

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Стаття є фрагментом НДР «Корекція репродуктивних порушень у подружніх пар що страждають на неплоддя в умовах великого промислового центра», № державної реєстрації 0118U007140.

За оцінками ВООЗ близько 15% подружніх пар в світі безплідні. За даними різних джерел щорічно приблизно 15% подружніх пар зазнають невдачі при першій спробі зачати дитину [1]. Причиною відсутності вагітності в 25-30% випадків є чоловічий фактор, 30-35% випадків обумовлені захворюваннями, виявленими у жінки, у 20-30% випадків порушення виявляють у чоловіка та жінки (поєднаний фактор), у 10-15% подружніх пар етіологія невідома (ідіопатичне неплоддя) [2,3,4]. З урахуванням відсотків, що припадають на поєднаний фактор, рівень чоловічого неплоддя значно вищий.

В зарубіжній науковій літературі стан, що супроводжується порушенням репродуктивної функції, визначається термінами «sterility», «subfertility», «idiopatic infertility», що дозволяють чітко охарактеризувати і виділити етіологічний фактор неплоддя.

Великий внесок у визначенні причин порушення репродуктивної функції у людини був зроблений з розвитком ДРТ. Значення генетичних механізмів виникнення порушення репродуктивної функції надзвичайно важливо в зв'язку з використанням ДРТ, які в певній мірі збільшують ризик можливої передачі генної патології потомству, що обумовлено не самою технологією процедури, а можливою передачею дитині мутації або хромосомної перебудови від одного з батьків. Генетична оцінка порушення репродуктивної функції включає тестування подружжя з метою з'ясування причини неплоддя; цитогенетичне і молекулярне обстеження під час застосування однієї з лікувальних програм ДРТ; проведення передімплантаційної і пренатальної діагностики для виявлення моногенної та хромосомної патології після застосування ДРТ. При встановленні генетичної природи порушення репродуктивної функції у одного з подружжя, необхідне проведення медико-генетичного консультування.

Термін «чоловічий фактор неплоддя» використовується у випадках виявлення порушення репродуктивної функції у чоловіків. Зазвичай чоловіче неплоддя класифікують на основі результатів спермограми. У більшості випадків порушення репродуктивної функції у чоловіків пов'язані з порушеннями вироблення сперми, рухливості або функціонування сперматозоїдів, а також порушеннями, пов'язаними з транспортом сперматозоїдів [5,6].

У дослідженнях останніх років було показано, що чоловічий фактор займає 40-50% в структурі причин неплоддя [7,5]. Багато дослідників відзначають погіршення параметрів чоловічої сперми за останні десятиліття. В сучасних умовах збільшився вплив несприятливих факторів навколишнього середовища

на репродуктивну систему чоловіків. Автори книги «Andrology for the Clinician» виділяють наступні чинники, що негативно впливають на чоловічу фертильність: куріння, вживання алкоголю і наркотиків, відвідування сауни, ожиріння, стрес. Тому відмова від «шкідливих» звичок, корекція способу життя, мінімізація впливу шкідливих факторів навколишнього середовища є пріоритетними для оздоровлення чоловічого населення.

Сперматогенез є складним біологічним процесом формування і дозрівання чоловічих статевих клітин в насінних канальцях. Протягом життя у чоловіка дозрівають сотні мільярдів сперматозоїдів. За даними Vogt (2005) процес сперматогенезу залежить від точно контрольованого каскаду активації і деактивації певних генів. У дослідженнях Hargreave (2000), Seshagiri (2001) встановили, що в генетичному контролі процесу реалізації репродуктивної функції у людини беруть участь продукти більш ніж 3000 генів. Більшість з них картовані на аутозомах і приблизно 30 локалізовані на хромосомі Y, мутації в яких приводять до порушення репродуктивної функції. Крім генних, відомі також геномні і хромосомні мутації, які також можуть бути причиною неплоддя.

**За даними літератури існують основні генетичні фактори чоловічого неплоддя: хромосомні аберації (зміни числа і / або структури хромосом), мутації (на рівні гена або групи генів), пошкодження ДНК самих сперматозоїдів (висока фрагментація ДНК в сперматозоїдах) [7,8].**

Хромосомна патологія часто зустрічається у чоловіків з порушенням репродуктивної функції [9].

Згідно з даними деяких авторів показано, що серед чоловіків з порушенням репродуктивної функції, хромосомні зміни виявляють в 5-15% випадків. З них 75% припадає на аномалії статевих хромосом X і Y (аномалії гоносом), 25% – на аномалії нестатевих хромосом (аутосом) [10]. Найчастіше аномалії статевих хромосом переважають у чоловіків з азооспермією, аномалії аутосом у чоловіків з олігозооспермією [11].

Найбільш поширеними серед аномалії статевих хромосом є: синдром Клайнфельтера (СК) і дисомія Y.

**Синдром Клайнфельтера** (каріотип 47, XXY) – найбільш часта патологія статевих хромосом, з частотою зустрітності 1 / 500-700 новонароджених хлопчиків. Характерними ознаками синдрому Клайнфельтера є: евнухозна статура, гінекомастія, крипторхізм і азооспермія. Як правило, новонароджені хлопчики не відрізняються від здорових, іноді спостерігається затримка психомоторного розвитку і гіпоплазія яєчок. Основні клінічні риси проявляються в препубертатному і пубертатному віці.

У дорослих чоловіків при огляді виявляються маленькі щільні яєчка, в яких відсутні герміногенні клітини. Фенотип може варіювати від чоловіків з нормальною вірілізацією до наявності одного з проявів андрогенного дефіциту: оволошіння за жіночим

типом, нестачі волосся на тілі, довгих рук і ніг через пізні окостеніння епіфізів трубчастих кісток. Функція клітин Лейдига при синдромі Клайнфельтера також часто порушена. Рівень тестостерону нормальний або низький, рівень естрадіолу нормальний або підвищений, рівень ФСГ підвищений. Лібідо часто нормальне, незважаючи на знижений рівень тестостерону. Близько 15% чоловіків, які стажають на олігофренію, переважно в ступені легкої дебільності. При більш тяжких порушеннях інтелекту відзначається аутизм, схильність до алкоголізму, асоціальна поведінка. Подальше збільшення кількості хромосоми X веде до більш важкої розумової відсталості, широкому спектру вад і мікроаномалій розвитку.

СК є найчастішою генетичною причиною тестикулярної дисгенезії, що призводить до гіпогонадізму і безпліддя у чоловіків. У більшості (80-85%) пацієнтів з СК виявляють його класичний цитогенетичний варіант – каріотип 47, XXY. В інших випадках виявляють інші цитогенетичні варіанти СК в регулярній або мозаїчній формі. В дослідженнях Sabbaghian et al., а також Frühmessjoer, Kotzot, (2011) відзначають, що потрапило до рідкісних цитогенетичних варіантів відносяться структурні перебудови хромосоми X або Y [12], наприклад з наявністю в каріотипі ізохромосоми X – 47, XY, i (X) (q10) або ізоцентричної хромосоми Y – 47, XX, idic (Y) (11.2). FISH аналіз сперматозоїдів при СК свідчить про підвищення частки анеуплоїдних статевих клітин, в перш за все з нерозходженням статевих хромосом.

За даними Visootsak and Graham (2006) в даний час зростає кількість повідомлень про народження дітей у таких пацієнтів, незважаючи на те, що більшість чоловіків з синдромом Клайнфельтера безплідні. В дослідженнях Densclag et al. (2004) показують, що процедура отримання тестикулярних сперматозоїдів і використання технології ICSI забезпечує настання вагітності в сім'ях з синдромом Клайнфельтера. Однак необхідно ретельно підходити до оцінки хромосомного набору у ембріонів таких пацієнтів у зв'язку з підвищеним ризиком аномального каріотипу.

**Синдром дисомії хромосоми Y** (каріотип 47, XYY) – другий за частотою народження тип аномалії гоносом, частота 1 на 1000 новонароджених.

Каріотип 47, XYY в більшості випадків зустрічається у чоловіків і виключно рідко у жінок в якості рідкісного цитогенетичного варіанту XY-дисгенезії гонад. За літературними даними Stochholm K. et al. (2010) відзначили, що з усіх полісомій у чоловіків, дисомія по хромосомі Y має найбільш м'які фенотипічні прояви. Середній зріст хворих при цьому дещо перевищує норму. Крім цього серед небов'язкових ознак дисомії Y відзначають порушення поведінки (схильність до агресивних реакцій, асоціальних вчинків, імпульсивність, психопатичні риси характеру), легку розумову відсталість, порушення фізичного розвитку і статевого розвитку, крипторхізм, гіпогонадізм. У деяких пацієнтів відзначають шизофренію, депресивні психози, важкі форми психопатій і епілепсію. Однак у більшості чоловіків з каріотипом 47, XYY не спостерігають будь-яких порушень фізичного і розумового розвитку, а їх репродуктивна функція, як правило, не порушена. El-Dahtory F et al. (2009) виявили, що у деяких 47, XYY чоловіків відзначається безпліддя і порушення сперматогенезу, аж до азооспермії,

причина яких в більшості випадків дисомії Y залишається невстановленою.

**Аутосомні хромосомні аномалії** включають в себе зміну числа і структури нестатевих хромосом. Добре відомі хромосомні аберації двох типів: збалансовані і незбалансовані. Збалансовані перебудови хромосом: інверсії (пара і перичентричні); транслокації (робертсонівські, реципрокні); додаткові маркерні хромосоми.

В дослідженнях Shah et al. (2003) виявили, що серед робертсонівських транслокацій, найбільш частими є транслокації між хромосомами 13 і 14 (45, XY, der (13; 14) (q10; q10)) і хромосомами 14 та 21 (45, XY, der (14; 21) (q10; q10)). За даними різних авторів (Sarrate et al., 2005) у носіїв робертсонівських транслокацій частота аномальних сперматозоїдів варіює від 7 до 35%.

Реципрокні транслокації у чоловіків з порушенням репродуктивної функції в каріотипі зустрічаються в 4-10 разів частіше, ніж у фертильних чоловіків. у носіїв реципрокних транслокацій частота аномальних сперматозоїдів варіює від 30 до 70%. (Sarrate et al., 2005).

Перичентричні інверсії – структурні внутрішньохромосомні перебудови, що формуються в результаті двох розривів хромосоми по обидва боки від центромери і подальшим поворотом на 180о сегмента між точками розриву. Morel et al. (2007) встановили, що частота перичентричних інверсій в каріотипі чоловіків з безпліддям в 13 разів вище в порівнянні з частотою перичентричних інверсій у фертильних чоловіків.

Збалансовані перебудови не призводять ні до втрати, ні до додавання генетичного матеріалу, а тільки лише до його переміщення в межах геному, тому найчастіше носії даних перебудов фенотипічно нормальні і здорові, але мають ризик народження дитини з хромосомною патологією. Навпаки, носійство незбалансованих перебудов (делецій і дуплікацій) пацієнта змінює дозові співвідношення генів, тому їх носійство пов'язане з істотними відхиленнями від норми.

Важливість виявлення структурних хромосомних аномалій визначається підвищеним ризиком анеуплоїдії або незбалансованого хромосомного набору у плода, тому необхідне проведення FISH-аналізу (флуоресцентна гібридизація in situ) для більш точного визначення ризику наявності цих порушень у родичів. Анеуплоїдія в сперматозоїдах, особливо в статевих хромосомах, асоційована з важкими порушеннями [13] сперматогенезу.

Необхідно проводити ПГД або амніоцентез та аналіз каріотипу чоловікам з транслокаціями після виконання ЕКО / ІКСІ до імплантації ембріона. Ембріони з виявленими незбалансованими транслокаціями імплантувати не слід.

**Хромосомний гетероморфізм** (варіабельність довжини і розташування гетерохроматинових сегментів, супутникових ниток) – є варіантом норми. Може зустрічатися в сім'ях з репродуктивними втратами або мають дитину з множинними вадами розвитку. Найбільш часто відзначають перичентричну інверсію хромосоми 9, проте зазначений тип інверсії не впливає на репродуктивну функцію.

**Серед генів, що безпосередньо беруть участь в процесі сперматогенезу, можна виділити кілька основних груп.**

**До першої групи** належать гени, що беруть участь в розвитку чоловічої репродуктивної системи і в статевому диференціюванні (SRY, SOX9, WT1, Bcl-2 та ін.) [14,15].

**Делеція в SRY-локусі.** В генетичній детермінації розвитку по чоловічому типу, формуванні яєчок, процесів сперматогенезу особливо важливий ген SRY (Sex-determining Region Y), який розташований в короткому плечі Y-Хромосоми (Yp11.3). Саме в цьому гені виявлено найбільшу кількість мутацій, пов'язаних з дисгенезією гонад і / або інверсією статі. Клінічним прикладом такого порушення є **синдром де ля Шапель, de la Chapelle** (каріотип 46, XX при чоловічому фенотипі). За даними літератури Lee et al., (2007) в даний час цей синдром називають XX-тестикулярна форма порушення формування статі. Зустріваність синдрому 46, XX-чоловік становить 1 на 20 тис. чоловіків. У більшості таких пацієнтів фрагмент хромосоми Y, що містить ген SRY, транслокується на одну із соматичних хромосом. Мутації в цьому гені супроводжуються широким діапазоном клінічних і фенотипічних проявів – від повної реверсії статі до недорозвинення чоловічих гонад [14]. Такі чоловіки, як правило, безплідні. Навпаки, при відсутності ділянки хромосоми, що містить ген SRY, або мутації в зазначеному гені фенотип буде жіночий при чоловічому каріотипі 46, XY (**синдром Свайера**). Тестування на наявність SRY-локусу можна проводити FISH-методом, а мутації в цьому локусі виявляються методами ПЛР на додаток до традиційного каріотипування.

**Аномалії розвитку вольфової протоки** найчастіше пов'язують з порушенням трансмембранного регуляторного білка муковісцидозу CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator).

Мутації гена CFTR веде, як правило, до розвитку найпоширенішого спадкового аутосомно-рецесивного моногенного захворювання – муковісцидозу, а також може бути причиною чоловічого безпліддя. Ген CFTR людини розташований на короткому плечі 17 хромосоми. Він кодує мембранний білок, який функціонує як іонний канал, одночасно впливаючи на формування сім'явидуючих протоків, насінних бульбашок, сім'явиносних протоків і дистальних 2/3 придатків яєчок. З мутацією гена CFTR асоційована вроджена двостороння відсутність сім'явидної протоки (ВДОСП, CBAVD – congenital bilateral absence of the vas deferens). У різних країнах частка таких чоловіків серед хворих з ОА варіює. У кожного 2-го пацієнта з ВДОСП відзначаються захворювання верхніх дихальних шляхів. Клінічно відсутність сім'явиносних протоків часто не виявляється, тому для виключення ВДОСП всіх пацієнтів з азооспермією слід дуже ретельно обстежити, особливо чоловіків з об'ємом сперми <1,5 мл і рН <7. Опубліковано велику кількість робіт з результатами досліджень чоловіків з ВДОСП на наявність різного роду мутацій [16]. Результати досліджень говорять про те, що чим більший об'єм і кількість визначень (тестів), тим вище відсоток чоловіків, у яких ці мутації виявляються. На даний момент відомо більше 1000 видів різних мутацій гена CFTR. Проводити аналіз на всі можливі мутації не доцільно, оскільки більшість з них в цій специфічній популяції чоловіків зустрічаєть-

ся вкрай рідко. Мутації можуть бути знайдені в обох копіях гена CFTR, однак у більшості чоловіків з ВДОСП мутація виявляється тільки в 1 алелі. У кожного пацієнта з ВДОСП необхідно проводити аналіз гена CFTR.

Чоловіки з ВДОСП часто мають помірного ступеня вираженості клінічні прояви муковісцидозу (наприклад, наявність в анамнезі частих легеневих інфекцій). Слід проводити спостереження за дітьми, які є гомозиготними або гетерозиготними носіями за наявністю мутації в гені CFTR, котрі народилися після ІКІ, в тих випадках, коли в батька є ВДОСП.

**У другу групу** включають гени, що забезпечують ендокринну регуляцію. Причиною пригнічення сперматогенезу і чоловічого безпліддя може бути порушення секреції або дії гормонів.

**Синдром Каллмана** – найбільш часта патологія, що має X-зчеплений рецесивний тип спадкування. У пацієнтів з синдромом Каллмана виявлена делеція гена KALIG-1, який локалізується на хромосомі Xp22.3. Різні нововиявлені генні аутосомні мутації також можуть привести до розвитку синдрому Каллмана [17]. Для пацієнтів з даними синдромом характерні гіпогонадотропний гіпогонадізм і анострія, крім цього можуть мати місце і інші клінічні прояви: лицьова асиметрія, вовча паща, монохроматизм, глухота, крипторхізм і аномалії розвитку надниркових залоз. Виявлення ураженого гена може забезпечити більш точне генетичне консультування, наприклад дозволить визначити ризик передачі генетичних порушень потомству.

**Синдром Прадера-Віллі** – хвороба геномного імпринтингу, викликана відсутністю батьківського локусу на хромосомі 15 (15q11-q13); відзначається ожиріння, розумова відсталість, аномалії статевих органів і безпліддя.

**Легка форма синдрому нечутливості до андрогенів (ЛСНА)** Ген рецептору андрогенів (РА) розташовується на довгому плечі X-хромосоми. Мутації цього гена можуть привести до різних форм синдрому нечутливості до андрогенів (СНА) – від легкої до повної. Фенотипічними ознаками повної форми синдрому нечутливості до андрогенів (ПСНА) є наявність жіночих зовнішніх статевих органів і відсутність волосся на лоні (**синдром Морріса**). Неповна форма СНА має різні фенотипічні прояви – від переважно жіночого фенотипу, зовнішніх статевих органів проміжного типу, до переважно чоловічого фенотипу з мікропенісом, променжною гипоспадією і крипторхізмом. Останній варіант фенотипу носить назву **синдрому Рейфенштейна**. При вищенаведених важких формах нечутливості до андрогенів відсутній ризик передачі генетичних порушень в зв'язку з тим, що такі чоловіки не можуть мати біологічних дітей. У пацієнтів з ЛСНА чоловіче безпліддя – первинне і іноді це єдиний клінічний прояв. Дефекти гена РА, що викликають безпліддя при відсутності будь-яких інших клінічних проявів, – рідкісна форма хвороби. Описано лише кілька подібних мутацій у безплідних чоловіків. Функціональна активність андрогенового рецептора залежить від числа повторів CAG (цитозин-аденін-гуанін), корелюють з вмістом вільного тестостерону в сироватці крові. Зниження чутливості рецепторів обернено пропорційно числу CAG-повторів. Збільшення числа CAG-повторів підвищує ризик розвитку оліго- і азооспермії [18,19].

**Третю групу** складають гени, залучені в процес сперматогенезу. До них відносяться гени, локалізова-

ні в локусах AZF (Azoospermia factor region – область фактора азооспермії) на довгому плечі Y хромосоми. Зміни в даному локусі зустрічаються в 7-10% всіх випадків секреторної азооспермії. Наявність мікрodelецій Y-хромосоми в локусі AZF може призводити до зміни морфологічних і фертильних властивостей сперматозоїдів, від незначного зниження сперматогенної активності (гіпосперматогенез) до повного блокування процесу сперматогенезу (синдром «тільки клітини Сертолі»).

Вперше про роль генетичних причин в порушенні сперматогенезу висловлено L. Tiepolo і O. Zuffardi (1976), в своєму дослідженні вони встановили, що безпліддя у чоловіків і азооспермія можуть бути пов'язані з порушеннями структури Y хромосоми. Ділянку довгого плеча Y хромосоми, відповідальну за правильний сперматогенез, вони назвали AZF локусом. Згодом Vogt et al. (1996) на основі отриманих даних про локалізацію і розміри делецій запропонували виділити в локусі хромосоми Yq11.21-q11.23 три субрегіони, що не перекриваються: AZFa, AZFb, AZFc. У кожному з субрегіонів виявлені специфічні гени, що відповідають за правильність формування і дозрівання сперматозоїдів. Наступним етапом стало визначення ступеня значимості кожного гена в процесі сперматогенезу і визначення клінічного результату при їх відсутності або неправильному функціонуванні. Було встановлено, що генетичні порушення даних генів виявляються в середньому у 10-12% чоловіків з азооспермією і у 8-9% чоловіків з олігозооспермією тяжкого ступеня [20]. Найбільш частою мутацією є випадання (мікрodelеції) генів даного локусу. За частотою серед усіх мікрodelецій перше місце займають мікрodelеції AZFc субрегіону [21] і складають 65-70%. Друге місце займають мікрodelеції захоплюючі AZFb і / або AZFb і AZFc субрегіону (AZFb і AZFb + c). Найменш часто зустрічаються мікрodelеції AZFa субрегіону – 5-10%.

За літературними даними Gates R.D. et al. (2002), в даний час застосування допоміжних репродуктивних технологій, зокрема, такого методу, як ICSI (intracytoplasmic sperm injection, інтрацитоплазматична ін'єкція сперматозоїда) дозволяє частині пацієнтів з мікрodelецією AZF локусу мати потомство. Однак, існує ризик передачі даної мікрodelеції Y-хромосоми хлопчикам (в 100% випадків), а також підвищений ризик народження дітей з мозаїцизмом 45, X / 46, XY (тобто з синдромом Тернера, змішаної дисгенезією гонад або іншою формою гермафродитизму).

Відповідно до клінічних рекомендацій Європейської асоціації андрологів (EAA) [22,6] показаннями для скринінгу AZF-делецій є: азооспермія і важка олігозооспермія (<5 млн сперматозоїдів / мл еякуляту).

Пацієнтам з AZF мікрodelецією Y хромосоми необхідно рекомендувати використання передімплантаційної діагностики статі при застосуванні ДРТ з метою перенесення ембріонів тільки жіночої статі. Також для оцінки характеру походження Y-мікрodelецій (мутація de novo або успадкована) необхідно молекулярно-генетичне обстеження батька, братів і інших чоловіків сім'ї пробанда. Хлопчики ж, народжені після застосування ІКСІ у батьків з мікрodelецією в Y-хромосомі, підлягають диспансерному спостереженню для оцінки їх фертильного статусу.

**Фрагментація ДНК сперматозоїдів** – є одним з важливих чинників порушення чоловічої фертильності, яка інтенсивно досліджується останнім часом.

Sivanarayana, T. et al., González-Marín C. et al., (2012) в дослідженнях виявили, що основними причинами фрагментації ДНК сперматозоїдів вважаються порушення компактизації хроматину в процесі сперміогенезу, оксидативний стрес і апоптоз. За даними Avendano C. et al., (2009) одним з основних методів оцінки фрагментації ДНК сперматозоїдів є метод флуоресцентного мічення одно- і дуниткових розривів ДНК (TUNEL Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP Nick-End Labelling).

Drobnis EZ, et al., (2016) встановили, що сперматозоїди з чисельними хромосомними аномаліями більш схильні до фрагментації ДНК, ніж ті, які мали нормальний хромосомний набір. У дослідженнях Rafighdoost H. et al., (2013) описано наявність підвищеного рівня пошкоджень ДНК або хромосомних дефектів в спермі безплідних і субфертильних чоловіків.

На тему впливу фрагментації ДНК сперматозоїда на репродуктивну функцію написано чимало статей, багато з яких сходяться на думці, що існує зв'язок між високим рівнем пошкодження ДНК сперматозоїда і втратою вагітності на ранньому терміні. У багатьох роботах De luliis G.N. et al., (2009) вказується, що ступінь пошкодження ДНК сперматозоїдів чинить негативний вплив на запліднення і частоту імплантації ембріонів.

За даними літератури Evgeni E. et al., (2014 року) підвищений рівень фрагментації ДНК сперматозоїдів є потенційною причиною репродуктивної недостатності, і його аналіз був запропонований в якості важливого параметру оцінки чоловічого безпліддя, особливо перед застосуванням допоміжних репродуктивних технологій.

У ряді досліджень знайдена негативна кореляція показників фрагментації ДНК з параметрами спермограми: концентрацією, рухливістю і часткою морфологічно аномальних сперматозоїдів [23]. Kaarouch I. et al., (2015) виявили значне збільшення частоти ембріональних хромосомних аномалій в парах, де партнер був носієм деструктивних змін сперматозоїдів, таких як підвищений рівень фрагментації ДНК ядра або зміни в морфології сперматозоїдів. Belloc S. et al., (2014 року) встановили, що еякулят, що містить сперматозоїди з ушкодженнями ДНК у вигляді подвійних або одониткових розривів, особливо характерний для субфертильних чоловіків.

Оцінка фрагментації ДНК сперматозоїдів є важливим прогностичним показником. На даний момент показаннями до оцінки фрагментації ДНК сперматозоїдів є: безпліддя неясного генезу при нормальних показниках спермограми, завмерлій вагітності, невдалі спроби використання ДРТ в анамнезі, а також у разі пацієнтів-чоловіків пізнього репродуктивного віку. У дослідженнях Rawe V.Y. et al., (2010) виявили, що у чоловіків пізнього репродуктивного віку часто спостерігається значно більша, в порівнянні з нормою, кількість аномалій в генетичному матеріалі сперматозоїдів і епігенетичних порушень.

У дослідженнях Enciso M. et al., (2013) при визначенні підвищеного рівня фрагментації ДНК ядра сперматозоїдів був рекомендований предімплантаційний генетичний скринінг ембріонів. Особливо це важливо, коли молекулярний аналіз сперми (наприклад, FISH)

демонструє високу частоту анеуплоїдій або інших хромосомних мутацій в сперматозоїдах [8]. Незважаючи на принципову важливість генетичних факторів для репродукції, у великій кількості випадків генетичні порушення фертильності, залишаються не діагностованими. Особливо це стосується генних мутацій і мікроструктурних перебудов хромосом в зв'язку з недостатньо широким використанням молекулярно-цитогенетичних і молекулярно-генетичних методів дослідження в практичній медицині.

**Хромосомний мікроматричний аналіз (ХМА, Chromosome Microarray Analysis, CMA)** – є новим молекулярно-цитогенетичним методом, що дозволяє виявляти зміну числа копій хромосомних локусів в масштабі всього геному. В даний час для нього використовують біочіпи, що представляють собою матрицю з великою кількістю точково завданих олігонуклеотидних послідовностей, що перекривають весь геном або його окремі ділянки.

З урахуванням високої роздільної здатності запропоновано використовувати ХМА як генетичного аналізу першої лінії, замінивши стандартний цитогенетичне дослідження (каріотипування) при несиндромальних вроджених вадах розвитку, розумової відсталості неясного генезу, а також при підозрі на наявність мікроделеційних і мікродуплікаційних синдромів або інших незбалансованих хромосомних аберацій. В останні роки стрімкий розвиток технологій в галузі молекулярної біології і генетики, призвело до значного розширення можливостей для дослідження генома [24,14,3]. За літературними даними White et al., (2011) Lo Giacco et al., (2014 року) дані технології можуть бути використані для молекулярної діагностики різних змін геному, в тому числі пов'язаних з порушенням розвитку і функції репродуктивної системи [25,26,27]. Стрімко розвиваються нові молекулярно-генетичні методи дослідження: хромосомний мікроматричний аналіз або порівняльна геномна гібридизація на чіпах (array Comparative Genomic Hybridization, CGH array) [28,29], і технології секвенування, в першу чергу секвенування ДНК нового покоління (Next-Generation Sequencing, NGS) [30,31].

Недолік даного методу полягає в тому, що з його допомогою неможливо детектувати збалансовані хромосомні перебудови (реципрокні і робертсонівські транслокації, інверсії), зміна плоідності 4n (тетраплоїдом), хімеризм і низькорівневий мозаїцизм, а також деякі ділянки геному, зокрема центромерний і гетерохроматинові регіони. Широке поширення ХМА в практичній медицині обмежене відносно високою вартістю мікрочіпів і труднощами клінічної інтерпретації отриманих результатів через відсутність даних про їх клінічну значущість.

У дослідженнях F. Tüttelmann et al. (2012) вперше застосували ХМА високого дозволу для пошуку варіацій числа копій (Copy Number Variation, CNV) – фрагментів ДНК у пацієнтів із секреторною азоо / олігозооспермією тяжкого ступеня неясного генезу і синдромом «тільки клітини Сертолі» [32].

**Секвенування ДНК нового покоління (Next Generations Sequencing, NGS).** Даний молекулярно-генетичний метод заснований на одночасному паралельному секвенуванні мільйонів коротких фрагментів ДНК з наступним біоінформатичним «складанням» і аналізом отриманих фрагментів геному за допомо-

гою спеціальних комп'ютерних програм. Порівняння результатів аналізу з нормальною послідовністю ДНК дозволяє виявити різні типи мутацій в масштабах всього геному або його окремих частин [17].

NGS може бути використано для виявлення генетичних причин статевого дозрівання, зокрема гіпогонадотропного гіпогонадізму і синдрому Каллмана [33]. У дослідженнях S.D. Quaynor et al. (2016) проаналізували 261 ген, залучений в гіпоталамічний, гіпофізарний і / або нюховий шлях. Відібрані варіанти були піддані класичному секвенуванню по Сенгер [34]. Були ідентифіковані 2 нові мутації гена FGFR, і виділені 18 нових генів-кандидатів, відповідальних за розвиток гіпогонадотропного гіпогонадізму і синдрому Каллмана.

**Однонуклеотидний поліморфізм (Single Nucleotide Polymorphism, SNP)** – дослідження панелей ДНК-поліморфізмів розміром в 1 нуклеотид (А, Т, G або С).

Фахівці з Центру репродуктивної медицини та андрології Мюнстерського університету виділили генетичні мутації, відповідальні за чоловіче безпліддя.

Йдеться про варіації в гені FSH, що кодує гіпофізарний фолікулоstimулюючий гормон – базовий гормон, який відповідає за нормальне функціонування репродуктивної системи організму. Авторами було виявлено випадок однонуклеотидного поліморфізму (SNP) – відмінності послідовності ДНК розміром в один нуклеотид – в структурі гена FSHB, що кодує бета-субодиницю, що тягне за собою істотні порушення функції фолікулоstimулюючого гормону як у чоловіків, так і у жінок. Крім того, був знайдений SNP в структурі гена FSHR, що кодує розташовані на поверхні клітин яєчників, тестикул і матки FSH-рецептори, з якими взаємодіє гормон. Було встановлено, що якщо у чоловіка присутнє поєднання двох цих генетичних варіацій одночасно, то його здатність до зачаття різко падає.

З'ясувалося, що у чоловіків з мутацією в гені FSHB значно нижче норми як рівень фолікулоstimулюючого гормону, так і об'єм тестикул. У разі присутності SNP як в гені FSHB, так і в гені FSHR, цей ефект значно посилюється, а вміст сперматозоїдів в спермі падає на 34 відсотки.

На думку авторів, результати їх дослідження дозволять по-новому підійти до корекції репродуктивної функції у чоловіків, а також до терапії жінок, змушених вдаватися до допоміжних репродуктивних технологій. У випадку жінок зі зниженою репродуктивною функцією інформація про присутність у них знайдених мутацій вказує на необхідність додаткової стимуляції яєчників при ЕКЗ.

**Висновки.** Проаналізовані дані про роль генетичних факторів в порушенні репродуктивної функції у чоловіків і розглянуті сучасні методи, що можуть бути використані для діагностики чоловічого безпліддя. Використання в діагностиці сучасних молекулярно-цитогенетичних і молекулярно-генетичних методів значно підвищить частоту виявлення порушень репродуктивної функції у чоловіків генетичної природи та вплинуть на вибір найбільш успішного методу подолання чоловічого безпліддя. Літературні дані дозволяють підвищити інформативність причин порушення фертильності у чоловіків, а також скоротити групу так званого ідіопатичного безпліддя.

## Література

1. Denisenko SV, Darii AS, Kononenko MI, Zerova-Lyubimova TE. Genetika reproduksii. K.: Ferz'-TA; 2008. s. 91-195. [in Russian].
2. Bozhedomov VA. Aktualnye voprosy okazaniia pomoshchi param s muzhskim faktorom bezdetnogo braka: klinicheskie i organizatsionno-metodicheskie aspekty. Andrologiia i genitalnaia khirurgiia. 2013;4:7-16. [in Russian].
3. Khazaie Y, Nasr Esfahani MH. MicroRNA and male infertility: a potential for diagnosis. International Journal of Fertility & Sterility. 2014;8(2): 113-8.
4. Aston KI. Genetic susceptibility to male infertility: news from genome-wide association studies. Andrology. 2014;2(3):315-21.
5. Khaiat SSH, Andreeva MV, Shileiko LV, Ostroumova TV, Sorokina TM, Myasniki DA, i dr. Analiz pokazatelei spermogrammy u muzhchin s narusheniiami reproduktivnoi funktsii i polizoospermiei. Andrologiia i genitalnaia khirurgiia. 2014;1:47-53. [in Russian].
6. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G. European Association of Urology Guidelines. Guidelines on male infertility. 2014 [Internet].
7. Tavokina LV. Reprodukivnaia genetika. Algoritm molekuliarno-tsitogeneticheskoi diagnostiki. Consilium Medicum Ukraina. 2014;8(5):8-12. [in Russian].
8. Olszewska M, Huleyuk N, Fraczek M, Zastavna D, Wiland E, Kurpisz M. Sperm FISH and chromatin integrity in spermatozoa from a t (6; 10; 11) carrier. Reproduction. 2014;147(5):659-70.
9. Guseinova KA, Shishimorova MS. Narusheniia reproduktivnoi funktsii u muzhchin, svyazannye s anomaliami polovykh khromosom. Reprodukivnaia meditsina. 2014;3-4(20-21):56-9. [in Russian].
10. Kurilo LF. Khromosomnye zabolovaniia organov polovoi sistemy. Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya. 2015;1:48-59. [in Russian].
11. Pylyp LY, Spinenko LO, Verhoglyad NV, Zukin VD. Chromosomal abnormalities in patients with oligozoospermia and nonobstructive azoospermia. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2013;30(5):729-32.
12. Song SH, Won HJ, Yoon TK, Cha DH, Shim JY, Shim SH. A case of the rare variant of Klinefelter syndrome 47,XY,i(X)(q10). Clinical and Experimental Reproductive Medicine. 2013;40(4):174-6.
13. Gordeeva EG, Sorokina TM, Shileiko LV, Ostroumova TV, Borzova OS, Magomedova HD, i dr. Chastota vstrechaemosti gamet s aneuploidiei u muzhchin s narusheniem reproduktivnoi funktsii. Med. Genetika. 2013;2:18-24. [in Russian].
14. Kurilo LF. Anomalii razvitiia polovoi sistemy vsledstvie gennykh mutatsii (Obzor literatury). Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya. 2014;2:58-65. [in Russian].
15. Buonocore F, Achermann JC. Human sex development: targeted technologies to improve diagnosis. Genome Biology. 2016;17:257. DOI: 10.1186/s13059-016-1128-4
16. Ivashchenko TE. Analiz mutatsii u bolnykh mukoviscidozom metodom polnoekzomnogo sekvenirovaniia gena CFTR. Meditsinskaia genetika. 2014;13(3):28-31. [in Russian].
17. Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. Reproduction. 2015;150(5):159-74.
18. Chernykh VB, Rudneva SA, Sorokina TM, Shileiko LV, Ostroumova TV, Ermolaeva SA, i dr. Vliianie SAG-polimorfizma gena androgenovogo retseptora (AR) na spermatogenez u muzhchin s besplodiem. Andrologiia i genitalnaia khirurgiia. 2015;16(3):37-42. [in Russian].
19. Giagulli VA, Carbone MD, De Pergola G, Guastamacchia E, Resta F, Licchelli B, et al. Could androgen receptor gene CAG tract polymorphism affect spermatogenesis in men with idiopathic infertility? Assist Reprod Genet. 2014;31(6):689-97.
20. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y chromosomal microdeletions: state of the art 2013. Andrology. 2014;2:5-19.
21. Chernykh VB, Rudneva SA, Sorokina TM, Shileiko LV, Kurilo LF, Ryzhkova OP, i dr. Kharakteristika sostoianiia spermatogeneza u muzhchin s besplodiem, imeiushchikh razlichnye typy delettsii AZFc-regiona. Andrologiia i genitalnaia khirurgiia. 2014;2:48-57. [in Russian].
22. Dohle GR, Diemer T, Giwercman A, Jungwirth A, Kopa Z, Krausz C. Male infertility. European Association of Urology. Evropeiskaya assotsiatsiya urologov. 2011. s. 14-21.
23. Rudneva SA, Bragina EE, Arifulin EA, Sorokina TM, Shileiko LV, Ermolaeva SA, i dr. Kharakteristika sostoianiia spermatogeneza u muzhchin s besplodiem i povyshennoi chastotoi fragmentatsii DNK v spermatozoidakh. Andrologiia i genitalnaia khirurgiia. 2014;4:26-33. [in Russian].
24. Suspitcyn EN, Sokolenko AP. Primenenie molekuliarnykh tekhnologii novogo pokoleniia v meditsinskoj genetike: Nauchno-obrazovatelnyi kurs dlia studentov meditsinskikh vuzov i vrachei. Saint-Petersburg; 2013. 22 s. [in Russian].
25. Dong Y, Pan Y, Wang R. Copy number variations in spermatogenic failure patients with chromosomal abnormalities and unexplained azoospermia. Genetics and Molecular Research, 2015;14(4):16041-9.
26. Eggers S, DeBoer KD, van den Bergen J, Gordon L, White SJ, Jamsai D, et al. Copy number variation associated with meiotic arrest in idiopathic male infertility. Fertility and Sterility. 2015;103(1):214-9.
27. Lo Giacco D, Chianese C, Sánchez-Curbelo J, Bassas L, Ruiz P, Rajmil O, et al. Clinical relevance of Ylinked CNV screening in male infertility: new insights based on the 8-year experience of a diagnostic genetic laboratory. European Journal of Human Genetics. 2014;22(6):754-61.
28. Chianese C, Gunning AC, Giachini C, Daguin F, Balercia G, Ars E, et al. X chromosome-linked CNVs in male infertility: discovery of overall duplication load and recurrent, patient-specific gains with potential clinical relevance. PLoS One. 2014;9(6):e97746.
29. Sato Y, Tajima A, Tsunematsu K, Nozawa S, Yoshiike M, Koh E, et al. An association study of four candidate loci for human male fertility traits with male infertility. Human Reproduction. 2015;30(6):1510-4.
30. Rebrikov DV, Korostin DO, Shubina ES, Ilinsky VV. NGS: vysokoproizvoditelnoe sekvenirovanie. Moskva: Binom. Laboratoriya znaniy. 2015. 232 s. [in Russian].
31. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genetics in Medicine. 2015;17(5):405-24. DOI: 10.1038/gim
32. Tütelmann F, Simoni M, Kliesch S, Ledig S, Dworniczak B, Wieacker P, et al. Copy number variants in patients with severe oligozoospermia and Sertoli-cellonly syndrome. PLoS One. 2011;6(4):e19426.
33. Carrell DT, Aston KI, Oliva R. The "omics" of human male infertility: integrating big data in a systems biology approach. Cell and Tissue Research. 2016;363(1):295-312.
34. Quaynor SD, Bosley M, Duckworth CG, Porter KR, Kim SH, Chorich LP, et al. Targeted next generation sequencing approach identifies eighteen new candidate genes in normosmic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. Molecular and Cellular Endocrinology. 2016;437:86-96.

### ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ПОРУШЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ У ЧОЛОВІКІВ

Сухонос О. С., Нікіфоров О. А., Авраменко Н. В.

**Резюме.** Мета роботи – аналіз наукової літератури, що описує роль генетичних факторів у порушенні репродуктивної функції у чоловіків.

**Результати.** В статті проведено аналіз даних наукової літератури про роль генетичних факторів в порушенні репродуктивної функції у чоловіків, а також розглянуті сучасні методи діагностики генетичних причин чоловічого безпліддя. Літературні дані свідчать про великий інтерес, що проявляється до вивчення

стану репродуктивного здоров'я чоловіків. Генетичні дослідження останніх років свідчать, що значна частина порушень репродуктивної функції у чоловіків обумовлена генетичними чинниками і, зокрема, хромосомними аномаліями. У зв'язку з цим велике значення має цитогенетичне і молекулярно-генетичне обстеження пацієнтів з порушенням репродуктивної функції.

**Висновки.** Проаналізовані дані про роль генетичних факторів в порушенні репродуктивної функції у чоловіків і розглянуті сучасні методи, що можуть бути використані для діагностики чоловічого безпліддя. Використання в діагностиці сучасних молекулярно-цитогенетичних і молекулярно-генетичних методів значно підвищить частоту виявлення порушень репродуктивної функції у чоловіків генетичної природи та вплинуть на вибір найбільш успішного методу подолання чоловічого безпліддя. Літературні дані дозволяють підвищити інформативність причин порушення фертильності у чоловіків, а також скоротити групу так званого ідіопатичного безпліддя.

**Ключові слова:** порушення репродуктивної функції, каріотип, хромосомні аномалії, цитогенетична діагностика, молекулярно-генетичні дослідження.

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НАРУШЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН

**Сухонос О. С., Никифоров О. А., Авраменко Н. В.**

**Резюме.** *Цель работы* – анализ научной литературы, описывающей роль генетических факторов в нарушении репродуктивной функции у мужчин.

**Результаты.** В статье проведен анализ данных научной литературы о роли генетических факторов в нарушении репродуктивной функции у мужчин, а также рассмотрены современные методы диагностики для выявления генетических причин мужского бесплодия. Литературные данные свидетельствуют о большом интересе, проявляемом к изучению состояния репродуктивного здоровья мужчин. Генетические исследования последних лет свидетельствуют, что значительная часть нарушений репродуктивной функции у мужчин обусловлена генетическими факторами и, в частности, хромосомными аномалиями. В связи с этим большое значение имеет цитогенетическое и молекулярно-генетическое обследование пациентов с нарушением репродуктивной функции.

**Выводы.** Проанализированы данные о роли генетических факторов в нарушении репродуктивной функции у мужчин и рассмотрены современные методы, которые могут быть использованы для диагностики мужского бесплодия. Использование в диагностике современных молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов значительно повысит частоту выявления нарушений репродуктивной функции у мужчин генетической природы и повлияют на выбор наиболее успешного метода преодоления мужского бесплодия. Литературные данные позволяют повысить информативность причин нарушения фертильности у мужчин, а также сократить группу так называемого идиопатического бесплодия.

**Ключевые слова:** нарушение репродуктивной функции, каріотип, хромосомные аномалии, цитогенетическая диагностика, молекулярно-генетические исследования.

### GENETIC ASPECTS OF VIOLATION OF REPRODUCTIVE FUNCTION IN MEN

**Sukhonos O. S., Nikiforov O. A., Avramenko N. V.**

**Abstract.** *Purpose* – analysis of scientific literature describing the role of genetic factors in violation of reproductive function in men.

**Results.** The article analyzes the data of scientific literature on the role of genetic factors in the violation of reproductive function in men and describes modern diagnostic methods for revealing the genetic causes of male infertility. Literary data indicate a great interest in the study of the reproductive health of men. Genetic studies of recent years show that a significant part of reproductive disorders in men is due to genetic factors and, in particular, chromosomal abnormalities. In connection with this, the cytogenetic and molecular-genetic examination of patients with a violation of the reproductive function is of great importance. According to the literature, there are the main genetic factors of male infertility: chromosomal aberrations, mutations (at the level of the gene or group of genes), DNA damage of the sperm itself. Among the genes directly involved in the process of spermatogenesis, several major groups can be identified. The first group includes genes involved in the development of the male reproductive system and in the sexual differentiation. The second group includes genes that provide endocrine regulation. The third group consists of genes involved in the process of spermatogenesis.

**Conclusions.** Analyzed the data on the role of genetic factors in the violation of reproductive function in men and examined modern methods that can be used to diagnose male infertility. The use of modern molecular-cytogenetic and molecular genetic methods in diagnostics significantly increases the frequency of detection of reproductive disorders in men of a genetic nature and will influence the choice of the most successful method of treating male infertility. Literary data allow us to determine the informative nature of the causes of impaired fertility in men, and also to reduce the group of so-called idiopathic infertility.

**Key words:** violation of reproductive function, karyotype, chromosomal abnormalities, cytogenetic diagnostics, molecular genetic studies.

*Рецензент – проф. Тарасенко К. В.*

*Статья надійшла 09.05.2019 року*