

Генетическое и спермиологическое обследование пациентов с 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола

М.И. Штаут¹, Т.М. Сорокина¹, Л.Ф. Курило¹, М.В. Андреева¹, Н.В. Опарина², А.В. Поляков¹, Н.В. Шилова¹, В.Б. Черных¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

²ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; Россия, 129110 Москва, ул. Щепкина, 61/2

Контакты: Вячеслав Борисович Черных chernykh@med-gen.ru

Введение. Синдром «46,XX-мужчина», или 46,XX-тестикулярная форма нарушения формирования пола (НФП), – генетическое заболевание, характеризующееся XX-инверсией пола, первичным гипогонадизмом и мужским бесплодием вследствие тяжелого нарушения сперматогенеза. В большинстве случаев причиной XX-инверсии пола являются микроструктурные перестройки хромосом с транслокацией гена *SRY* Y-хромосомы на X-хромосому или аутосому. Генетическая гетерогенность и фенотипическая вариабельность, в том числе влияние генотипа на спермиологические показатели, у пациентов с синдромом «46,XX-мужчина» недостаточно изучены.

Цель исследования – генетическое и спермиологическое обследование пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП.

Материалы и методы. Обследованы 32 пациента с 46,XX-тестикулярной формой НФП и 2 мужчины с мозаицизмом 46,XX/46,XY. Выполняли цитогенетическое, молекулярно-генетическое и спермиологическое исследование, которое включало стандартный спермиологический анализ и количественный кариологический анализ незрелых половых клеток из эякулята.

Результаты. Наличие гена *SRY* обнаружено у 23 (82,1 %) из 28 пациентов, которым выполнено молекулярно-генетическое исследование, у 5 пациентов выявлено его отсутствие. По данным стандартного спермиологического исследования у 24 (75 %) из 32 пациентов диагностирована азооспермия, у 8 (25 %) – олигозооспермия тяжелой степени. У 3 пациентов, у которых была первично диагностирована азооспермия, при повторных спермиологических исследованиях с помощью количественного кариологического анализа незрелых половых клеток обнаружена криптозооспермия. Олигозооспермия тяжелой степени и криптозооспермия отмечены как среди *SRY*-позитивных, так и среди *SRY*-негативных пациентов.

Заключение. 46,XX-тестикулярная форма НФП характеризуется выраженным нарушением сперматогенеза (азооспермией или экстремально тяжелой формой олигозооспермии). Небольшое количество половых клеток, обнаруженных в эякуляте у некоторых 46,XX-мужчин, в том числе *SRY*-негативных, свидетельствует о частичном сохранении сперматогенеза при данных генетических формах мужского бесплодия даже при отсутствии генов Y-хромосомы, генов локуса AZF.

Ключевые слова: нарушение формирования пола, мужское бесплодие, азооспермия, олигозооспермия, сперматогенез, сперматозоиды, незрелые половые клетки, Y-хромосома, ген *SRY*

Для цитирования: Штаут М.И., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф. и др. Генетическое и спермиологическое обследование пациентов с 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола. Андрология и генитальная хирургия 2022;24(1):115–29. DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-1-115-129

Genetic and semen examination of patients with 46,XX testicular disorder of sex development

M.I. Shtaut¹, T.M. Sorokina¹, L.F. Kurilo¹, M.V. Andreeva¹, N.V. Oparina², A.V. Polyakov¹, N.V. Shilova¹, V.B. Chernykh¹

¹Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechie St., Moscow 115522, Russia;

²M.F. Vladimirovsky Moscow Region Scientific Research Clinical Institute; 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia

Contacts: Vyacheslav Borisovich Chernykh chernykh@med-gen.ru

Background. 46,XX male syndrome (XX sex reversal) or 46,XX testicular disorder of sex development (DSD) – a genetic disorder that characterized by primary hypogonadism and male infertility because of severe spermatogenesis defects. 46,XX testicular DSD is resulted from unbalanced microstructural sex chromosome abnormalities, mostly X-Y translocations involving *SRY* gene. Genetic heterogeneity and phenotypic variability, particularly the effect of the genotype on semen parameters in XX sex reversed patients are not sufficiently studied.

Aim. Genetic and semen examination in patients with 46,XX testicular DSD.

Materials and methods. 32 patients with 46,XX testicular DSD and 2 men with mosaicism 46,XX/46,XY were examined. Cytogenetics, molecular genetics and spermatology examination (standard semen analysis and quantitative karyological analysis of immature germ cells) were performed.

Results. The presence of the *SRY* gene was detected in 23 (82.1 %) of 28 patients who underwent a molecular genetic study, and 5 patients were *SRY*-negative. Azoospermia and severe oligozoospermia were diagnosed in 24 (75 %) and 8 (25 %) patients, respectively. Quantitative karyological analysis of immature germ cells allowed to reveal cryptozoospermia in 3 patients with initially diagnosed azoospermia (according to a standard semen analysis). Severe oligozoospermia and cryptozoospermia were mentioned both in some of *SRY*-positive and *SRY*-negative patients.

Conclusion. 46,XX testicular DSD is characterized by severe degree of spermatogenesis defects (azoospermia and extremely severe oligozoospermia). Small number of germ cells detected in ejaculate in some patients with 46,XX testicular DSD, including *SRY*-negative individuals, indicates partial preservation of spermatogenesis in the absence of Y chromosome genes.

Keywords: 46,XX testicular disorders of sex development, male infertility, azoospermia, oligozoospermia, spermatogenesis, sperm, immature germ cells, Y chromosome, *SRY* gene

For citation: Shtaut M.I., Sorokina T.M., Kurilo L.F. et al. Genetic and semen examination of patients with 46,XX testicular disorder of sex development. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = *Andrology and Genital Surgery* 2023;24(1):115–29. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2023-24-1-115-129

Введение

Нарушение фертильности у мужчин в большинстве случаев связано с дефектами сперматогенеза и/или патозооспермией. По крайней мере у 20–30 % мужчин с азооспермией и олигозооспермией тяжелой степени обнаруживают генетические причины бесплодия [1]. Среди них отмечают как синдромальные, так и несиндромальные формы, например синдром Клайнфельтера (кариотип 47,XXY и другие варианты), 46,XX-тестикулярную форму нарушения формирования пола (НФП), синдром тестикулярного дисгенеза, мозаицизм по половым хромосомам, микроделеции Y-хромосомы, робертсоновские и реципрокные транслокации и другие сбалансированные структурные аномалии хромосом, двустороннюю аплазию семявыносящих протоков, мутации генов, вовлеченных в формирование пола, дифференцировку гонад и развитие мужских половых органов, сперматогенез и мейоз [1–3].

XX-инверсия пола (точнее, ее полная форма), или синдром «46,XX-мужчина», впервые была описана доктором Альбертом де ла Шапелем в 1964 г. [4]. Популяционная частота данной формы НФП составляет 1 случай на 20 тыс. мужчин [5, 6]. Согласно принятому в 2006 г. Консенсусу по нарушениям формирования пола синдром «46,XX-мужчина» приято относить к группе 46,XX-НФП и называть 46,XX-тестикулярной формой НФП [7].

Синдром «46,XX-мужчина» — генетическое заболевание, характеризующееся XX-инверсией пола, гипергонадотропным гипогонадизмом и первичным

мужским бесплодием вследствие тяжелого нарушения сперматогенеза, как правило приводящего к азооспермии, и крайне редко — к олигозооспермии тяжелой степени [5, 6, 8–11]. Причинами данной формы НФП являются несбалансированные микроструктурные аномалии хромосом, в большинстве случаев с наличием гена *SRY* (*sex-determining region of Y*, детерминирующий пол регион Y-хромосомы). В 90 % случаев XX-инверсия пола вызвана микроструктурной хромосомной перестройкой с транслокацией фрагмента короткого плеча Y-хромосомы (локуса Yp11.3), содержащего ген *SRY*, на X-хромосому, реже — на какую-либо из аутосом с потерей или без потери ее материала [11–18]. Наличие гена *SRY* (ключевого Y-сцепленного гена, контролирующего дифференцировку пола по мужскому типу) даже при отсутствии остального материала Y-хромосомы может приводить к развитию тестикулярной ткани, формированию яичек и маскулинизации половых органов, в результате формируется мужской фенотип при женском наборе половых хромосом (XX-инверсия пола) [19].

У пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП имеются некоторые общие клинические признаки (гипергонадотропный гипогонадизм, гипоплазия тестикул, первичное бесплодие, связанное с необструктивной азооспермией) с пациентами с синдромом Клайнфельтера, но, в отличие от последних, 46,XX-мужчины, как правило, невысокого роста и не имеют евнухоидных пропорций тела [5, 6, 11, 12]. Пациенты с 46,XX-тестикулярным НФП имеют мужской фенотип с полной или неполной степенью маскулинизации [6, 20]. У *SRY*-позитивных па-



пациентов с XX-инверсией пола чаще отмечают нормальную маскулинизацию, а у *SRY*-негативных пациентов с XX-инверсией пола чаще обнаруживают признаки дефицита внутриутробной маскулинизации (гипоспадию, крипторхизм, двойственное строение половых органов), выраженный первичный гипогонадизм, при этом могут отмечаться как тестикулярная, так и овотестикулярная формы НФП [11, 12, 21]. В последнем случае это обусловлено неполной дифференцировкой гонад по мужскому типу, редко отмечаемой у *SRY*-позитивных 46,XX-мужчин.

Синдром Клайнфельтера и 46,XX-тестикулярная форма НФП имеют и некоторое генетическое сходство [22]. Оно обусловлено наличием дополнительной хромосомы X в кариотипе, поэтому ранее их относили к одной форме хромосомного заболевания, связанного с аномальным набором половых хромосом у мужчин. Однако важным генетическим отличием 46,XX-тестикулярной формы НФП является отсутствие у пациентов большинства генов Y-хромосомы, в частности генов локуса AZF (azoospermia factor, фактор азооспермии), играющих существенную роль в сперматогенезе у человека [11–14]. Поэтому при спермиологическом обследовании у большинства 46,XX-мужчин диагностируют необструктивную форму азооспермии, крайне редко — олигозооспермию тяжелой степени [23]. У пациентов с XX-инверсией пола не обнаруживают нетяжелые формы патозооспермии. В научной литературе не описаны случаи наступления беременности от 46,XX-мужчин естественным путем или с помощью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО/ICSI), а также возможности получения сперматозоидов с помощью тестикулярной биопсии. У данных пациентов не исследованы возможности сохранения и восстановления сперматогенеза. Генетическая гетерогенность и фенотипическая вариабельность у пациентов с XX-инверсией пола, в том числе влияние генотипа на спермиологические показатели, недостаточно изучены.

Цель исследования — генетическое и спермиологическое обследование пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП.

Материалы и методы

Обследованная выборка пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП состояла из 32 неродственных русских мужчин, у которых по данным стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) была выявлена XX-инверсия пола (не обнаружено наличия Y-хромосомы или ее материала в кариотипе). Пациенты обратились для сперматологического и/или цитогенетического, либо молекулярно-генетического обследования и медико-генетического консультирования в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова». Взрослые пациенты обращались в связи с бесплодием в браке или для репродук-

тологического обследования с уже поставленным диагнозом, подтвержденным результатами цитогенетического обследования, несовершеннолетние — в связи с задержкой пубертата, гипогонадизмом, подозрением на НФП. Возраст пациентов варьировал от 16 до 52 лет (средний возраст составил 29 ± 8 лет). Дополнительно обследованы 2 мужчины (21 и 36 лет) с мозаицизмом 46,XX/46,XY, имеющие схожий фенотип с 46,XX-тестикулярной формой НФП. Эти пациенты были описаны отдельно из-за особенностей кариотипа (наличие мозаицизма по Y-хромосоме).

Стандартное цитогенетическое исследование выполнено на метафазных пластинках хромосом, приготовленных из 72-часовой фитогемагглютинин-стимулированной культуры лимфоцитов периферической крови с последующим использованием GTG-окрашивания хромосом. У 2 пациентов с мозаицизмом 46,XX/46,XY (табл. 1), описанных дополнительно, мозаицизм по половым хромосомам выявлен по данным флуоресцентной *in situ* гибридизации (fluorescent *in situ* hybridization, FISH) с ДНК-зондами из коммерчески доступных наборов реактивов AneuVysion® Multi-color 5 Probe Panel (Abbott Molecular Vysis Inc., США).

Наличие ДНК-последовательностей, специфичных для Y-хромосомы, детектировали с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции с набором праймеров для следующих локусов/регионов Y-хромосомы: *SRY*, *ZFY* (Yp11.3), *AMELY* (Yp11.2); sY84, sY86, sY615 (Yq11.21, регион AZFa), sY127, sY134 (Yq11.22, регион AZFb), sY254, sY255 (Yq11.23, регион AZFc). В качестве внутреннего контроля реакции выполняли амплификацию X-гомологичных последовательностей для локусов *ZFX* и *AMELX*. Детально методика молекулярно-генетического исследования описана нами ранее [13]. Молекулярно-генетическое обследование проведено у 28 пациентов, а у 4 пациентов не было выполнено в связи с недоступностью биологического материала.

Пациентам выполняли стандартное спермиологическое исследование (ССИ) согласно рекомендациям Руководства по исследованию эякулята Всемирной организации здравоохранения (2010) [24]. У 6 пациентов спермиологическое исследование выполняли неоднократно (от 2 до 12 раз). Сперматологические показатели (объем, pH и вязкость эякулята, концентрация лейкоцитов, концентрация и общее количество сперматозоидов в эякуляте, количество сперматозоидов и незрелых половых клеток (НПК) в осадке эякулята, доля сперматоцитов II и сперматид от всего числа НПК, доля нераззошедшихся ядер в половых клетках от общего количества сперматоцитов II и сперматид) представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, а также минимальных и максимальных значений. У 13 пациентов выполнен количественный кариологический анализ незрелых половых клеток (ККА НПК)

из осадка эякулята (авторский метод проф. Л.Ф. Курило, патент на изобретение № 2328736/10.07.2008 «Способ цитологической диагностики нарушения сперматогенеза», бюлл. № 19 от 10.07.2008, <http://www.freepatent.ru/patents/2328736>), позволяющий неинвазивно оценивать прохождение различных стадий сперматогенеза. Детально метод ККА НПК описан ранее [25]. У остальных пациентов данный анализ не был выполнен вследствие недоступности биологического материала или недостаточного объема эякулята.

Статистический анализ данных выполнен с использованием программы StatSoft Statistica, версия 8 (Dell Technologies, США).

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова». Все пациенты или их родственники (законные представители) дали письменное информированное согласие на участие в данном исследовании.

Результаты

По данным СЦИ кариотип 46,XX обнаружен у 29 (90,6 %) из 32 пациентов с XX-инверсией пола (см. табл. 1). У одного пациента с XX-инверсией пола отмечено носительство робертсоновской транслокации (13;14). Очевидно, что данная хромосомная аномалия не связана с НФП и не оказывает существенного влияния на фенотип. У 2 пациентов обнаружен мозаицизм по X-хромосоме, в том числе у одного пациента при СЦИ (кариотип 45,X/46,XX), у другого пациента — с помощью FISH-анализа. По результатам FISH-анализа на лимфоцитах периферической крови у последнего выявлен скрытый сложный мозаицизм $X^{SRY}/X^{SRY}X/X^{SRY}X^{SRY}X$ с наличием 3 клеточных линий, содержащих одну или две *SRY*-несущих X-хромосомы в клетке. У 2 пациентов с мозаицизмом по хромосоме Y, обследованных дополнительно к выборке 46,XX-мужчин, выявлен мозаицизм 46,XX/46,XY, в том числе в одном случае диагностированный по результатам FISH-анализа (см. табл. 1).

Молекулярный анализ последовательностей Y-хромосомы выполнен у 28 пациентов (см. табл. 1). У пациентов с XX-инверсией пола, которым выполнено молекулярно-генетическое исследование, отсутствовали все исследованные маркеры локуса AZF (локус Yq11.2). Наличие гена *SRY* обнаружено у 23 (82,1 %) из 28 пациентов, которым выполнено молекулярно-генетическое исследование, у 5 пациентов выявлено его отсутствие, т. е. диагностирован *SRY*-негативный вариант 46,XX-тестикулярной формы НФП. У одного из них выявлена азооспермия, у трех — олигозооспермия тяжелой степени с концентрацией сперматозоидов в эякуляте 0,05–0,15 млн/мл. У обоих пациентов с мозаицизмом 46,XX/46,XY обнаружено наличие всех исследованных Y-специфичных маркеров, в том числе

короткого (*SRY*, *ZFY*) и длинного плеча (локуса *AZF*) Y-хромосомы (см. табл. 1).

По результатам ССИ азооспермия выявлена в 75 % образцов эякулята, олигозооспермия тяжелой степени или криптозооспермия — в 25 % исследованных образцов. Концентрация сперматозоидов у пациентов с олигозооспермией составляла от 0,05 до 0,15 млн/мл (см. табл. 1).

Объем эякулята у пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП варьировал от 0,1 до 5,1 мл, в среднем составляя $2,2 \pm 1,2$ мл (табл. 2). Олигоспермия отмечена в 11 (31,4 %) из 35 образцов эякулята, при этом объем эякулята в случаях с олигоспермией составлял от 0,1 до 1,3 мл. Среднее значение показателя рН эякулята равнялось $7,7 \pm 0,5$ ед., вязкости эякулята — $19,6 \pm 15,2$ мм (см. табл. 2). Лейкоспермия не была обнаружена ни в одном из исследованных образцов эякулята.

У 13 пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП дополнительно к ССИ проведен ККА НПК из осадка эякулята (табл. 3). Из них у 6 пациентов по данным ССИ диагностированы олигозооспермия тяжелой степени или криптозооспермия, у 7 пациентов — азооспермия. У 3 из 7 пациентов с азооспермией (диагностированной по результатам ССИ) при проведении ККА НПК выявлена криптозооспермия. Сперматозоиды обнаружены в 14 из 18 образцов эякулята, исследованных с помощью ККА НПК, в том числе в 8 (67 %) из 12 образцов с азооспермией по данным ССИ. Выполнение комплексного спермиологического исследования (ССИ и ККА НПК) позволило обнаружить сперматозоиды в исследованных образцах эякулята у 9 из 13 пациентов, в том числе в 43 % образцов эякулята с диагнозом «азооспермия» по данным ССИ. Общее количество обнаруженных в осадке эякулята НПК в образцах существенно варьировало: от их полного отсутствия до нескольких сотен клеток, при этом обнаруженные НПК были представлены сперматоцитами II порядка и сперматидами разных стадий развития (см. табл. 3).

Все сперматозоиды, обнаруженные в осадке эякулята (как с помощью ССИ, так и ККА НПК), имели неспецифические структурные аномалии (дефекты головки, акросомы, жгутика), т. е. являлись морфологически атипичными. Количество нераззошедшихся ядер сперматоцитов II и сперматид составило $23,4 \pm 17,9$ % (условный контроль — $22,98 \pm 2,65$ % [17]). Таким образом, у 21 пациента с 46,XX-тестикулярной формой НФП диагностирована азооспермия, у 11 пациентов — олигозооспермия тяжелой степени или криптозооспермия. В этих группах пациентов проведен сравнительный анализ данных обследования (табл. 4).

Возраст пациентов с 46,XX-инверсией пола, у которых были диагностированы азооспермия и олигозооспермия или криптозооспермия, существенно



Таблица 1. Результаты генетического и спермиологического обследования 32 пациентов с 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола и 2 мужчин с мозаицизмом 46,XX/46,XY

Table 1. Results of genetic and semen analysis in 32 patients with 46,XX testicular disorder of sex development and two male patients with 46,XX/46,XY mosaicism

Код пациента Patient code	Возраст, лет Age, year	Кариотип Karyotype	SRY	Сперматологический диагноз Spermatological diagnosis	Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/ml
1	28	46,XX	+	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,05
2	25	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
3	35	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
4	23	46,XX	н. и. n. t.	Азооспермия Azoospermia	0
5	25	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
6	23	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
7	24	46,XX	—	Олигозооспермия Oligozoospermia	0,15
8	27	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
9	27	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	+	Азооспермия Azoospermia	0
10	24	46,XX	н. и. n. t.	Азооспермия Azoospermia	0
11	27	46,XX	+	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,05
12	33	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
13	24	46,XX	—	Азооспермия Azoospermia	0
14	17	46,XX	—	Азооспермия Azoospermia	0
15	16	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
16	28	46,XX	—	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,05
17	36	46,XX	+	Азооспермия, криптозооспермия Azoospermia, cryptozoospermia	0
18	28	46,XX	+	Азооспермия, криптозооспермия Azoospermia, cryptozoospermia	0
19	25	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0



Окончание табл. 1

End of table 1

Код па- циента Patient code	Возраст, лет Age, year	Кариотип Karyotype	<i>SRY</i>	Сперматологический диагноз Spermatological diagnosis	Концентрация спер- матозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/ml
20	52	46,XX	+	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,05
21	16	46,XX	+	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,05
22	36	46,XX	+	Азооспермия, криптозооспермия Azoospermia, cryptozoospermia	0
23	40	46,XX	н. и. n. t.	Азооспермия Azoospermia	0
24	32	46,XX	—	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,1
25	36	46,XX (45,X/46,XX/47,XXX)*	+	Олигозооспермия Oligozoospermia	0,15
26	36	45,X/46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
27	35	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
28	26	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
29	29	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
30	30	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
31	29	46,XX	н. и. n. t.	Азооспермия Azoospermia	0
32	36	46,XX	+	Азооспермия Azoospermia	0
33	21	mos 46,XX[24]/46,XY[6]	+	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,15
34	36	mos 46,XY[190]/46,XX[10]**	+	Олигозооспермия тяжелой степени Severe oligozoospermia	0,1

*По результатам флуоресцентной гибридизации *in situ* на лимфоцитах периферической крови у пациента выявлен скрытый мозаицизм $X^{SRY}/X^{SRY}X/X^{SRY}X^{SRY}X$; **мозаицизм по половым хромосомам обнаружен по результатам анализа методом флуоресцентной гибридизации *in situ* на лимфоцитах периферической крови.

*Results of fluorescence in situ hybridization show hidden mosaicism $X^{SRY}/X^{SRY}X/X^{SRY}X^{SRY}X$ in the patient's peripheral lymphocytes; **sex chromosome mosaicism was detected by fluorescence in situ hybridization in peripheral lymphocytes.

Примечание. н. и. — не исследовано.

Note. n. t. — not tested.



Таблица 2. Результаты стандартного спермиологического анализа у пациентов с 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола
Table 2. Results of a standard semen analysis in patients with 46,XX testicular disorder of sex development

Показатель Parameter	Объем эякулята, мл Sperm volume, ml	pH, ед. pH, units	Вязкость эякулята, мм Ejaculate viscosity, ml	Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/mm	Общее количество сперматозоидов, млн/мл Total sperm count, million/ml	Концентрация лейкоцитов, млн/мл Leukocyte concentration, million/ml
Min—max	0,1—5,1	6,0—8,5	1,0—50,0	0,00—2,95	0,00—5,9	0,05—1,20
M ± SD	2,2 ± 1,2	7,7 ± 0,5	19,6 ± 15,2	0,09 ± 0,41	0,19 ± 0,85	0,43 ± 0,43

Примечание. Здесь и в табл. 3: M — среднее значение; SD — стандартное отклонение.
Note. Here and in table 3: M — mean value; SD — standard deviation.

Таблица 3. Результаты количественного кариологического анализа незрелых половых клеток (ККА НПК) у 13 пациентов с 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола
Table 3. Results of quantitative karyological analysis of immature germ cells (QKA of IGCs) in 13 patients with 46,XX testicular disorder of sex development

Показатель Parameter	Количество сперматозоидов, обнаруженных в осадке эякулята, n Number of sperm cells in ejaculate sediment, n	Количество НПК, обнаруженных в осадке эякулята, n Number of IGCs in ejaculate sediment, n	Доля сперматозоидов II и сперматид от всех обнаруженных НПК, % Percentage of spermatocytes II and spermatids of all IGCs, %	Неразошедшиеся ядра в половых клетках от общего количества обнаруженных сперматозоидов II и сперматид, % Nondisjunction of nuclei in germ cells of all spermatocytes II and spermatids, %
Min—max	0—150	6—507	41—100	0—60
M ± SD	22 ± 43	202 ± 224	86 ± 17	23,4 ± 17,9

Примечание. НПК — незрелые половые клетки.
Note. IGCs — immature germ cells.

Таблица 4. Результаты генетического и сперматологического исследования у пациентов с 46,XX-инверсией пола в группах с азооспермией и олигозооспермией/криптозооспермией
Table 4. Results of genetic and semen analysis in azoospermic and severe oligozoospermic/cryptozoospermic patients with 46,XX-testicular disorder of sex development

Критерий сравнения Comparison criteria	Пациенты с азооспермией (n = 21) Azoospermic patients (n = 21)	Пациенты с олигозооспермией или криптозооспермией (n = 11) Severe oligozoospermic/ cryptozoospermic patients (n = 11)
Возраст, лет Age, year	28 ± 6 (16—40)	31 ± 9 (16—52)
Кариотип Karyotype	46,XX (n = 19) 45,XX,der(13;14)(q10;q10) (n = 1) 45,X/46,XX (n = 1)	46,XX (n = 10) 45,X/46,XX/47,XXX (n = 1)
Наличие гена SRY Presence of the SRY gene	присутствует (n = 15) present (n = 15) отсутствует (n = 2) absent (n = 2) не исследовано (n = 4) not tested (n = 4)	присутствует (n = 8) present (n = 8) отсутствует (n = 3) absent (n = 3)
Наличие локуса AZF Presence of the AZF locus	отсутствует (n = 15) absent (n = 15) не исследовано (n = 6) not tested (n = 6)	отсутствует (n = 11) absent (n = 11)

Окончание табл. 4

End of table 4

Критерий сравнения Comparison criteria	Пациенты с азооспермией (<i>n</i> = 21) Azoospermic patients (<i>n</i> = 21)	Пациенты с олигозооспермией или криптозооспермией (<i>n</i> = 11) Severe oligozoospermic/ cryptozoospermic patients (<i>n</i> = 11)
Объем эякулята, мл Sperm volume, ml	2,4 ± 1,6 (0,1–5,1)	2,0 ± 0,6 (0,6–3,0)
Частота олигоспермии, % Frequency of oligospermia, %	30	22
рН, ед. pH, units	7,7 ± 0,5 (6,0–8,3)	7,8 ± 0,4 (6,8–8,5)
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/ml	0	0,3 ± 0,7 (0,0–2,95)
Общее количество сперматозоидов, млн Total sperm count, million	0	0,3 ± 0,5 (от единичных сперматозоидов до 2,95 млн) (from single spermatozoa to 2.95 mln)

не различался и варьировал в данных подгруппах от 16 до 40 и от 1 до 52 лет соответственно, в среднем составляя 31 ± 9 и 28 ± 6 лет соответственно (см. табл. 4). В обеих группах преобладал «классический» цитогенетический вариант XX-инверсии пола с наличием в кариотипе двух X-хромосом, однако отмечены единичные случаи мозаицизма по X-хромосоме. Ген *SRY* обнаружен у 87 и 73 % обследованных пациентов соответственно. Наличие последовательностей локуса *AZF* не отмечено ни у одного из пациентов в обеих подгруппах, которым выполнено молекулярно-генетическое исследование. Объем и pH эякулята существенно не различались, но частота олигоспермии была выше (30 %) в группе пациентов с азооспермией и меньше (22 %) у пациентов с олигозооспермией (см. табл. 4).

При сравнении данных обследования пациентов с *SRY*-позитивной и *SRY*-негативной формами XX-инверсии пола не отмечено статистически значимых различий по возрасту и сперматологическим параметрам, за исключением объема эякулята и частоты встречаемости олигоспермии. У *SRY*-негативных мужчин по сравнению с *SRY*-позитивными пациентами отмечены статистически значимо меньший средний объем эякулята ($0,8 \pm 1,0$ мл против $2,7 \pm 1,2$ мл; $p = 0,0212$; $U = 7,00$) и более частая встречаемость олигоспермии (табл. 5).

У 6 пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП ССИ выполнено в динамике неоднократно, а также имелись результаты предыдущих сперматологических анализов. Один клинический случай представляет особый интерес, поэтому он будет описан ниже отдельно.

Таблица 5. Результаты генетического и сперматологического исследования в группах пациентов с *SRY*-позитивной (*SRY*+) и *SRY*-негативной (*SRY*–) 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола

Table 5. The results of cytogenetic examination and semen analysis in groups of patients with *SRY*-positive (*SRY*+) and *SRY*-negative (*SRY*–) 46,XX-testicular disorder of sex development

Критерий сравнения Comparison criteria	Пациенты с <i>SRY</i> + XX-инверсией пола (<i>n</i> = 23) Patients with <i>SRY</i> + XX sex reversal (<i>n</i> = 23)	Пациенты с <i>SRY</i> – XX-инверсией пола (<i>n</i> = 5) Patients with <i>SRY</i> – XX sex reversal (<i>n</i> = 5)
Возраст, лет Age, year	30 ± 8 (16–52)	25 ± 6 (17–32)
Кариотип (по данным СЦИ) Karyotype (according to SCA)	46,XX (<i>n</i> = 21)* 45,XX,der(13;14)(q10;q10) (<i>n</i> = 1) 45,X/46,XX (<i>n</i> = 1)	46,XX (<i>n</i> = 5)
Наличие локуса <i>AZF</i> Presence of the <i>AZF</i> locus	Отсутствует Absence	Отсутствует Absence
Объем эякулята, мл Ejaculate volume, ml	2,7 ± 1,2 (0,1–5,1)	0,8 ± 1,0 (0,1–2,0)



Окончание табл. 5

End of table 5

Критерий сравнения Comparison criteria	Пациенты с $SRY+$ XX-инверсией пола ($n = 23$) Patients with $SRY+$ XX sex reversal ($n = 23$)	Пациенты с $SRY-$ XX-инверсией пола ($n = 5$) Patients with $SRY-$ XX sex reversal ($n = 5$)
Частота олигоспермии, % (n/N) Frequency of oligospermia, % (n/N)	8 (2/24)	67 (2/3)
pH, ед. pH, units	$7,7 \pm 0,4$ (6,8–8,5)	$7,5 \pm 1,0$ (6,0–8,1)
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/ml	$0,16 \pm 0,58$ (0–2,95)	$0,06 \pm 0,07$ (0–0,15)
Общее количество сперматозоидов, млн Total sperm count, million	$0,27 \pm 1,03$ (0–5,9)	$0,03 \pm 0,06$ (0–0,1)

*У 1 пациента по данным исследования методом флуоресцентной гибридизации *in situ* обнаружен 45,X/46,XX/47,XXX-мозаицизм.

*Results of fluorescence *in situ* hybridization show hidden mosaicism 45,X/46,XX/47,XXX in one patient.

Примечание. СЦИ – стандартное цитогенетическое исследование.

Note. SCA – standard cytogenetic analysis.

Пациент П.В., 36 лет (код пациента 25, см. табл. 1), диагноз: SRY -позитивная 46,XX-тестикулярная форма НФП. В течение нескольких лет наблюдался и проходил лечение у андролога по поводу первичного бесплодия в браке, в том числе в течение 3 лет с использованием гормональной терапии для стимулирования сперматогенеза. Поскольку лечение было неэффективным, пациенту было рекомендовано выполнение медико-генетического обследования. В нашу лабораторию пациент обратился для повторного генетического обследования в связи с несоответствием данных цитогенетического (анализ кариотипа) и молекулярно-генетического исследований (анализ микроделций Y-хромосомы), выполненных по месту жительства (Украина). При первичном генетическом исследовании кариотип пациента определен как 46,XX, и каких-либо микроделций Y-хромосомы не обнаружено. При повторном генетическом обследовании было установлено, что по данным СЦИ кариотип пациента – 46,XX, однако последовательностей длинного плеча Y-хромосомы не было обнаружено, что свидетельствовало об ошибочности результатов (ложноотрицательные результаты) первичного анализа микроделций в локусе AZF. Кроме того, при молекулярно-цитогенетическом исследовании (FISH) лимфоцитов периферической крови у него выявлен сложный мозаицизм по X-хромосоме ($X^{SRY}/X^{SRY}X/X^{SRY}X^{SRY}X$), при этом все 3 клеточные линии содержали ген SRY .

Спермиологическое исследование пациенту выполняли многократно в динамике. По данным ССИ, сперматологические заключения были преимущественно представлены азооспермией и олигозооспермией (табл. 6). Концентрация сперматозоидов в случаях с олигозооспермией составляла от 0,05 до 2,95 млн/мл, общее

количество сперматозоидов в соответствующих случаях составило от 0,1 до 5,9 млн/мл. Результаты спермиологического исследования от 01.12.2006 (анализ выполнен не в нашей лаборатории) представляются нам крайне сомнительными. Олигоспермия отмечена в 2 исследованных образцах эякулята (объем эякулята – 1,0 и 1,3 мл). Показатели pH эякулята в норме. Лейкоспермии в исследованных образцах не обнаружено.

Дополнительно обследованы 2 мужчины (21 и 36 лет), у которых обнаружен мозаицизм XX/XY (также описаны отдельно). Фенотипические признаки у них близки к анализируемой нами группе 46,XX-мужчин. Пациенты обратились для обследования в связи с первичным мужским бесплодием. По данным цитогенетического исследования на лимфоцитах крови кариотипы пациентов определены как $mos\ 46,XX[24]/46,XY[6]$ (код пациента 33, возраст 21 год) и $mos\ 46,XY[190]/46,XX[10]$ (код пациента 34, возраст 36 лет). У обоих мужчин обнаружены клоны клеток 46,XX, при этом у одного из них (код пациента 33) доминировала клеточная линия с кариотипом 46,XX, у другого – линия с кариотипом 46,XY (код пациента 34). У пациента 36 лет отмечена гипоспадия, что свидетельствовало о недостаточной маскулинизации в фетальный период. У обоих мужчин с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции обнаружено наличие последовательностей гена SRY и всех исследованных маркеров локуса AZF. По результатам ССИ в образцах эякулята от данных пациентов отмечены нормальный объем (2,5 и 3 мл) и pH (7,9 и 8,1), вязкость составила 30 и 2 мм, концентрация сперматозоидов в эякуляте – 0,15 и 0,1 млн/мл соответственно. При этом у пациента 33 (см. табл. 1) в возрасте 21 года найдены единичные подвижные спермато-

Таблица 6. Результаты стандартного спермиологического исследования у пациента с 46,XX-тестикулярной формой нарушения формирования пола (код пациента 25), обследованного в динамике

Table 6. Results of standard sperm analysis in patient with 46,XX testicular disorder of sex development (patient code 25), dynamic observation

Дата исследования Date of study	Объем эякулята, мл Ejaculate volume, ml	Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/ml	Общее количество сперматозоидов, млн Total sperm count, million	Живые/мертвые сперматозоиды, % Live/dead sperm, %	Подвижные/неподвижные сперматозоиды, % Motile/non-motile sperm, %	Нормальные/морфологически атипичные сперматозоиды, % Normal/morphologically atypical sperm, %
16.05.1995	2,0	0	0	—	—	—
14.08.1995	2,0	0	0	—	—	—
08.12.1995	2,0	0	0	—	—	—
21.05.1996	1,0	0	0	—	—	—
07.03.2006	2,0	0,05	0,1	н.о. n. a.	0/100	н.о. n. a.
15.03.2006	2,0	0,85	1,7	н.о. n. a.	Единичные подвижные Single motile spermatozoa	н.о. n. a.
22.03.2006	2,0	2,95	5,9	н.о. n. a.	0/100	н.о. n. a.
25.09.2006	2,6	0	0	—	—	—
01.12.2006	3,0	54	162	80/20	56/44	53/47
06.03.2007	2,0	0	0	—	—	—
27.06.2007	1,3	0	0	—	—	—
24.10.2007	2,5	0,15	0,3	30/70	0/100	0/100

Примечание. н. о. — не определено.

Note. n. a. — not available.

зоиды. Все обнаруженные сперматозоиды имели признаки морфологических аномалий. По результатам ККА НПК в осадке эякулята у пациентов обнаружены сперматозоиды и незрелые половые клетки, в большинстве представленные сперматидами, — 98 и 78 % всех обнаруженных НПК соответственно.

Обсуждение

Среди обследованных нами пациентов ген *SRY* обнаружен у 82 % 46,XX-мужчин, что примерно соответствует результатам, описанным другими авторами. Согласно данным литературы, ген *SRY* присутствует у 85–90 % пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП и 10 % 46,XX-пациентов с овотестикулярной формой НФП [14–18, 21]. У большинства из них обнаруживают транслокацию фрагмента короткого плеча Y-хромосомы (несущего ген *SRY*) на X-хромосому, реже на какую-либо аутосому [16, 23]. В последнем случае может иметь место несбалансированная Y-ауто-

сомная транслокация с потерей фрагмента аутосомы, что приведет к соответствующим фенотипическим нарушениям, например врожденным порокам развития, умственной отсталости.

Отсутствие гена *SRY* установлено у 18 % пациентов нашей выборки, которым выполнено молекулярно-генетическое исследование. Согласно данным литературы, у 10–15 % пациентов с XX-инверсией пола диагностируют *SRY*-негативную форму НФП, при этом не обнаруживают каких-либо Y-специфичных последовательностей ДНК [11]. В редких случаях *SRY*-позитивная XX-инверсия пола обусловлена скрытым низкоуровневым, межканевым или внутригональным мозаицизмом по Y-хромосоме, например 46,XX/46,XY или 46,XX/47,XXY [13]. Среди обследованных нами мужчин с XX-инверсией пола, которым выполнено молекулярно-цитогенетическое и/или молекулярно-генетическое исследование, ни у одного из пациентов не обнаружено наличия последовательностей центро-

мерной области (Ycen) и длинного плеча (локуса AZF) Y-хромосомы, что косвенно свидетельствует об отсутствии мозаицизма по Y-хромосоме, по крайней мере в лимфоцитах периферической крови. У пациентов с *SRY*-негативной формой XX-инверсии пола обнаруживают генные мутации или изменение числа копий (CNV) генов или локусов, вовлеченных в процесс дифференцировки гонад — *DAX1* (Xp21.2), *FGF9* (13q11–q12), *FOXL2* (3q22.3), *NR2F2* (15q26.2), *NR5A1/SF-1* (9q33.3), *RSP01* (1p34.3), *SOX3* (Xq27.1), *SOX9* (17q24.3), *SOX10* (22q13.1), *WNT4* (1p36.12) и *WT1* (11p13) [11]. Таким образом, XX-инверсия пола представляет собой гетерогенную группу генетически обусловленных НФП, характеризующихся наличием мужского фенотипа (или отнесенного к мужскому полу) при отсутствии в кариотипе Y-хромосомы (по данным цитогенетического исследования).

У большинства пациентов с XX-инверсией пола по данным цитогенетического исследования обнаруживают кариотип 46,XX [5, 6, 11, 13, 14]. У 1 из обследованных нами пациентов обнаружено наличие робертсоновской транслокации с участием хромосом 13 и 14 — der(13;14)(q10;q10). Данный тип робертсоновских транслокаций является наиболее частым и составляет около 70–75 % всех типов робертсоновских транслокаций. Хотя ее происхождение (*de novo* или унаследованная от матери или отца) не было установлено, очевидно, что эта хромосомная аномалия являлась не связанным с XX-инверсией пола генетическим нарушением, которое не оказывало существенного влияния на фенотип.

У некоторых пациентов с XX-инверсией пола при СЦИ диагностируют мозаичный ее вариант, например 45,X/46,XX, 45,X/46,XX/47,XXX или 46,XX/47,XXX [13]. Также к 46,XX-тестикулярной форме НФП можно отнести кариотип пациентов мужского пола с кариотипом 45,X и 47,XXX [26, 27]. В первом случае все пациенты являются *SRY*-позитивными вследствие наличия Y-аутосомной или X-Y-транслокации (крайне редко), во втором — X-Y-транслокации в сочетании с X-X-нерасхождением. С помощью молекулярно-цитогенетического (FISH) исследования установлено, что некоторые *SRY*-позитивные пациенты с XX-инверсией пола, в том числе те, у которых по данным СЦИ не обнаружено мозаицизма, могут являться мозаиками по дериватной (*SRY*-несущей) X-хромосоме. Так, у одного из пациентов исследованной нами выборки, описанного нами ранее [23], обнаружен сложный мозаицизм 45,X^{SRY}/46,X^{SRY}X/47,X^{SRY}X^{SRY}X. Примечательно, что все 3 клеточные линии имели 1 или 2 дериватные X-хромосомы, содержащие фрагмент Y-хромосомы с локусом *SRY*, что, вероятно, обуславливало отсутствие дефицита маскулинизации у данного пациента. Вероятно, в данном случае, как и в других мозаичных вариантах Yr+–XX-инверсии пола,

мозаицизм возник в результате постзиготических ошибок митотического расхождения дериватной (*SRY*-несущей) хромосомы на ранних стадиях эмбрионального развития. Очевидно, что наличие, тип и выраженность гоносомного мозаицизма, особенно в гонадах, являются одним из генетических факторов, влияющих на экспрессию генов, вовлеченных в половую дифференцировку и гаметогенез, и определяющих фенотип пациентов с XX-инверсией пола.

Фенотипические проявления у *SRY*-позитивных и *SRY*-негативных пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП зачастую не имеют существенных отличий. Однако признаки нарушения половой дифференцировки, двойственности развития половой системы, как правило, отсутствуют, при этом выраженность маскулинизации может вполне соответствовать здоровому мужчине (за исключением первичного мужского бесплодия, гипогонадизма и азооспермии). У *SRY*-негативных пациентов с XX-инверсией пола несколько чаще отмечают фенотипические признаки внутриутробного дефицита маскулинизации, такие как гипоспадия, расщепление мошонки, крипторхизм, тестикулярный дисгенез, выраженная гипоплазия тестикул, в некоторых случаях у пациентов диагностируют овотестикулярную форму НФП, пороки развития органов и систем (костной системы, почек, глаз и др.), не относящихся к мочеполовой системе [11]. Среди обследованных нами 46,XX-мужчин, в том числе *SRY*-негативных, нами не отмечено врожденных пороков развития органов, не относящихся к половой системе. Крипторхизм и/или гипоспадия присутствовали у 13,2 % пациентов с XX-инверсией пола [14]. В обследованной нами выборке XX-мужчин также отмечена гипоплазия тестикул, а у некоторых пациентов — гипоспадия и крипторхизм в анамнезе (данные не показаны).

У большинства (66 %) пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП в исследуемой выборке диагностирована азооспермия, у остальных мужчин выявлена олигозооспермия тяжелой степени или криптозооспермия. Согласно данным литературы, у пациентов с такой формой НФП сперматогенез практически отсутствует, почти у всех из них диагностируют необструктивную азооспермию [14], поэтому им рекомендуется использовать донорские гаметы в протоколах программ ЭКО [11].

Более частое выявление случаев криптозооспермии у пациентов с XX-инверсией пола можно объяснить использованием разработанных в нашей лаборатории методик исследования, в частности метода ККА НПК. Данный метод позволяет более детально исследовать количество и состав половых клеток в эякуляте, в том числе при низких и экстремально низких концентрациях половых клеток при выраженных нарушениях сперматогенеза [25]. Обнаружение половых клеток указывает на частичное сохранение сперматогенеза



вплоть до созревания небольшого количества сперматозоидов, а у части пациентов олигозооспермия выявлена при ССИ (в нативном препарате). Поскольку в эякуляте обнаружены половые клетки на разных стадиях, это косвенно доказывает возможность прохождения всех стадий мейоза некоторыми 46,XX-сперматозоидами. Вариабельность по количеству НПК и сперматозоидов, обнаруженных в эякуляте у обследованных нами 46,XX-мужчин, косвенно указывает на различия в степени тяжести нарушения сперматогенеза между пациентами.

Вероятно, на возможность и степень частичного сохранения сперматогенеза в некоторых извитых семенных канальцах у пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП может влиять множество генетических факторов, вовлеченных в регуляцию процессов развития НПК и сперматогенного эпителия, в первую очередь связанных с самим НФП. В исследованной нами выборке пациенты, имеющие и не имеющие ген *SRY*, существенно не отличались по сперматологическим показателям. Возможно, это связано с относительно небольшим размером группы пациентов с *SRY*-негативной формой 46,XX-инверсии пола (5 пациентов). Среди научных публикаций нами не обнаружено работ, в которых бы проводили сравнительный анализ сперматологических показателей у пациентов с XX-инверсией пола в зависимости от генотипа, в частности от наличия гена *SRY*. При обследовании наиболее крупной выборки из 144 пациентов мужского пола с кариотипом 46,XX спермиологическое исследование было выполнено у 128 мужчин, при этом во всех обследованных образцах эякулята обнаружена азооспермия, а средний объем эякулята составил $2,7 \pm 1,7$ мл (близко к показателю в исследованной нами выборке — $2,2 \pm 1,2$ мл), нормальная кислотность эякулята выявлена в 95,7 % образцов, сниженный показатель pH отмечен в 4,3 % образцов [14]. Авторы не проводили сравнительный анализ спермиологических параметров у *SRY*-позитивных и *SRY*-негативных пациентов. Примечательно, что в столь крупной выборке ни у одного 46,XX-мужчины не было обнаружено сперматозоидов. Наличие криптозооспермии и присутствие НПК в эякуляте не указано ни в одном из исследованных образцов, что, вероятно, свидетельствует о том, что осадок эякулята не был детально проанализирован. В исследовании также не указано, выполняли ли гистологическое исследование биоптата яичка или эпидидимиса. По данным гистологического исследования тестикулярной ткани у взрослых мужчин с XX-инверсией пола обнаруживают гиалинизацию семенных канальцев с аплазией герминативного эпителия, а у плодов, пациентов детского и подросткового возраста картина поражения герминативного эпителия в извитых семенных канальцах напоминает синдром «только клетки Сертоли» [5, 6]. Это свидетельствует о прогрессировании поражения тестикулярной ткани

у 46,XX-мужчин с возрастом. У одного из обследованных нами пациентов (код пациента 25) спермиологические исследования выполняли в динамике, отмечено снижение концентрации сперматозоидов с возрастом (с олигозооспермии до азооспермии/криптозооспермии).

Одним из наиболее значимых результатов представленного исследования являются сперматологические признаки, свидетельствующие о частичном сохранении сперматогенеза у некоторых мужчин с XX-инверсией пола, в том числе не имеющих гена *SRY*. Этот факт противоречит общепринятому научному мнению об отсутствии каких-либо возможностей сохранения сперматогенеза у пациентов с данной формой нарушения формирования пола и/или получения у них сперматозоидов, пригодных для процедуры ЭКО/ICSI. Поэтому 46,XX-мужчинам рекомендовано не проводить тестикулярную биопсию, а использовать донорские гаметы в программах вспомогательных репродуктивных технологий. В отличие от 46,XX-мужчин, у некоторых мужчин с кариотипом 46,XX/46,XY обнаруживают олигозооспермию и/или удается получить сперматозоиды, пригодные для процедуры ЭКО/ICSI, в том числе описаны успешные программы [28]. Пациенты с мозаицизмом (или химеризмом) 46,XX/46,XY характеризуются выраженной фенотипической вариабельностью в отношении развития половой системы (от мужского с нормальной или недостаточной маскулинизацией, двойственного развития гениталий до женского), что обусловлено выраженностью XY-несущей клеточной линии в гонадах [29]. У некоторых 46,XX/46,XY-пациентов мужского пола, имеющих овотестикулярную форму НФП, удаление овариальной ткани позволяет существенно улучшить сперматогенез благодаря наличию в XY-несущем клоне генов локуса AZF. Мужчины с кариотипом 46,XX, являющиеся скрытыми мозаиками по Y-хромосоме, частично генетически и фенотипически (клинически) перекрываются с 46,XX/46,XY-пациентами и некоторыми цитогенетическими мозаичными вариантами синдрома Клайнфельтера (46,XX/47,XXY).

Частичное сохранение сперматогенеза при XX-инверсии пола свидетельствует о возможном прохождении всех стадий развития мужских половых клеток при отсутствии генов Y-хромосомы, в частности генов локуса AZF (Yq11.2), что неоднократно было показано нами ранее у мужчин с протяженными делециями длинного плеча Y-хромосомы. Гены Y-хромосомы играют важную роль в дифференцировке бипотенциальных гонад в тестикулы, развитии половых органов по мужскому типу, контроле и регуляции сперматогенеза. Однако следует отметить, что в эти процессы вовлечено множество генов, расположенных как на половых хромосомах, так и на аутосомах. Согласно современным представлениям, гены локуса AZF являются регуляторами процессов деления, дифференцировки



и развития мужских половых клеток, определяя количество созревающих гамет. Вероятно, на возможность и выраженность частичной сохранности сперматогенеза у пациентов с XX-инверсией пола влияют различные генетические (генотип) и фенотипические факторы (возраст, выраженность гипоплазии тестикул и гипогонадизма, наличие каких-либо других заболеваний и др.). В исследованной выборке нами не обнаружено значимого влияния наличия гена *SRY* на степень сперматологических нарушений у пациентов с XX-инверсией пола, однако частичная сохранность сперматогенеза чаще отмечена у *SRY*-позитивных мужчин, а также у XX/XУ-мозаиков. Возможно, это обусловлено относительно небольшим размером выборки и небольшой долей *SRY*-негативных пациентов. Кроме того, нами не отмечено существенного влияния возраста, что, вероятно, обусловлено тем, что сперматогенез первично нарушен, а с возрастом прекращает созревать то небольшое количество половых клеток, которое проходит мейотическое деление. Предполагают, что, помимо мозаицизма по Y-хромосоме, генетическими факторами частичного сохранения сперматогенеза у пациентов с XX-инверсией пола могут быть различные генные и эпигенетические факторы (варианты числа копий и генные мутации, характер инактивации X-хромосомы и др.) [22].

Помимо сперматологических признаков нарушения сперматогенеза, примерно у трети пациентов отмечен сниженный объем эякулята, в единичных случаях — в сочетании с низким pH, на что также указывают и другие авторы [14]. Сниженный объем эякулята отмечают у некоторых пациентов с НФП, в том числе с 46,XX-тестикулярной формой НФП. Основным объемом эякулята составляет секрет семенных пузырьков, которые являются производными семявыносящего протока и развиваются под действием андрогенов из вольфова (мезонефрального) протока. Выраженная олигоспермия в сочетании с азооспермией или криптозооспермией характерна для пациентов с аплазией и гипоплазией семенных пузырьков и обструкцией семявыносящих путей, например мужчин с муковисцидозом/двусторонней аплазией семявыносящих протоков [30]. У данных пациентов изменения

обусловлены двусторонней непроходимостью семявыносящих путей на уровне придатка яичка и/или семявыносящих протоков. Сперматологическими признаками, отличающими пациентов с обструктивной азооспермией, являются низкие показатели pH ($<7,0$), фруктозы и α -гликозидазы семенной жидкости и существенно меньший объем эякулята [30]. В отличие от них, у пациентов с 46,XX-тестикулярной формой НФП средний объем эякулята, как правило, не ниже нормативных значений, а частота и выраженность олигоспермии существенно ниже. Следует отметить, что экстремально низкий объем эякулята (менее 0,2 мл) с выраженно сниженным показателем pH при наличии азооспермии может свидетельствовать о том, что представленный образец фактически представляет собой в основном секрет придаточных половых желез, в частности предстательной железы. Это требуется учитывать при оценке результатов спермиологического исследования.

Заключение

Пациенты с 46,XX-тестикулярной формой НФП характеризуются тяжелой формой мужского бесплодия вследствие выраженного нарушения сперматогенеза. Необструктивная азооспермия или экстремально тяжелая форма олигозооспермии у данных пациентов обусловлены отсутствием генов Y-хромосомы, в частности всех генов локуса AZF. Выявленная криптозооспермия и наличие НПК в осадке эякулята, а в единичных случаях и олигозооспермия тяжелой степени, указывают на частичную сохранность сперматогенеза при данных генетических заболеваниях, в том числе при *SRY*-негативном варианте 46,XX-тестикулярной формы НФП. Однако успешных случаев получения сперматозоидов, пригодных для ЭКО, и использования их в программах ЭКО/ICSI у пациентов с XX-инверсией пола, не являющихся мозаиками по хромосоме Y, не описано. Частичное сохранение сперматогенеза и мейоза при 46,XX-тестикулярной форме НФП требует дальнейшего изучения, что позволит разработать новые и оптимизировать имеющиеся подходы к возможному улучшению сперматогенеза и решению проблемы деторождения у пациентов с тяжелыми формами мужского бесплодия.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Krausz C., Escamilla A.R. Genetics of male infertility. *Nat Rev Urol* 2018;15(6):369–84. DOI: 10.1038/s41585-018-0003-3
- Курило Л.Ф. Хромосомные заболевания органов половой системы. Клиническая и экспериментальная морфология 2015;1:48–59.
Kurilo L.F. Chromosomal diseases of the organs of the sexual system. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya* = Clinical and Experimental Morphology 2015;1:48–59. (In Russ.).
- 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
Sorokina T.M., Solovova O.A., Chernykh V.B. Modern opportunities and indications for genetic diagnosis of male infertility. *Meditinskaya genetika* = Medical genetics 2019;18(12):3–15. (In Russ.). DOI: 10.25557/2073-7998.2019.12.3-15
- De la Chapelle A., Hortling H., Niemi M., Wennström J. XX sex chromosomes in a human male. First Case. *Acta Med Scand* 1964;175(suppl 412):25–8.
DOI: 10.1111/j.0954-6820.1964.tb04630.x
- De la Chapelle A. Analytic review: nature and origin of males with XX sex chromosomes. *Am J Hum Genet* 1972;24(1):71–105.
- De la Chapelle A. The etiology of maleness in XX men. *Hum Genet* 1981;58(1):105–16. DOI: 10.1007/BF00284157
- Lee P.A., Houk C.P., Ahmed S.F. et al. Consensus statement on management of intersex disorders. International Consensus Conference on Intersex. *Pediatrics* 2006;118(2):e488–500.
DOI: 10.1542/peds.2006-0738
- Калинченко С.Ю., Тишова Ю.А., Асанов А.Ю. и др. Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика синдрома де ля Шапелля (синдром XX-male): обзор литературы и описание одного случая заболевания. Проблемы репродукции 2003;9(5):58–65.
Kalinchenko S.Yu., Tishova Yu.A., Asanov A.Yu. et al. Clinical and molecular characteristics of De la Chapelle syndrome (XX male syndrome). *Problemy reprodukcii* = Reproduction Problems 2003;9(5):58–65. (In Russ.).
- Санникова Е.С., Латышев О.Ю., Самсонова Л.Н. и др. Синдром де ля Шапелля: клинико-лабораторная характеристика четырех пациентов. Проблемы эндокринологии 2017;63(2):124–6. DOI: 10.14341/probl2017632124-126
Sannikova E.S., Latyshev O.Yu., Samsonova L.N. et al. De la Chapelle syndrome: clinical and laboratory characteristics of 4 patients. *Problemy endokrinologii* = Problems of Endocrinology 2017;63(2):124–6. (In Russ.). DOI: 10.14341/probl2017632124-126
- Boucekkine C., Toubanc J.E., Abbas N. et al. Clinical and anatomical spectrum in XX sex reversed patients. Relationship to the presence of Y specific DNA-sequences. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994;40(6):733–42. DOI: 10.1111/j.1365-2265.1994.tb02506.x
- Délot E.C., Vilain E.J. Nonsyndromic 46,XX testicular disorders of sex development. In: *GeneReviews®* [Internet]. Ed. by M.P. Adam, H.H. Ardinger, R.A. Pagon et al. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 1993–2022. [Initial Posting: October 30, 2003; Last Update: May 26, 2022.]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1416/>
- Ergun-Longmire B., Vinci G., Alonso L. et al. Clinical, hormonal and cytogenetic evaluation of 46,XX males and review of the literature. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005;18(8):739–48.
DOI: 10.1515/jpem.2005.18.8.739
- Черных В.Б., Чухрова А.Л., Вассерман Н.Н. и др. Молекулярный анализ Y-хромосомы у пациентов с XX-инверсией пола. Генетика 2008;44(2):236–41.
Chernykh V.B., Chukhrova A.L., Vasserman N.N. et al. Molecular analysis of the Y chromosome in XX sex-reversed patients. *Genetika* = Russian Journal of Genetics 2008;44(2):236–41. (In Russ.).
- Chen T., Tian L., Wu F. et al. Clinical and genetic analysis in males with 46,XX disorders of sex development: a reproductive centre experience of 144 cases. *Andrologia* 2019;51(4):e13232.
DOI: 10.1111/and.13232
- Terribile M., Stizzo M., Manfredi C. et al. 46,XX testicular disorder of sex development (DSD): a case report and systematic review. *Medicina* 2019;55(7):371. DOI: 10.3390/medicina55070371
- Yue F., Zhang H., Xi Q. et al. Molecular cytogenetic analysis and genetic counseling: a case report of eight 46,XX males and a literature review. *Mol Cytogenet* 2019;12:44.
DOI: 10.1186/s13039-019-0456-y
- Grinspon R.P., Rey R.A. Molecular characterization of XX maleness. *Int Mol Sci* 2019;20(23):6089. DOI: 10.3390/ijms20236089
- Adrião M., Ferreira S., Santos Silva R. et al. 46,XX male disorder of sexual development. *Clin Pediatr Endocrinol* 2020;29(1):43–5.
DOI: 10.1297/cpe.29.43
- Sinclair A.H., Berta P., Palmer M.S. et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 1990;346(6281):240–4.
DOI: 10.1038/346240a0
- Ferguson-Smith M.A., Cooke A., Affara N.A. et al. Genotype-phenotype correlations in XX males and their bearing on current theories of sex determination. *Hum Genet* 1990;84(2):198–202.
DOI: 10.1007/BF00208942
- Queipo G., Zenteno J.C., Peña R. et al. Molecular analysis in true hermaphroditism: demonstration of low-level hidden mosaicism for Y-derived sequences in 46,XX cases. *Hum Genet* 2002;111(3):278–83. DOI: 10.1007/s00439-002-0772-9
- Vorona E., Zitzmann Z., Gromoll J. et al. Clinical, endocrinological, and epigenetic features of the 46,XX male syndrome, compared with 47,XXY Klinefelter patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(9):3458–65. DOI: 10.1210/jc.2007-0447
- Chernykh V.B., Kurilo L.F., Shilova N.V. et al. Hidden X chromosomal mosaicism in a 46,XX male. *Sex Dev* 2009;3(4):183–7.
DOI: 10.1159/000228718
- WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edn. Geneva: WHO, 2010. 287 p.
- Андреева М.В., Хаят С.Ш., Шилейко Л.В. и др. Количественный кариологический анализ незрелых половых клеток из эякулята как часть протокола обследования мужчин с бесплодием в браке. Андрология и генитальная хирургия 2017;18(1):62–9. DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-1-62-69
Andreeva M.V., Khayat S.S., Shileiko L.V. et al. Quantitative karyological analysis of immature germ cells from ejaculate as part of examination of patients with infertility in marriage. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = Andrology and Genital Surgery 2017;18(1):62–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2017-18-1-62-69
- Ogata T., Matsuo M., Muroya K. et al. 47,XXX male: A clinical and molecular study. *Am J Med Genet* 2001;98(4):353–6.
DOI: 10.1002/1096-8628(20010201)98:4<353::aid-ajmg1110>3.0.co;2-d
- Chernykh V.B., Vyatkina S.V., Antonenko V.G. et al. Unique mosaic X/Y translocation/insertion in infant 45,X male. *Am J Med Genet A* 2008;146A(24):3195–7. DOI: 10.1002/ajmg.a.32578
- Laursen R.J., Alsbjerg B., Vogel I. et al. Case of successful IVF treatment of an oligospermic male with 46,XX/46,XY chimerism. *J Assist Reprod Genet* 2018;35(7):1325–8.
DOI: 10.1007/s10815-018-1194-5
- Hercent A., Amar E., Valent A. et al. Various genital and reproductive phenotypes in 46,XX/46,XY chimeras. *Sex Dev* 2019;13(5–6):271–7. DOI: 10.1159/000510532
- Штаут М.И., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф. и др. Сравнительный анализ результатов спермиологического исследования у пациентов с азооспермией, вызванной муковисцидозом и синдромом врожденной двусторонней аплазии семявыносящих протоков. Андрология



и генитальная хирургия 2019;20(1):82–90.
DOI:10.17650/2070-9781-2019-20-1-82-90
Shtaut M.I., Sorokina T.M., Kurilo L.F. et al. Comparative analysis
of the results semen evaluation in patients with azoospermia caused

by cystic fibrosis and congenital bilateral aplasia of vas deferens
syndrome. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology
and Genital Surgery 2019;20(1):82–90. (In Russ.).
DOI: 10.17650/2070-9781-2019-20-1-82-90

Вклад авторов

М.И. Штаут: получение данных для анализа (спермиологическое исследование), анализ полученных данных, написание текста статьи;
Т.М. Сорокина: клиническое обследование пациентов;
Л.Ф. Курило: разработка метода количественного кариологического анализа незрелых половых клеток, редактирование текста статьи;
Н.В. Опарина, Н.В. Шилова: цитогенетическое обследование пациентов;
М.В. Андреева: анализ полученных данных;
А.В. Поляков: разработка и проведение молекулярно-генетического исследования;
В.Б. Черных: разработка дизайна исследования, клиническое обследование пациентов, анализ полученных данных, обзор публикаций
по теме статьи, написание и редактирование текста статьи.

Authors' contributions

M.I. Shtaut: obtaining data for analysis (semen analysis), analysis of the data obtained, article writing;
T.M. Sorokina: clinical examination of patients;
L.F. Kurilo: development of methods of quantitative karyological analysis of immature germ cells, editing of the article;
N.V. Oparina, N.V. Shilova: obtaining data for analysis (cytogenetic examination);
M.V. Andreeva: analysis of the data obtained;
A.V. Polyakov: development and implementation of methods of DNA analysis;
V.B. Chernykh: developing the research design, obtaining data for analysis (clinical examination), analysis of the obtained data, reviewing of publications
on the topic of the article, article writing and editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.И. Штаут / M.I. Shtaut: <https://orcid.org/0000-0002-0580-5575>
Т.М. Сорокина / T.M. Sorokina: <https://orcid.org/0000-0002-4618-2466>
Л.Ф. Курило / L.F. Kurilo: <https://orcid.org/0000-0003-3603-4838>
Н.В. Опарина / N.V. Oparina: <https://orcid.org/0000-0001-8662-4794>
М.В. Андреева / M.V. Andreeva: <https://orcid.org/0000-0002-5048-5486>
А.В. Поляков / A.V. Polyakov: <https://orcid.org/0000-0002-0105-1833>
Н.В. Шилова / N.V. Shilova: <https://orcid.org/0000-0002-0641-1084>
В.Б. Черных / V.B. Chernykh: <https://orcid.org/0000-0002-7615-8512>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки России.

Funding. The study was performed within work of the state task of the Ministry of education and science of Russia.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова». Все пациенты или их родственники (законные представители) дали письменное информирование согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study was approved by the Ethics Committee of the Research Centre for Medical Genetics. All patients or their relatives (legal representatives) have given written consent to participate in the study

Статья поступила: 11.11.2022. Принята к публикации: 27.12.2022.

Article submitted: 11.11.2022. Accepted for publication: 27.12.2022.