



Нарушение сперматогенеза и мейоза у пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы

М.И. Штаут¹, О.А. Соловова¹, Т.М. Сорокина¹, А.О. Седова¹, М.В. Андреева¹, С.Ш. Хаят¹, Л.Ф. Курило¹, Н.В. Опарина^{2,3}, Н.В. Шилова¹, В.Ю. Табаков¹, В.Б. Черных^{1,4}

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва, Россия

² ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова» ДЗМ, Москва, Россия

³ ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б.В. Петровского», Москва, Россия

⁴ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова», Москва, Россия

Контакты: Штаут Мария Имреевна, staut@yandex.ru

Введение. Структурные несбалансированные аномалии и патогенные микроделеции Y-хромосомы являются частой генетической причиной мужского бесплодия вследствие нарушения сперматогенеза. Аномалии половых хромосом (гоносом) часто связаны с гоносомным мозаицизмом, наличие, тип и выраженность которого могут модифицировать негативный эффект анеусомий, структурных вариантов половых хромосом, X- и Y-сцепленных мутаций. Недостаточно изучен совместный патогенный эффект структурных вариантов и мозаицизма Y-хромосомы на сперматогенез, мейоз и мужскую фертильность.

Цель работы. Исследование генетических и спермиологических нарушений у пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы.

Материалы и методы. Обследована группа из 40 мужчин возраста 31±7 (от 16 до 49) лет, у которых в кариотипе обнаружены мозаицизм и/или структурные аномалии/варианты Y-хромосомы. Кариотип определяли по результатам стандартного цитогенетического исследования (на культивированных лимфоцитах периферической крови), у части пациентов дополнительно выполняли FISH исследование с ДНК-зондами для хромосом X и Y. Наличие Y-специфичных последовательностей локусов SRY и AZF(a,b,c) определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Стандартное спермиологическое исследование выполняли согласно рекомендациям лабораторного Руководства ВОЗ (2010), у 12 мужчин выполнен количественный кариологический анализ (ККА) незрелых половых клеток (НПК).

Результаты. У 29 (72,5%) мужчин выявлен мозаицизм по хромосоме Y. Патогенные делеции в локусе AZF (AZFa+b+c, n=3; AZFb+c, n=19; AZFc, n=3) детектированы у 25 (62,5%) пациентов, из них у 17 пациентов обнаружен мозаицизм. Необструктивная азооспермия и тяжелая олигозооспермия диагностированы у 88% и 12% мужчин с делециями AZF, и у 47% и 20% пациентов без AZF делеций, соответственно. Нормозооспермия и нетяжелые формы патозооспермии выявлены только среди мужчин без патогенных делеций в локусе AZF. У пациентов с кольцевыми и псевдодидицентрическими хромосомами Y, терминальными делециями Yq11.2 обнаружены только тяжелые формы нарушения сперматогенеза. ККА НПК выявил криптозооспермию у 7 из 10 обследованных пациентов с азооспермией (по данным спермограммы), а также признаки нарушения деления сперматоцитов в пахитене и/или на допахитенных стадиях профазы I мейоза.

Заключение. Сперматологические нарушения у мужчин с мозаицизмом и/или структурными аномалиями хромосомы Y выражено варьируют от их отсутствия до тяжелых форм. Характер и тяжесть поражения сперматогенеза зависит от варианта структурной аномалии, типа (и генного состава) CNV, локализации точек разрыва, дополнительных патогенных факторов. Гоносомный мозаицизм является дополнительным патогенным нарушающим фертильность фактором, который может утяжелять генетические и фенотипические изменения.

Ключевые слова: азооспермия, олигозооспермия, сперматогенез, мейоз, локус AZF, мозаицизм, микроделеции, Y-хромосома, незрелые половые клетки (НПК), сперматозоиды.



Spermatogenesis and meiosis defects in patients with mosaicism and/or the Y chromosome structural abnormalities

M.I. Shtaut¹, O.A. Solovova¹, T.M. Sorokina¹, A.O. Sedova¹, M.V. Andreeva¹, S.Sh. Hayat¹, L.F. Kurilo¹, N.V. Oparina^{2,3}, N.V. Shilova¹, V.Yu. Tabakov¹, V.B. Chernykh^{1,4}

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

² The Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia;

³ Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia;

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Contacts: Chernykh V.B., chernykh@med-gen.ru

Unbalanced structural Y chromosome abnormalities and pathogenic Y chromosome microdeletions are common genetic cause of severe male infertility due to spermatogenesis damage. Sex chromosomes (gonosomes) abnormalities are often associated with mosaicism the presence and percentage of gonosomal mosaicism may modify the damage of the negative effect of sex chromosome abnormalities and X- and Y-linked mutations. The combined effect of structural abnormalities and mosaicism of the Y chromosome on male fertility and semen parameters has not been sufficiently studied. **The aim of the study** was the analysis of the spermatological and genetic examination in mosaic patients with/or without structural abnormalities of the Y chromosome to evaluate the spermatogenesis and meiosis defects.

Material and methods. A group of 40 men aged 31 ± 7 (from 16 to 49) years was examined, mosaicism and/or structural abnormalities/variants of the Y chromosome were found in the karyotype of patients. The karyotype detected on the results of a standard cytogenetic study (on cultured peripheral blood lymphocytes), a FISH study with DNA probes for X and Y chromosomes was additionally performed. The presence/absence of Y-specific sequences (SRY and AZFa,b,c loci) was determined by multiplex polymerase chain reaction. A standard spermiological examination was performed according to the WHO Laboratory Manual, quantitative karyological analysis (QKA) of immature germ cells (IGCs) was performed in 12 patients.

Results. Y chromosome mosaicism was found in 29 (72.5%) patients. Pathogenic AZF microdeletions (AZFa+b+c, n=3; AZFb+c, n=19; AZFc, n=3) were detected in 25 (62.5%) men, 17 of them had the Y chromosome mosaicism. Non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia were found in 88% and 12% of men with AZF deletions, and without AZF deletions in 47% and 20% of patients, respectively. Normozoospermia and mild forms of pathozoospermia were revealed in patients without AZF deletions. Only severe forms of spermatogenesis defects were found in all men with Yq11.2 deletions, ring and pseudodicentric Y chromosomes. QKA of IGCs revealed cryptozoospermia in 7 out of 10 azoospermic patients (according to semen analyses data) and signs of a partial meiotic arrest of spermatogenesis at pachytene and/or at the pre-pachytene stages of prophase I of meiosis.

Conclusion. In patients with mosaicism and/or structural abnormalities of the Y chromosome, the spermatogenesis disorders vary from their absence to their severe forms. The severity of the spermatogenesis depletion depends on structural anomalies and Yq11.2(AZF) deletions, their type, and the breakpoints location, the additional pathogenic factors. Gonosomal mosaicism is an additional pathogenic factor affected fertility that can increase genetic and phenotypic changes.

Keywords: azoospermia, oligozoospermia, spermatogenesis, meiosis, AZF locus, mosaicism, microdeletions, Y chromosome, immature germ cells (IGCs), spermatozoa.



Введение

Генетические нарушения мужской фертильности являются причиной многих случаев тяжелых форм патозооспермии и первичного мужского бесплодия неясного генеза [1]. Структурные несбалансированные аномалии и патогенные микроделеции Y-хромосомы являются частой генетической причиной нарушения сперматогенеза, нарушений формирования пола (НФП) и первичного (гипергонадотропного) гипогонадизма [2, 3]. Необструктивная форма азооспермии (НОА) и олигозооспермия могут быть вызваны как структурными аномалиями/вариантами хромосом X и Y, так и мозаицизмом по половым хромосомам (гоносомам). Среди них наиболее часто обнаруживают микроделеции в эухроматиновом регионе длинного плеча Y-хромосомы. В регионе (Yq11.2) выделяют «фактор азооспермии» (AZF — Azoospermia factor), в котором 30 генов с тестис-специфической экспрессией, вовлеченных в генетическую регуляцию сперматогенеза [4, 5].

Аномалии половых хромосом (гоносом) часто связаны с мозаицизмом, наличие, тип и выраженность которого может модифицировать выраженность негативного эффекта анеусомий, структурных аномалий, вариантов числа копий (copy number variation, CNV) половых хромосом и X- и Y-сцепленных мутаций. Недостаточно изучен совместный эффект структурных вариантов Y-хромосомы и мозаицизма на сперматогенез.

У пациентов и супружеских пар могут встречаться два или несколько патогенных генетических факторов нарушений репродукции, например, хромосомные аномалии, вариации числа копий Y-хромосомы. У мозаиков по хромосоме Y часто обнаруживают несбалансированные структурные варианты (терминальные Yq делеции, кольцевые и дицентрические хромосомы Y) [6]. Вероятно, наличие у одного индивидуума нескольких таких патогенных генетических факторов может усиливать их негативное влияние. Несбалансированные структурные аномалии и протяженные цитогенетические делеции и микроделеции Y-хромосомы могут вызывать нестабильность структурно аномальной (дериватной) хромосомы, что приводит к ее анафазному отставанию и постзиготической потере в части клеток эмбриона, и как следствие — к возникновению гоносомного мозаицизма [5–7]. Мозаицизм может являться дополнительным патогенным фактором, усугубляющим проявления генетических и фенотипических изменений, степень нарушения сперматогенеза, особенно часто отмечаемого у носителей структурных aberrаций хромосомы Y (кольцевых и дицентрических хромосом, протяженных терминальных Yq11 делеций). Поэтому важ-

но оценить состояние гаметогенеза и репродуктивной функции при сочетанном влиянии различных патогенных факторов.

Целью работы являлось исследование результатов генетического и спермиологического обследования у пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы для оценки нарушений в сперматогенезе и мейозе.

Материалы и методы

Выборка сформирована из мужчин, обратившихся для медицинского обследования в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (г. Москва) в связи с бесплодием в браке или планированием беременности, или — в связи с аномалиями развития половой системы и/или задержкой полового созревания, гипогонадизмом. Данное исследование одобрено этическим комитетом при ФГБНУ «МГНЦ». Письменное добровольное информированное согласие на проведение исследования получено от всех участников исследования или их законных представителей. Отобрано для данного исследования 40 мужчин возраста 31 ± 7 (от 16 до 49) лет.

Критерием, по которому производился отбор пациентов для данного исследования, являлось обнаружение в кариотипе мозаицизма по Y-хромосоме и/или наличие в кариотипе структурных аномалий Y-хромосомы. Результаты цитогенетического исследования описаны в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека (ISCN, 2020) [8].

Кариотипирование проводилось при помощи стандартного цитогенетического исследования (СЦИ) в соответствии с ранее описанными стандартными протоколами [9, 10]: на препаратах, метафазных хромосом культивированных лимфоцитов периферической крови. Зафиксированные препараты метафазных пластинок окрашивали с помощью GTG-метода.

В некоторых случаях дополнительно выполняли флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) [11]. Необходимость ее проведения определялась уточнением типов структурных аномалий, мозаицизма, происхождения маркерных хромосом. Набор гоносом в лимфоцитах периферической крови, в клетках буккального эпителия, фибробластах кожи [12–4] оценивали ДНК-зондами, из коммерчески доступных наборов реактивов специфичными к центромерным участкам хромосом X (DXZ1) и Y (DYZ3), используя зонд к хромосоме 18 (D18Z1) в качестве внутреннего контроля гибридизации (Cytocell Aquarius, Oxford Gene Technology, Cytocell Ltd., Великобритания; Kreatech, Leica, Нидерланды).



Y-специфичные ДНК-последовательности анализировали методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (мПЦР), определяя наличие или отсутствие локусов, рекомендованных лабораторным Руководством [15] для детекции патогенных AZF делеций; методика данного исследования описана нами ранее [16].

По результатам стандартного спермиологического исследования (ССИ) [17] анализировали объем эякулята, цвет, вязкость, pH, количество сперматозоидов в 1 мл спермы, общее количество сперматозоидов у пациента, подвижность сперматозоидов. Сперматологический диагноз определяли согласно рекомендациям лабораторного Руководства ВОЗ (WHO, 2010) [17]. У 12 пациентов дополнительно выполнен количественный кариологический анализ незрелых половых клеток (ККА НПК) — цитологическое исследование половых клеток, методика которого описана нами ранее [18].

Для статистического анализа результатов спермиологического исследования и ККА НПК использовали критерий хи-квадрат и U-критерий Манна-Уитни и компьютерную программу StatSoft STATISTICA, версия 11 (StatSoft Inc., США). Статистически значимыми считали различия при значении вероятности (p) менее 0,05.

Результаты

С помощью цитогенетического и молекулярно-цитогенетического исследования структурные аномалии/варианты Y-хромосомы в кариотипе обнаружены у 32 (80%) из 40 пациентов. У 29 (72,5%) мужчин выявлен мозаицизм по хромосоме Y в лимфоцитах периферической крови, в том числе у 7 пациентов с цитогенетически нормальной и у 22 мужчин со структурно аномальной хромосомой Y. У 8 (20%) мужчин при стандартном цитогенетическом анализе обнаружены дериватные хромосомы Y — der(Y), у 8 пациентов в кариотипе выявлены маркерные (mar) — неидентифицированные хромосомы. Молекулярно-цитогенетическое (FISH) и/или молекулярно-генетическое исследование позволило установить, что все данные маркерные хромосомы являются вариантами хромосомы Y (табл. 1).

Большинство структурных аномалий Y-хромосомы в исследованной выборке являлись псевдодидцентрическими хромосомами по ее короткому плечу — psu idic(Y)(q11.2) или psu idic(Y)(q11.1). Данные структурные aberrации обнаружены у 17 (42,5%) мужчин. Патогенные делеции в локусе AZF детектированы у 25 (62,5%) пациентов, у 24 из них были обусловлены крупными несбалансированными вариантами с потерей большей части или всего длинного

плеча Y-хромосомы. У 15 (37,5%) индивидуумов микроделеции Y-хромосомы не обнаружены (табл. 1).

Наиболее частыми типами выявленных микроделеций Y-хромосомы являлись полные делеции AZFb+c (76%), которые обнаружены у 19 (47,5%) мужчин, у 17 из них по данным стандартного спермиологического исследования диагностирована азооспермия, у двух — олигозооспермия крайне тяжелой степени. Делеции, полностью удаляющие locus AZFc, выявлены у 3 (7,5%) пациентов, в том числе у двух мужчин с НОА и одного пациента с олигозооспермией. Терминальные делеции целиком захватывающие все три региона локуса AZF (делеции AZFa+b+c) детектированы у 3 (7,5%) пациентов с НОА (табл. 1).

У 6 пациентов без патологических делеций в локусе AZF обнаружен мозаицизм по цитогенетически нормальной Y (пациенты 4, 6, 7, 13, 21 и 26), у 9 — структурные аномалии Y-хромосомы: r(Y) — кольцевые (пациенты 1 и 20), psu idic(Yq) — псевдодидцентрические хромосомы Y (5, 10 и 33), терминальные делеции Yq12 (пациенты 2 и 40), мозаицизм по перидидцентрической инверсии inv(Y) (пациент 29) (табл. 1).

У 24 (96%) из 25 пациентов, у которых выявлены AZF делеции, полная или частичная потеря эухроматинового региона длинного плеча Y-хромосомы обусловлена ее несбалансированными структурными аномалиями: псевдодидцентрическими хромосомами psu idic(Yp), изохромосомами i(Yp) или терминальными Yq11.2 делециями (табл. 1). Наличие последовательности локуса SRY, по данным ПЦР-анализа, свидетельствует, что в исследованных псевдодидцентриках psu idic(Yq) и кольцевых r(Y) хромосомах точки разрыва располагались в локусе Yp11.3, в псевдоаутосомном регионе PAR1 или на его границе, а в длинном плече кольцевых r(Y) хромосом — в гетерохроматинном регионе длинного плеч (locus Yq12), т.е. дистальнее AZFc. У пациента с кариотипом 47,X,mar,+mar обнаружена делеция регионов AZFb и AZFc, при сохранении AZFa, что свидетельствует о расположении точки разрыва между регионами AZFa и AZFb, поэтому перестроенная хромосома является псевдодидцентриком по короткому плечу — psu idic(Y)(q11.2).

Частота AZF делеций у немозаиков была большей, чем у мозаиков, но статически значимо не различалась между данными группами пациентов (55,2% против 81,8%, соответственно; $\chi^2=2,416$; $p=0,121$). У пациентов-мозаиков, имеющих AZF делеции ($n=12$), количество клеток без Y-хромосомы в лимфоцитах было выше, чем у мозаиков без AZF делеций ($n=10$) ($39,38\pm 21,28\%$ (10,0-76,5%) против $32,92\pm 28,05\%$ (1,2-80,0%), соответственно), но без статистически значимого различия ($p=0,40$).

Таблица 1. Данные обследования пациентов с структурными аномалиями и/или мозаицизмом Y-хромосомы
Table 1. Examination data of patients with structural abnormalities and/or of the Y chromosome mosaicism

Код пациента	Возраст, лет	Клинический диагноз	Спермиатологический диагноз	Картиотип (по лимфоцитам периферической крови)	Картиотип по результатам FISH	Делеции в локусе AZF
1	28	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 46,X,r(Y)(77%)/45,X(23%)	mos 45,X(57%)/46,X,r(Y)(43%) – лимфоциты	Не обнаружены
2	29	Мужское бесплодие	Астенотератозооспермия – олигоастенотератозооспермия	46,X,der(Y)	mos 46,X,del(Y)(q12)(94%)/45,X(6%) – лимфоциты	Не обнаружены
3	36	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 46,X,der(Y)(76%)/45,X(24%)	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2)(83%)/45,X(17%) – лимфоциты	AZFb+c
4	49	Планирование беременности	Астенотератозооспермия	mos 46,XY(91%)/45,X(9%)	mos 46,XY(92%)/45,X(8%) – лимфоциты, mos 46,XY(89%)/45,X(11%) – буккальный эпителий	Не обнаружены
5	24	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия / Криптозооспермия	46,X,der(Y)	46,X,psu idic(Y)(p11.32)(100%) – лимфоциты	Не обнаружены
6	46	Вторичное бесплодие, мужской фактор	Астенотератозооспермия	mos 45,X(63%)/46,XY(37%)	mos 45,X(56%)/46,XY(44%) – лимфоциты, mos 45,X(22%)/46,XY(78%) – буккальный эпителий; 46,XY (100%) – фибробласты	Не обнаружены
7	16	Гоносомное НФП, первичный гипогонадизм	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени	mos 45,X/46,XY/47,XY	Не исследовали	Не обнаружены
8	30	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия / Криптозооспермия	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2)(77%)/45,X(23%)	Не исследовали	AZFc
9	29	Мужское бесплодие, первичное	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени	mos 45,X(26%)/46,X,mar(74%)	Не исследовали	AZFc
10	44	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X/46,XY	mos 45,X(56%)/46,X,psu idic(Y)(q11.2)(9%)/46,XY(35%) – лимфоциты; mos 45,X(9%)/46,X,psu idic(Y)(q11.2)(20%)/46,XY(71%) – буккальный эпителий	Не обнаружены
11	30	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 46,X,mar(90%)/45,X(10%)	mos 45,X(22%)/46,X,del(Y)(q11.2)(40%)/46,X,psu idic(Y)(q11.2)(36%)/47,X,psu idic(Y)(q11.2)+psu idic(Y)(q11.2)(2%) – лимфоциты	AZFb+c
12	33	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия / Криптозооспермия	mos 45,X/46,X,del(Y)(q11.2)	mos 45,X(60%)/46,X,del(Y)(q11.2)(40%) – лимфоциты	AZFb+c
13	29	Мужское бесплодие, первичное	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени	mos 46,XX(80%)/46,XY(20%)	Не исследовали	Не обнаружены
14	36	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X(37%)/46,X,der(Y)(63%)	mos 45,X(67%)/46,X,psu idic(Y)(q11.2)(32%)/47,X,psu idic(Y)(q11.2)+psu idic(Y)(q11.2)(1%) – лимфоциты	AZFb+c

15	27	Мужское бесплодие, первичное	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени	46,X,psu idic(Y)(q11.2)	Не исследовали	AZFb+c
16	35	Мужское бесплодие, первичное	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени	mos 45,X/46,X,mar	Не исследовали	AZFb+c
17	22	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия / Криптозооспермия	47,X,mar,+mar	mos 47,X,i(Y)(p10)(SRY 2)(49%)/47,X,mar,+mar (SRY 4)(51%) – лимфоциты	AZFb+c
18	25	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,der(Y)	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2) (82%)/45,X(18%) – лимфоциты	AZFb+c
19	31	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия / Криптозооспермия	mos 46,X,der(Y) (53%)/45,X(47%)	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2) (60%)/45,X(40%) – лимфоциты 45,X (100%) – фибробласты	AZFb+c
20	27	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 46,X,r(Y) (49%)/45,X(39%)/ 46,XY(12%)	Не исследовали	Не обнаружены
21	34	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X/46,X,Y	Не исследовали	Не обнаружены
22	26	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X(10%)/46,X,Y(90%)	Не исследовали	AZFb+c
23	23	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2) (60%)/ 45,X(40%)	Не исследовали	AZFb+c
24	28	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X/46,X,psu idic(Y) (q11.2)	Не исследовали	AZFc
25	31	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X/46,X,mar	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2) (80%)/45,X(20%) – лимфоциты	Не обнаружены
26	33	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X/46,X,Y	mos 45,X(1%)/46,X,Y(99%)	Не обнаружены
27	30	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,der(Y)	Не исследовали	AZFa+b+c
28	36	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X/46,X,i(Y) (p10)/46,X,psu idic(Y)(q11.1)	Не исследовали	AZFa+b+c
29	37	Бесплодие в браке, вторичное	Нормозооспермия	mos 46,X,inv(Y)(p11.2q11.23) (92%)/ 45,X(8%)	Не исследовали	Не обнаружены
30	35	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,mar	Не исследовали	AZFb+c
31	35	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 46,X,der(Y) (83%)/45,X(17%)	Не исследовали	AZFb+c
32	32	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,del(Y)(q11.22)	Не исследовали	AZFb+c
33	26	Мужское бесплодие, первичное	Олигоастенотератозооспермия тяжелой степени	46,X,psu idic(Y)(p11.32)	Не исследовали	Не обнаружены

34	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X(50%)/46,X,del(Y)(q11.2)(50%)	Не исследовали	AZFb+c
35	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,del(Y)(q11.2)	Не исследовали	AZFb+c
36	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,mar	Не исследовали	AZFb+c
37	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,del(Y)(q11.2)	Не исследовали	AZFb+c
38	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	46,X,del(Y)(q11.2)	Не исследовали	AZFa+b+c
39	Мужское бесплодие, первичное	Азооспермия	mos 45,X(81%)/46,X,mar(19%)	mos 46,X,psu idic(Y)(q11.2)(24%)/45,X(76%) – лимфоциты	AZFb+c
40	Мужское бесплодие, первичное	Олигоастенотератозооспермия	46,X,del(Y)(q12)	Не исследовали	Не обнаружены

Примечания: НФП – нарушение формирования пола.

Средние значения основных параметров спермограммы у обследованных мужчин: объем эякулята – $2,8 \pm 1,6$ мл (0,2–5,0 мл), значения pH эякулята – $7,6 \pm 0,3$ (7,0–8,0), концентрация сперматозоидов – $13,2 \pm 59,2$ млн/мл (0–351 млн/мл). У 30 (75%) из 40 мужчин диагностирована азооспермия, у 6 (15%) – олигозооспермия тяжелой степени, у 3 (7,5%) – астенотератозооспермия, у одного из них (пациент 3), в некоторых сперматологических исследованиях отмечали олигоастенотератозооспермию нетяжелой степени; у одного мужчины (пациент 29) выявлена нормозооспермия (табл. 1, рис. 1). Олигоспермия отмечена у 4 (10%) пациентов, объем эякулята составлял от 0,2 до 1,2 мл, при этом у трех пациентов обнаружены гоносомное нарушение формирования пола и/или первичный гипогонадизм (пациенты 7, 10, 13).

Сравнительный анализ сперматологических диагнозов у пациентов без делеций ($n = 15$), и с делециями в локусе AZF ($n = 25$) выявил существенное различие в их частоте встречаемости в данных группах (рис. 2). Так, азооспермия и олигозооспермия тяжелой степени обнаружены у 22 (88%) и 3 (12%) мужчин с микроделециями Y-хромосомы. Среди мужчин без AZF делеций данные формы патозооспермии выявлены у 7 (47%) и 3 (20%) пациентов, соответственно. Только среди мужчин, не имеющих делеций AZF, были диагностированы нетяжелые формы патозооспермии, а у одного – нормозооспермия. Таким образом по данным комплексного спермиологического исследования установлено, что у 5 (33%) из 15 пациентов без патогенных микроделеций Y-хромосомы сперматогенез был сохранен или частично сохранен.

Среди пациентов с AZF делециями по сравнению с индивидуумами без AZF делеций отмечена более высокая частота азооспер-

Сперматологические диагнозы у пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы



Рисунок 1. Сперматологические диагнозы у пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы

Figure 1. Spermatology diagnosis in the patients with the Y chromosome mosaicism and/or structural abnormalities

Структура патозооспермии в группах пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы с AZF делециями

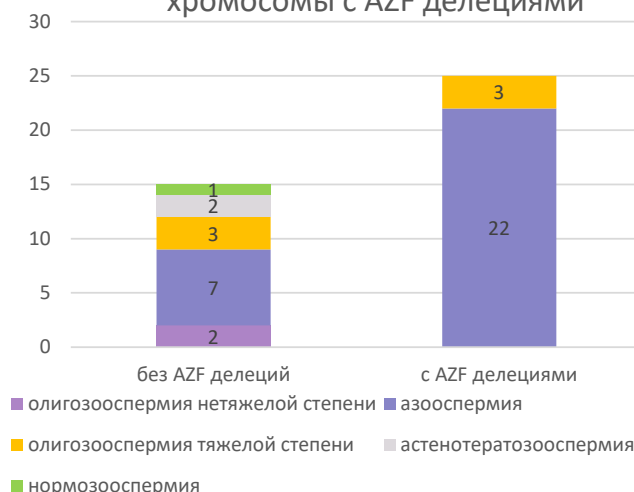


Рисунок 2. Сперматологические диагнозы у пациентов с мозаицизмом и/или структурными аномалиями Y-хромосомы с делециями и без делеций в локусе AZF

Figure 2. Spermatology diagnosis in the patients with the Y chromosome mosaicism and/or structural abnormalities of with and without AZF deletions

мии и олигозооспермии тяжелой степени вместе и только азооспермии (100,0% против 66,7%; $\chi^2=9,524$; $p = 0,003$ и 88,0% против 46,7%, $\chi^2 = 8,033$; $p = 0,005$, соответственно). Частота олигозооспермии тяжелой степени у мужчин с делециями и без делеций AZF составила 12% и 20% без статистически значимого различия по ее частоте ($\chi^2 = 0,4711$; $p = 0,493$).

Сравнение сперматологических диагнозов у пациентов с мозаицизмом по цитогенетически нормальной Y-хромосоме и пациентов с мозаицизмом по структурно аномальной Y-хромосоме выявило более высокую частоту азооспермии во второй группе – 22 из 34 (65%), по сравнению с первой – 2 из 6 (33%). Общее количество сперматозоидов в эякуляте в группе пациентов со структурными аномалиями Y-хромосомы было значительно ниже $2,1 \pm 8,1$ (0,0–35,0) млн, чем в группе пациентов с мозаицизмом по цитогенетически нормальной Y-хромосоме – $60,6 \pm 93,7$ (0,0–185,0) млн. ($U = 41,0$; $Z = 2,143$; $p = 0,032$). Количество клеток без Y-хромосомы в лимфоцитах периферической крови у пациентов ($n=16$) с тяжелым нарушением сперматогенеза было несколько выше, чем у мужчин-мозаиков ($n=6$) без тяжелых форм патозооспермии ($38,67 \pm 21,93\%$ (1,2–76,5%) против $30,50 \pm 30,93\%$ (5,0–80,0%), соответственно), но без статистически значимого различия ($p = 0,39$).

У 12 индивидуумов проведен количественный кариологический анализ (ККА) незрелых половых клеток (НПК) из осадка эякулята (10 мужчин с азооспермией и два – с олигозооспермией тяжелой степени).

У 8 мужчин в осадке эякулята выявлены как НПК, так и сперматозоиды (табл. 2). Среди четырех остальных индивидуумов с азооспермией сперматозоиды не были найдены у трех пациентов, также не были обнаружены и НПК, что свидетельствовало о тяжелом угнетении сперматогенеза. Таким образом у 7 из 10 обследованных мужчин с азооспермией (по данным ССИ) при ККА НПК выявлена криптозооспермия. Сперматозоиды, обнаруженные в осадке эякулята, являлись морфологически аномальными. Среди 7 пациентов с микроделециями Y-хромосомы сперматозоиды обнаружены в осадке эякулята у 4, в том числе у двух из 5 мужчин, имеющих делеции AZFb+c, у пациента с делецией AZFc, а также с делецией AZFa+b+c. Сперматозоиды не обнаружены у трех пациентов, имеющих делеции AZFb+c (табл. 2).

У одного мужчины с олигоастенотератозооспермией тяжелой степени (пациент 13) при ККА в осадке эякулята обнаружено более 1000 сперматозоидов, что позволило рассчитать индекс НПК, который превышал нормальное значение – 38% (референсные значения от 2 до 4%) (табл. 2). У трех мужчин (пациенты 1, 10 и 17) отмечено повышенное количество клеток на допахитенных стадиях и в пахитене профазы I мейоза, что свидетельствовало о нарушении деления сперматоцитов первого порядка и дегенерации большей их части. Большое количество НПК на данных стадиях (18% и 3,8%, соответственно) наблюдали у мужчины с кольцевой хромосомой Y (пациент 1) (табл. 2).

Таблица 2. Результаты ККА НПК у 12 пациентов мужчин с мозаицизмом по Y-хромосоме
Table 2. Results of QKA of IGCs in 12 patients with the Y chromosome mosaicism

Код пациента	Сперматологический диагноз	Половые клетки, обнаруженные в осадке эякулята		Стадии мейоза, %				Вторичные сперматоциты и сперматиды от всех обнаруженных НПК, %	Неидентифицированные половые клетки от всех обнаруженных НПК, %	Неразоздешенные ядра в ПК от общего количества обнаруженных сперматоцитов II и сперматид
		Сперматозоиды, п	НПК, п / индекс НПК	Прелетгенез зиготена	Пахитена	Диплотена	Диакinesis, МI, МII			
1	A3/K3	33	103	18,0	3,8	0,8	0,2	62,4	14,8	29,0
3	A3	0	0	-	-	-	-	-	-	-
7	OAT III	0	н.р.	0,0	0,0	0,0	0,0	82,2	17,0	27,3
8	A3/K3	18	н.р.	0,0	0,0	0,0	0,0	91,9	8,1	64,0
10	A3/K3	33	140	3,6	0,7	0,7	0,0	80,0	15,0	21,0
13	OAT III	>1000	38%	0,0	0,0	0,0	0,0	98,0	2,0	34,0
12	A3/K3	85	н.р.	0,83	0,0	0,0	0,0	95,3	3,87	31,0
14	A3	0	0	-	-	-	-	-	-	-
17	A3/K3	14	91	3,2	0,0	0,0	0,0	77,0	19,8	29,0
19	A3/K3	4	50	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	0,0	4,0
38	A3/K3	1	22	0,0	0,0	0,0	5,0	95,0	0,0	0,0
39	A3	0	0	-	-	-	-	-	-	-
Среднее значение (min-max)				2,85 ± 5,86 (0,00–18,00)	0,50 ± 1,25 (0,00–3,80)	0,17 ± 0,33 (0,00–0,80)	0,58 ± 1,66 (0,00–5,00)	86,87 ± 12,37 (62,40–100,00)	8,94 ± 7,81 (0,00–19,8)	26,59 ± 18,49 (0,00–64,00)

Н.р. – не рассчитывали.

Обсуждение

Аномалии половых хромосом характеризуются широким спектром генетических нарушений и вызываемых ими заболеваний и фенотипических проявлений, либо их отсутствием [2, 3, 5]. В обзоре Chang [19] представлены данные о 92 случаях X/XU мозаицизма, обнаруженных с помощью инвазивной пренатальной цитогенетической диагностики. При этом 95% плодов с кариотипом 45,X/46,XY имели нормально развитые по мужскому типу гениталии, при этом в 27% исследованных биоптатов гонад выявлено нарушение дифференцировки тестикулярной ткани. Частота мозаицизма по хромосоме Y оценивается в среднем 1 на 10–15 тыс. человек. В одной из наиболее крупных выборок мужчин-мозаиков по хромосоме Y мужского пола (n=49 мужчин) азооспермия диагностирована у 43% пациентов, олигозооспермии и нормозооспермии – у 49% и 8% мужчин [20]. Структура сперматологических диагнозов, выявленных в исследованной нами группе мужчин со структурными аномалиями и/или мозаицизмом Y, в целом схожа с этими данными.

Полученные нами и другими авторами результаты свидетельствуют, что структурные аномалии Y хромосомы, в частности кольцевые и дицентрические хромосомы Y, терминальные Yq делеции и крупные микроделеции в локусе AZF (AZFa+b+c, AZFb+c) часто связаны с мозаицизмом по Y-хромосоме. В проанализированной нами литературе в 9 работах [3, 19–32] у мозаиков по хромосоме Y был выполнен поиск делеций в локусе AZF. В исследовании [24] у всех мужчин, имеющих микроделеции длинного плеча Y-хромосомы, диагностирована НОА. Среди мозаиков по Y-хромосоме наиболее частыми являлись делеции AZFb+c (79%), реже



отмечены полные делеции AZFc (15%). В исследованной нами выборке также наиболее частым типом являлись делеции AZFb+c, которые составили 76% от всех обнаруженных AZF делеций. Следует отметить, что у пациентов без мозаицизма и несбалансированных аномалий Y-хромосомы в локусе Yq11.2 преобладают делеции региона AZFc, а делеции AZFb+c встречаются значительно реже и занимают второе по частоте место [2, 4–6]. Несбалансированные аномалии Y-хромосомы у пациентов с мозаицизмом по хромосоме Y обнаружены с более высокой частотой (10–30%) по сравнению с ожидаемой, если бы мозаицизм по Y-хромосоме и делеции AZF были бы не связанными мутационными изменениями [21–22]. Показано, что многие структурные аномалии Y-хромосомы предрасполагают к гоносомному мозаицизму [33, 34]. Мозаицизм по хромосоме Y может нарушать половую дифференцировку [4, 29, 34].

Тяжелые формы патозооспермии отмечены у мужчин с делециями AZF и с перестройками Y-хромосомы и у мозаиков по хромосоме Y, не имеющих их несбалансированных аномалий. Так, из 10 пациентов после диагностики азооспермии по ССИ три пациента (3, 14, 39), у которых не обнаружены сперматозоиды при ККА НПК, имели делецию AZFb+c. У четырех пациентов без азооспермии или тяжелой олигозооспермии (пациенты 2, 4, 6, 29) не найдено микроделций Y-хромосомы.

Среди пациентов с сохранным сперматогенезом не отмечены несбалансированные структурные аномалии Y-хромосомы и делеций AZF, при этом у 3 из 4 пациентов количество (%) клеток с моносомией X не превышало 11% (табл. 1). У четвертого мужчины (пациент 6) отмечено выраженное различие по гоносомному мозаицизму в различных тканях: лимфоциты – X(56%)/XY(44%), X(22%)/XY(78%) – буккальный эпителий; XY (100%) – фибробласты. Признаков дефицита маскулинизации, гипоплазии тестикул и гипогонадизма у него не обнаружено. У пациента отмечено вторичное бесплодие в браке, связанное с мужским фактором (астенозооспермия). У единственного мозаика в исследованной нами выборке, у которого установлена нормозооспермия, в кариотипе выявлен мозаицизм по структурной аномально Y-хромосоме с наличием перичентрической инверсии. Данный тип структурных хромосомных перестроек является сбалансированным вариантом, и, как показано ранее, не оказывает патогенного влияния на сперматогенез и X-Y рекомбинацию, прохождение мейотических делений сперматоцитами [2, 34]. У данного пациента отсутствовали признаки нарушения развития половой системы или гипогонадизма; в лимфоцитах отсутствие Y-хромосомы (моносомия) X обнаружено в 8% клеток.

В группе из 12 пациентов, у которых выполнен ККА НПК, сперматозоиды были обнаружены в осадке

эякулята у 3 из 4 пациентов без AZF делеций, в том числе у четырех мужчин с НОА (пациенты 1 и 10) и мужчины (пациент 13) с олигозооспермией тяжелой степени, имеющего кариотип mos 46,XX[24]/46,XY[6] (табл. 2). У одного пациента с крайне тяжелой олигозооспермией при ККА НПК в осадке не были обнаружены сперматозоиды.

В исследованной выборке пациентов не обнаружено статистически значимой зависимости тяжести патозооспермии от выраженности мозаицизма – количества (%) Y-несущих клеток. Ранее нами было показано, у мозаиков по хромосоме Y часто регистрируется выраженная межтканевая вариабельность содержания клеточных линий с разным набором половых хромосом [35].

При оценке патогенного действия структурной аномалии Y-хромосомы на мейоз и сперматогенез следует учитывать и расположение точек разрыва. У мужчин с кольцевыми или псевдодидцентрическими Y-хромосомами точки разрыва в коротком плече хромосомы Y располагаются в локусе Yp11.3, приводя к полной или частичной потере его псевдоаутосомного региона PAR1. Нарушения в мейозе у данных пациентов вызвано затруднением конъюгации между X и Y-хромосомами в процессе формирования полового бивалента в профазе I [26].

Наличие аномалий дифференцировки пола зависит от сохранности гена *SRY*, а также варианта мозаицизма и количества Y-несущих клеток в гонадах и других половых органах [27]. Поэтому пациентам с мозаицизмом по Y-хромосоме требуется комплексное андрологическое, эндокринологическое и генетическое обследование, клиническое наблюдение в динамике.

Исследования набора гоносом в различных тканях свидетельствуют о его относительно высокой частоте гоносомного мозаицизма у пациентов с несбалансированными аномалиями половых хромосом [23]. Признаки андрогенной недостаточности свидетельствуют у пациентов с цитогенетически идентифицируемыми структурными аномалиями и крупными вариациями числа копий (CNV) Y-хромосомы о возможности наличия скрытого гоносомного мозаицизма [5, 24, 27]. У пациентов с несбалансированными структурными аномалиями/вариантами Y, в частности патогенными делециями Yq11.2 и микроделциями в локусе AZF, часто выявляют явный или скрытый мозаицизм по Y-хромосоме, что обусловлено нестабильностью структурно аномальной Y-хромосомы в митозе [23]. В исследованной нами выборке по крайней мере у трех пациентов, имеющих структурные аномалии Y, с помощью молекулярно-цитогенетического исследования выявлен мозаицизм хромосоме Y, в том числе у двух пациентов с наличием клона с моносомией X,



у двух пациентов обнаружены делеции AZFb+c (табл. 1).

Низкоуровневый X/Y мозаицизм, особенно у мужчин старшего возраста, может быть следствием потери Y в части клеток (Loss of the Y chromosome — LOY) [34, 36]. Возможность присутствия небольшого количества клеток с моносомией X следует учитывать при интерпретации низкоуровневого мозаицизма в лимфоцитах периферической крови. Однако у пациентов с признаками синдрома тестикулярной дисгенезии, с недостаточностью маскулинизации, первичным гипогонадизмом следует исследовать гоносомы в двух и более тканях, и сопоставлять результаты генетического исследования с фенотипом и данными негенетического обследования.

Дополнительным фактором, влияющим на мужскую фертильность, является количество анеуплоидных половых клеток. Ранее с помощью FISH исследования половых хромосом в сперматозоидах было показано, что у пациентов с AZF делециями как мозаиков, так и немозаиков повышена частота гоносомных анеусомий в гаметах, в частности количества сперматозоидов с нуллисомией по гоносомам (не несущих X- и Y-хромосом) [25]. Оплодотворение ооцита таким сперматозоидом приводит к формированию эмбриона с моносомией X (кариотип 45,X). У некоторых мужчин со структурными аномалиями в кариотипе получить сперматозоиды из эякулята и/или биоптата яичка возможно в случае сохранного

или частично сохранного сперматогенеза, но при этом важно учитывать риск гоносомных аномалий у потомства [2, 4–6]. Эти и другие факторы важно оценивать при медико-генетическом консультировании данных пациентов, планировании и проведении преимплантационного генетического тестирования (ПГТ) и неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) и пренатальной диагностики.

Заключение

Сперматологические нарушения у мужчин с мозаицизмом и/или структурными аномалиями хромосомы Y выражено варьируют от их отсутствия (нормозооспермии) до наиболее тяжелых форм нарушения сперматогенеза (необструктивной азооспермии). Для большинства мужчин с несбалансированными структурными аномалиями и мозаицизмом Y-хромосомы характерны НОА и олигозооспермия тяжелой степени, что указывает на выраженные дефекты деления и созревания сперматогенных клеток. При этом характер и тяжесть поражения сперматогенеза зависит от варианта структурной аномалии, типа (и генного состава) CNV, локализации точек разрыва, дополнительных патогенных факторов. Очевидно, присутствие гоносомного мозаицизма является дополнительным патогенным фактором, который может утяжелять генетические и фенотипические изменения, однако необходимы комплексные исследования на более крупных выборках.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Garcia-Herrero S, Simon B, Garcia-Planells J. The Reproductive Journey in the Genomic Era: From Preconception to Childhood. *Genes* (Basel). 2020 Dec 19;11(12):1521. doi: 10.3390/genes11121521. PMID: 33352697; PMCID: PMC7767043
2. Черных В.Б. Макро- и микроструктурные перестройки Y-хромосомы. *Медицинская генетика*. 2007. — №10. — С. 45–52.
3. Hsu LY. Phenotype/karyotype correlations of Y chromosome aneuploidy with emphasis on structural aberrations in postnatally diagnosed cases. *Am J Med Genet*. 1994;53(2):108–40. doi: 10.1002/ajmg.1320530204
4. Krausz C, Casamonti E. Spermatogenic failure and the Y chromosome. *Hum. Genet*. 2017, 136, 637–655. doi: 10.1007/s00439-017-1793-8
5. Черных В.Б. Гоносомные аномалии и CNV и их диагностика. *Медицинская генетика*. 2018;17(10):8–14. <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2018.10.8-14>
6. Черных В.Б. AZF делеции — частая генетическая причина бесплодия у мужчин: современное состояние исследований. *Пробл. репрод*. 2009;15(1):10–15.
7. Patsalis PC, Skordis N, Sismani C et al. Identification of high frequency of Y chromosome deletions in patients with sex chromosome mosaicism and correlation with the clinical phenotype and Y-chromosome instability. *Am J Med Genet A*. 2005 Jun 1;135(2):145–9. doi: 10.1002/ajmg.a.30712. PMID: 15880425.
8. McGovan-Jordan J., Hastings R.J., Moore S. ISCN 2020 — An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2020) Karger, 2020: 170p.
9. Hsieh CL. Basic cytogenetic techniques: culturing, slide making, and G-banding. In *Cell Biology: A Laboratory Handbook*, (2nd edition.), 1998, Vol.3. Elsevier, Academic Press. New York.
10. Bates S.E. Classical cytogenetics: karyotyping techniques *Methods Mol. Biol.*, 767 (2011), pp. 177–190
11. Gu J, Smith JL, Dowling PK. Fluorescence In Situ Hybridization Probe Validation for Clinical Use. *Methods Mol Biol*. 2017;1541:101–118. doi: 10.1007/978-1-4939-6703-2_10. PMID: 27910018.
12. Romczak EZ, Punnett HH. An improved method for chromosome enumeration using fluorescent in situ hybridization of buccal epithelium. *J Ass Genet Tech*. 1998;24:6–7.
13. Moore LE, Titenko-Holland N, Smith MT. Use of fluorescence in situ hybridization to detect chromosome-specific changes in exfoliated human bladder and oral mucosa cells. *Environ Mol Mutagen*. 1993;22(3):130–7. doi: 10.1002/em.2850220304. PMID: 8404872.
14. Paulo Jd, Andrade JG, Santos AP et al. The use of FISH on buccal smear to investigate mosaicism with a 45,X cell line: study on healthy men and patients with disorders of sex development. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Jun;58(4):328–34. Portuguese. doi: 10.1590/0004-2730000002853. PMID: 24936726.
15. Krausz C, Navarro-Costa P, Wilke M et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal



- microdeletions: State of the art 2023. *Andrology*. 2023 Sep 6. doi: 10.1111/andr.13514.
16. Черных В.Б., Рыжкова О.П., Кузнецова И.А. и др. Делеции AZFc региона Y-хромосомы у российских фертильных мужчин. *Генетика*, 2022, Т. 58, № 7, С. 838-845.
17. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. Пер. с англ. Н.П. Макарова. Науч. ред. Л.Ф. Курило. 5-е изд. М.: Капитал Принт, 2012. 291 с. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010, 287 pp.
18. Курило Л.Ф., Дубинская В.П., Остроумова Т.В. и др. Оценка сперматогенеза по незрелым половым клеткам эякулята. *Проблемы репродукции*. 1995; 3: 33-38.
19. Chang HJ, Clark RD, Bachman H. The phenotype of 45,X/46,XY mosaicism: an analysis of 92 prenatally diagnosed cases. *Am J Hum Genet*. 1990;46(1):156-167.
20. Mohammadpour Lashkari F, Sadighi Gilani MA, Ghaheri A et al. Clinical aspects of 49 infertile males with 45,X/46,XY mosaicism karyotype: A case series // *Andrologia*. 2018; e13009. <https://doi.org/10.1111/and.13009>
21. Li L, Zhang H, Yang Y et al. High frequency of Y chromosome microdeletions in male infertility patients with 45,X/46,XY mosaicism. *Braz J Med Biol Res*. 2020 Feb 14;53(3):e8980. doi: 10.1590/1414-431X20198980. eCollection 2020.
22. Valetto A, Bertini V, Rapalini E et al. Molecular and cytogenetic characterization of a structural rearrangement of the Y chromosome in an azoospermic man. *Fertil Steril* 2004; 81: 1388-1390. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.069
23. Siffroi JP, Le Bourhis C, Krausz C et al. Sex chromosome mosaicism in males carrying Y chromosome long arm deletions. *Hum Reprod*. 2000; 15(12): 2559-2562. doi: 10.1093/humrep/15.12.2559.
24. Wu Q, Wang C, Shi H et al. The clinical manifestation and genetic evaluation in patients with 45,X/46,XY Mosaicism. *Sex Dev* 2017; 11: 64-69. DOI: 10.1159/000455260
25. Le Bourhis C, Siffroi JP, McElreavey K et al. Y chromosome microdeletions and germinal mosaicism in infertile males. *Mol Hum Reprod*. 2000;6(8):688-693. doi: 10.1093/molehr/6.8.688.
26. Hong-Ge Li, Li-Hong Fan, Bei Liu et al. The association between the two more common genetic causes of spermatogenic failure: a 7-year retrospective study. *Asian Journal of Andrology* 2020; 22, 642-648; doi: 10.4103/aja.aja_13_20
27. Wu YH, Sun KN, Bao H et al. SRY-negative 45,X/46,XY adult male with complete masculinization and infertility: A case report and review of literature. *World J Clin Cases*. 2020;8(24):6380-6388. doi: 10.12998/wjcc.v8.i24.6380.
28. Rosa RF, D'Ecclesiis WF, Dibbi RP et al. 45,X/46,XY mosaicism: report on 14 patients from a Brazilian hospital. A retrospective study. *Sao Paulo Med J*. 2014;132(6):332-338. doi: 10.1590/1516-3180-2014-1326729.
29. Ketheeswaran S, Alsbjerg B, Christensen P et al. 45,X/46,XY mosaicism and normozoospermia in a patient with male phenotype. *Case Rep Med*. 2019;2019:2529080. doi: 10.1155/2019/2529080.
30. Valetto A, Bertini V, Rapalini E et al. Molecular and cytogenetic characterization of a structural rearrangement of the Y chromosome in an azoospermic man. *Fertil Steril* 2004; 81: 1388-1390. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2003.09.069
31. Lehmann KJ, Kovac JR, Xu J et al. Isodicentric Yq mosaicism presenting as infertility and maturation arrest without altered SRY and AZF regions. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(9):939-42. doi: 10.1007/s10815-012-9822-y.
32. Lindhardt Johansen M, Hagen CP, Rajpert-De Meyts E. et al. 45,X/46,XY mosaicism: phenotypic characteristics, growth, and reproductive function — a retrospective longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(8):E1540-9. doi: 10.1210/jc.2012-1388.
33. Vogt PH, Edelmann A, Kirsch S et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*. 1996; 5(7): 933-943. doi: 10.1093/hmg/5.7.933.
34. Gardner RJ, McKinlay Amor DJ. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. Oxford University Press. *Hum Genet* 137, 971 (2018) <https://doi.org/10.1007/s00439-018-1946-4>.
35. Опарина Н.В., Райгородская Н.Ю., Латышев О.Ю. и др. Тканевой гоносомный мозаицизм у пациентов с нарушением формирования пола, связанным с аномалиями дифференцировки гонад. *Генетика*, 2021, Т. 57 (11). С. 1306-1317. doi: 10.31857/S0016675821110102
36. Guo X, Dai X, Zhou T et al. Mosaic loss of human Y chromosome: what, how and why. *Hum Genet*. 2020 Apr;139(4):421-446. doi: 10.1007/s00439-020-02114-w.

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 для ФГБНУ «МГНЦ».

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

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Вклад авторов

М.И. Штаут: получение данных для анализа (спермиологическое исследование, цитогенетическое исследование), анализ полученных данных, написание текста;

О.А. Соловова: получение данных для анализа (клиническое обследование пациентов);

Т. М. Сорокина: получение данных для анализа (клиническое обследование пациентов);

А.О. Седова: получение данных для анализа (спермиологическое исследование);

М.В. Андреева: анализ полученных данных и статистический анализ;

С.Ш. Хаят: получение данных для анализа (молекулярно-генетическое исследование);

Л.Ф. Курило: разработка методов спермиологического исследования, редактирование текста рукописи;

Н.В. Опарина: получение данных для анализа (цитогенетическое исследование);

Н.В. Шилова: получение данных для анализа (цитогенетическое исследование);



В.Ю. Табаков: получение и культивирование клеточных культур, хранение биоматериалов;
В.Б. Черных: разработка дизайна исследования, клиническое обследование пациентов, анализ полученных данных, написание и редактирование текста рукописи.

Authors' contribution

M.I. Shtaut: obtaining data for analysis (semen examination, FISH analysis); analysis of the obtained data, writing the text;
O.A. Solovova: obtaining data for analysis (clinical examination of patients);
T.M. Sorokina: obtaining data for analysis (clinical examination of patients);
A. O. Sedova: obtaining data for analysis (semen examination);
M.V. Andreeva: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data;
S.Sh. Hayat: obtaining data for analysis (DNA analysis);
L.F. Kurilo: development of semen analysis method (QKAO of IGCs), manuscript editing;
N.V. Oparina: obtaining data for analysis (cytogenetic examination);
N.V. Shilova: obtaining data for analysis (cytogenetic examination);
V.Yu. Tabakov: growing of cell cultures, storage of biomaterials;
V.B. Chernykh: developing the research design, obtaining data for analysis (clinical examination of patients), analysis of the obtained data, article writing.

ORCID авторов/ ORCID of authors

М.И. Штаут: <https://orcid.org/0000-0002-0580-5575>
О.А. Соловова: <https://orcid.org/0000-0002-1389-4731>
Т.М. Сорокина: <https://orcid.org/0000-0002-4618-2466>
А.О. Седова: <https://orcid.org/0000-0002-7032-0793>
М.В. Андреева: <https://orcid.org/0000-0002-5048-5486>
Л.Ф. Курило: <https://orcid.org/0000-0003-3603-4838>
Н.В. Опарина: <https://orcid.org/0000-0001-8662-4794>
Н.В. Шилова: <https://orcid.org/0000-0002-0641-1084>
В.Ю. Табаков: <https://orcid.org/0000-0003-0291-153X>
В.Б. Черных: <https://orcid.org/0000-0002-7615-8512>

Сведения об авторах:

Штаут Мария Имреевна — научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», staut@yandex.ru
Седова Анна Олеговна — научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», luoravetlanka@gmail.com
Соловова Ольга Александровна — научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», врач-генетик, olga_pilyaeva@list.ru
Сорокина Татьяна Михайловна — к.м.н., старший научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», reprolab@med-gen.ru
Андреева Марина Владимировна — научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», reprolab@med-gen.ru
Хаят Сабина Шаукатовна — старший научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», sabina_hayat@mail.ru
Курило Любовь Федоровна — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», kurilo@med-gen.ru
Опарина Наталья Вячеславовна — зав. лаб. цитогенетики ГБУЗ «Московский Клинический Научный Центр им. А.С. Логина» ДЗМ, врач-лабораторный генетик лаборатории медицинской генетики ФГБНУ «РНЦХ имени академика Б. В. Петровского», n.oparina@mknc.ru
Шилова Надежда Владимировна — д.м.н., зав. лаб. цитогенетики ФГБНУ «МГНЦ», nvsh05@mail.ru
Табаков Вячеслав Юрьевич — к.б.н., заведующий ЦКП (Центр коллективного пользования «Биобанк») ФГБНУ «МГНЦ», vyutab@yandex.ru
Черных Вячеслав Борисович* — д.м.н., зав. лаб. генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ», chernykh@med-gen.ru