic spectrum of 45,X/46,XY males with a ring Y chromosome and bilaterally descended testes. *Fertil Steril.* 2009; 91: 791–797.
11. Kara M., Sen A., Cetin E.S., et al. Chromosomal translocation t(10;19)(q11.2;q13.4) in an infertile male. *Eurasian J Med.* 2014; 46: 220–223.
12. Ogur G., Van Assche E., Vegetti W. et al. Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers. *Mol Hum Reprod.* 2006; 12: 209–215.
13. Mozdarani H., Meybodi A.M., Zari-Moradi S. A cytogenetic study of couples with recurrent spontaneous abortions and infertile patients with recurrent IVF/ICSI failure. *Indian J Hum Genet.* 2008; 14: 1–6.
14. 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: 5–19. doi:10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x.
15. Colaco S., Lakdawala A., Modi D. Role of Y chromosome microdeletions in the clinical evaluation of infertile males. *MGM J Med Sci.* 2017; 4: 79–88.
16. Foresta C., Ferlin A., Gianaroli L., et al. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Eur. J. Hum. Genet.* 2002. Suppl. 4: 41–49.
17. Foresta C., Moro E., Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr. Rev.* 2001; 22: 14–41.
18. Gardner McKinlay R.J., Gardner D.J.A. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling, 5th ed. Oxford University Press. 2018: 634.
19. Pinho A., Barros A., Fernandes S. Clinical and molecular characterization of Y microdeletions and X-linked CNV67 implications in male fertility: a 20-year experience. *Andrology* 2019 Jul 29. doi: 10.1111/andr.12686.
20. Черных В.Б., Чухрова А.Л., Бескорвайнова Т.С. и др. Типы делеций Y-хромосомы и их частота у мужчин с бесплодием. *Генетика* 2006; 42(8): 936–941.
21. Katsumi M., Ishikawa H., Tanaka Y. et al. Microhomology-mediated microduplication in the Y chromosomal azoospermia factor a region in a male with mild asthenozoospermia. *Cytogenet Genome Res.* 2014; 144(4): 285–289.
22. Kalantari H., Asia S., Totonchi M., et al. Delineating the association between isodicentric chromosome Y and infertility: a retrospective study. *Fertil Steril.* 2014; 101(4): 1091–1096.
23. Черных В.Б., Руднева С.А., Сорокина Т.М. и др. Характеристика состояния сперматогенеза у мужчин с бесплодием, имеющих различные типы делеций AZFc-региона. *Андрология и генитальная хирургия* 2014; 15(2): 48–57.
24. Черных В.Б. AZF делеции – частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований. *Проблемы репродукции* 2009; 15(1): 10–15.
25. Tüttelmann F., Simoni M., Kliesch S. et al. Copy number variants in patients with severe oligozoospermia and Sertoli-cell-only syndrome. *PLoS One.* 2011; 6(4): e19426.
26. Luo T., Chen H.Y., Zou Q.X. et al. A novel copy number variation in CATSPER2 causes idiopathic male infertility with normal semen parameters. *Hum Reprod.* 2019; 34(3): 414–423.
27. Röpke A., Tüttelmann F. Mechanisms in endocrinology: Aberrations of the X chromosome as cause of male infertility. *Eur. J. Endocrinol.* 2017; 177(5): 249–259.
28. Krausz C., Giachini C., Lo Giacco D. et al. High Resolution X Chromosome-Specific Array-CGH Detects New CNVs in Infertile Males. *PLoS ONE.* 2012; 7(10): e44887.
29. Lo Giacco D., Chianese C., Sánchez-Curbelo J., et al. Clinical relevance of Y-linked CNV screening in male infertility: new insights based on the 8-year experience of a diagnostic genetic laboratory. *Eur. J. Hum. Genet.* 2014; (6): 754–761.
30. Lopes A.M., Aston K.I., Thompson E. et al. Human Spermatogenic Failure Purges Deleterious Mutation Load from the Autosomes and Both Sex Chromosomes, including the Gene DMRT1. *PLoS Genetics* 2013; 9(3): e1003349.
31. Chillon V., Casals N., Mercier B, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *New Eng. J. Med.* 1995; 332: 1475–1480.
32. Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod. Biomed. Online* 2005; 10(1): 14–41.
33. Khan M.J., Pollock N., Jiang H., et al. X-linked ADGRG2 mutation and obstructive azoospermia in a large Pakistani family. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 16280.
34. Stoltz D.A., Meyerholz D.K., Welsh M.J. Origins of cystic fibrosis lung disease. *New Eng. J. Med.* 2015; 372: 1574–1575.
35. Patat O., Pagin A., Siegfried A., et al. Truncating Mutations in the Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene ADGRG2 Cause an X-Linked Congenital Bilateral Absence of Vas Deferens. *Am J Hum Genet.* 2016; 99(2): 437–442.
36. Yuan P., Liang Z.K., Liang H., et al. Expanding the phenotypic and genetic spectrum of Chinese patients with congenital absence of vas deferens bearing CFTR and ADGRG2 alleles. *Andrology* 2019; 7(3): 329–340.
37. 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.
38. Leigh M.W., Horani A., Kinghorn B. et al. Primary ciliary dyskinesia (PCD): a genetic disorder of motile cilia. *Transl. Sci. Rare Dis.* 2019; 4: 51–75.
39. Ghedir H., Braham A., Viville S., et al. Comparison of sperm morphology and nuclear sperm quality in SPATA 16 and DPY19L2 mutated globozoospermic patients. *Andrologia* 2019: 13277.
40. Guttenbach M., Schakowski R., Schmid M. Incidence of chromosome 3, 7, 10, 11, 17 and X disomy in mature human sperm nuclei as determined by nonradioactive in situ hybridization. *Hum. Genet.* 1994; (1): 7–12.
41. Templado C., Vidal F., Estop A. Aneuploidy in human spermatozoa. *Cytogenet. Genome Res.* 2011; 133: 91–99.
42. Гордеева Е.Г., Шилейко Л.В., Панкратова О.С. и др. Частота анеуплоидий в гаметах у фертильных мужчин. *Генетика* 2011; 47(5): 1–7.
43. Sarrate Z., Vidal F., Blanco J. Role of sperm fluorescent in situ hybridization studies in infertile patients: indications, study approach, and clinical relevance. *Fertil. Steril.* 2010; 93(6): 1892–1902.
44. Гордеева Е.Г., Сорокина Т.М., Шилейко Л.В. и др. Частота встречаемости гамет с анеуплоидией у мужчин с нарушением репродуктивной функции и патозооспермией. *Мед. генетика* 2013; 12(2): 18–24.
45. Nicropoulos J.D., Gilling-Smith C., Almeida P.A., et al. The role of sperm aneuploidy as a predictor of the success of intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.* 2008; 23: 240–250.
46. Rubio C., Gil-Salom M., Simon C. et al. Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum. Reprod.* 2001; 16: 2084–2092.
47. Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В., Потапов Н.Н. и др. Сравнительный анализ цитогенетического исследования и хромосомного микроматричного анализа биологического материала при невынашивании беременности. *Медицинская генетика* 2018; 17(5): 23–27.

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.

2. Olesen I.A., Joensen U.N., Petersen J.H., et al. Decrease in semen quality and Leydig cell function in infertile men: a longitudinal study. *Hum Reprod.* 2018; 33(11): 1963–1974.
3. WHO. Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010.
4. Chernykh V.B., Yamandi T.A., Safina N.Y. Novyye molekulyarnyye tekhnologii v diagnostike geneticheskoy prichiny muzhskogo besplodiya. [New molecular technologies in genetic diagnosis of male infertility]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and Genital Surgery]*. 2017;18(1):10–22. (In Russ.) doi.org/10.17650/2070-9781-2017-18-1-10-22
5. Solovova O.A., Chernykh V.B. Geny nesindromal'nykh form azoospermii i oligozoospermii tyazhelyy stepeni [Genetic causes of non-syndromic forms of azoospermia and severe oligozoospermia in infertile men]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and Genital Surgery]*. 2019; 20(2):16–28. (In Russ.) doi.org/10.17650/2070-9781-2019-20-2-16-28
6. Kurilo L.F. Anomalii razvitiya polovoy sistemy vsledstviye gennykh mutatsiy (Obzor literatury) [Developmental anomalies of the reproductive system caused by gene mutations. Review]. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya [Clinical and experimental morphology]* 2014; 2(10): 58–65. (In Russ)
7. Kurilo L.F., Andreeva M.V., Kolomiets O.L., et al. Geneticheskoye sindromy s narusheniyami razvitiya organov polovoy sistemy. [Genetically caused congenital anomalies of reproductive system]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and Genital Surgery]*. 2013;14(4):17–27. (In Russ) doi.org/10.17650/2070-9781-2013-4-17-27
8. Lanfranco F., Kamischke A., Zitzmann M., et al. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004; 364: 273–283.
9. Abdel-Razic M.M., Abdel-Hamid I.A., ElSobky E.S. Nonmosaic 47, XYY syndrome presenting with male infertility: case series. *Andrologia* 2012; 44: 200–204.
10. Layman L.C., Tho S.P., Clark A.D., et al. Phenotypic spectrum of 45,X/46,XY males with a ring Y chromosome and bilaterally descended testes. *Fertil Steril.* 2009; 91: 791–797.
11. Kara M., Sen A., Cetin E.S., et al. Chromosomal translocation t(10;19)(q11.2;q13.4) in an infertile male. *Eurasian J Med.* 2014; 46: 220–223.
12. Ogur G., Van Assche E., Vegetti W. et al. Chromosomal segregation in spermatozoa of 14 Robertsonian translocation carriers. *Mol Hum Reprod.* 2006; 12: 209–215.
13. Mozdarani H., Meybodi A.M., Zari-Moradi S. A cytogenetic study of couples with recurrent spontaneous abortions and infertile patients with recurrent IVF/ICSI failure. *Indian J Hum Genet.* 2008; 14: 1–6.
14. 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: 5–19. doi:10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x.
15. Colaco S., Lakdawala A., Modi D. Role of Y chromosome microdeletions in the clinical evaluation of infertile males. *MGM J Med Sci.* 2017; 4: 79–88.
16. Foresta C., Ferlin A., Gianaroli L., et al. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. *Europ. J. Hum. Genet.* 2002. Suppl. 4: 41–49.
17. Foresta C., Moro E., Ferlin A. Y chromosome microdeletions and alterations of spermatogenesis. *Endocr. Rev.* 2001; 22: 14–41.
18. Gardner McKinlay R.J., Gardner D.J.A. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling, 5th ed. Oxford University Press. 2018: 634.
19. Pinho A., Barros A., Fernandes S. Clinical and molecular characterization of Y microdeletions and X-linked CNV67 implications in male fertility: a 20-year experience. *Andrology* 2019 Jul 29. doi: 10.1111/andr.12686.
20. Chernykh V.B., Chukhrova A.L., Beskorovaynova T.S. et al. Tipy deletsii Y-khromosomy i ikh chastota u muzhchin s besplodiyem [Types of y chromosome deletions and their frequency in infertile men]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2006; 42(8): 936–941
21. Katsumi M., Ishikawa H., Tanaka Y. et al. Microhomology-mediated microduplication in the Y chromosomal azoospermia factor a region in a male with mild asthenozoospermia. *Cytogenet Genome Res.* 2014; 144(4): 285–289.
22. Kalantari H., Asia S., Totonchi M., et al. Delineating the association between isodicentric chromosome Y and infertility: a retrospective study. *Fertil Steril.* 2014; 101(4): 1091–1096.
23. Chernykh V.B., Rudneva S.A., Sorokina T.M. et al. Kharakteristika sostoyaniya spermatogeneza u muzhchin s besplodiyem, imeyushchikh razlichnyye tipy deletsiiy AZFc-regiona [Characteristics of spermatogenesis in infertile men with the AZFc region deletions]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and Genital Surgery]*. 2014;15(2):48–57. (In Russ.) doi.org/10.17650/2070-9781-2014-2-48-57
24. Chernykh V.B. AZF deletsii – chastaya geneticheskaya prichina besplodiya u muzhchin: sovremennoye sostoyaniye issledovaniy [AZF deletions are common genetic cause of male infertility: the current state of research]. *Problemy reproduktivnoy [Russian Journal of Human Reproduction]*. 2009; 15(1): 10–15 (In Russ.)
25. Tüttelmann F., Simoni M., Kliesch S. et al. Copy number variants in patients with severe oligozoospermia and Sertoli-cell-only syndrome. *PLoS One.* 2011; 6(4): e19426.
26. Luo T., Chen H.Y., Zou Q.X. et al. A novel copy number variation in CATSPER2 causes idiopathic male infertility with normal semen parameters. *Hum Reprod.* 2019; 34(3): 414–423.
27. Röpke A., Tüttelmann F. Mechanisms in endocrinology: Aberrations of the X chromosome as cause of male infertility. *Eur. J. Endocrinol.* 2017; 177(5): 249–259.
28. Krausz C., Giachini C., Lo Giacco D. et al. High Resolution X Chromosome-Specific Array-CGH Detects New CNVs in Infertile Males. *PLoS ONE.* 2012; 7(10): e44887.
29. Lo Giacco D., Chianese C., Sánchez-Curbelo J., et al. Clinical relevance of Y-linked CNV screening in male infertility: new insights based on the 8-year experience of a diagnostic genetic laboratory. *Eur. J. Hum. Genet.* 2014; (6): 754–761.
30. Lopes A.M., Aston K.I., Thompson E. et al. Human Spermatogenic Failure Purges Deleterious Mutation Load from the Autosomes and Both Sex Chromosomes, including the Gene DMRT1. *PLoS Genetics* 2013; 9(3): e1003349.
31. Chillon V., Casals N., Mercier B, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *New Eng. J. Med.* 1995; 332: 1475–1480.
32. Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod. Biomed. Online* 2005; (1): 14–41.
33. Khan M.J., Pollock N., Jiang H., et al. X-linked ADGRG2 mutation and obstructive azoospermia in a large Pakistani family. *Sci. Rep.* 2018; 8(1): 16280.
34. Stoltz D.A., Meyerholz D.K., Welsh M.J. Origins of cystic fibrosis lung disease. *New Eng. J. Med.* 2015; 372: 1574–1575.
35. Patat O., Pagin A., Siegfried A., et al. Truncating Mutations in the Adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene ADGRG2 Cause an X-Linked Congenital Bilateral Absence of Vas Deferens. *Am J Hum Genet.* 2016; 99(2): 437–442.
36. Yuan P., Liang Z.K., Liang H., et al. Expanding the phenotypic and genetic spectrum of Chinese patients with congenital absence of vas deferens bearing CFTR and ADGRG2 alleles. *Andrology* 2019; 7(3): 329–340.
37. Chernykh V.B., Rudneva S.A., Sorokina T.M. et al. Vliyaniye SAG-polimorfizma gena androgenovogo retseptora (AR) na spermatogenez u muzhchin s besplodiyem [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.org/10.17650/2070-9781-2015-16-4-55-61

38. Leigh M.W., Horani A., Kinghorn B. et al. Primary ciliary dyskinesia (PCD): a genetic disorder of motile cilia. *Transl. Sci. Rare Dis.* 2019; 4: 51–75.
39. Ghedir H., Braham A., Viville S., et al. Comparison of sperm morphology and nuclear sperm quality in SPATA 16 and DPY19L2 mutated globozoospermic patients. *Andrologia* 2019: 13277.
40. Guttenbach M., Schakowski R., Schmid M. Incidence of chromosome 3, 7, 10, 11, 17 and X disomy in mature human sperm nuclei as determined by nonradioactive in situ hybridization. *Hum. Genet.* 1994; (1): 7-12.
41. Templado C., Vidal F., Estop A. Aneuploidy in human spermatozoa. *Cytogenet. Genome Res.* 2011; 133: 91-99.
42. Гордеева Е.Г., Шилейко Л.В., Панкратова О.С. и др. Частота анеуплоидий в гаметах у фертильных мужчин. *Генетика* 2011; 47(5): 1-7.
43. Sarrate Z., Vidal F., Blanco J. Role of sperm fluorescent in situ hybridization studies in infertile patients: indications, study approach, and clinical relevance. *Fertil. Steril.* 2010; 93(6): 1892-1902.
44. Гордеева Е.Г., Сорокина Т.М., Шилейко Л.В. и др. Частота встречаемости гамет с анеуплоидией у мужчин с нарушением репродуктивной функции и патозооспермией. *Мед. генетика* 2013; 12(2): 18-24.
45. Nicopoullos J.D., Gilling-Smith C., Almeida P.A., et al. The role of sperm aneuploidy as a predictor of the success of intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.* 2008; 23: 240-250.
46. Rubio C., Gil-Salom M., Simon C. et al. Incidence of sperm chromosomal abnormalities in a risk population: relationship with sperm quality and ICSI outcome. *Hum. Reprod.* 2001; 16: 2084-2092.
47. Kudryavtseva E.V., Kovalev V.V., Potapov N.N. et al. Sravnitel'nyy analiz tsitogeneticheskogo issledovaniya i khromosomnogo mikro-matrichnogo analiza biologicheskogo materiala pri nevnashivanii beremennosti [Comparative analysis of standard karyotyping and chromosomal microarray analysis of products of conception obtained with miscarriage]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics]*. 2018;17(5):23-27. (In Russ.) doi.org/10.25557/2073-7998.2018.05.23-27