

© И. Д. Федорова, Т. В. Кузнецова

НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта РАМН,
Санкт-Петербург

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ

■ Причиной идиопатического мужского бесплодия могут быть генетические и эпигенетические нарушения генома. Эти нарушения часто связаны со структурными и числовыми аномалиями кариотипа, микроделециями в Y-хромосоме. Мутации генов, к примеру, гена *CFTR*, участвующих в сперматогенезе или формировании мужской репродуктивной системы, также во многих случаях являются причиной нарушения мужской фертильности. Исследования последних десятилетий указывают на важность эпигенетических механизмов (метилирования ДНК по остаткам цитозина, модификации гистонов и замена их протаминами), для оплодотворения и нормального эмбрионального развития. Важным аспектом для ранних этапов эмбриогенеза является целостность ДНК-сперматозоида. Несмотря на значительные успехи репродуктивных технологий, для оценки риска передачи детям наследственной патологии необходима адекватная диагностика и дальнейшие исследования, направленные на выявление причин мужского бесплодия.

■ **Ключевые слова:** сперматогенез человека; гены; хромосомные аномалии; эпигенетические модификации

Введение

По определению Всемирной организации здравоохранения [5] бесплодным называется брак, в котором отсутствует беременность в течение 12 месяцев половой жизни без предохранения. Согласно этой классификации, бесплодием страдает около 15 % супружеских пар, при этом в 45–50 % случаев бесплодие обусловлено нарушениями сперматогенеза [13].

В последние десятилетия достигнут значительный прогресс в понимании причин мужского бесплодия и генетических механизмов сперматогенеза. Разработка новых молекулярно-цитогенетических методов анализа сперматогенеза позволяет выявить специфические особенности каждого этапа сперматогенеза и указать на процессы, характерные для всего организма или затрагивающие только генеративные ткани. Исследования последних лет указывают на повышение уровня генетических нарушений в сперматозоидах у пациентов с различными формами нарушения репродуктивной функции [7]. Современные вспомогательные репродуктивные технологии, позволяющие преодолевать бесплодие, не способны предотвратить участие генетически аномальных гамет в оплодотворении, что может привести к рождению детей с различными патологиями. Поэтому анализ генетических причин и последствий мужского бесплодия необходим для выбора тактики лечения бесплодия и имеет важное прогностическое значение.

Клиническая оценка сперматогенеза

В медицинской практике для диагностики нарушений сперматогенеза и оценки мужской фертильности используют анализ тканей яичка и эякулят. Обычно биопсия яичка применяется при азооспермии, т. е. отсутствии сперматозоидов в эякуляте. Гистологическое исследование тканей яичка дает возможность изучать половые клетки на всех стадиях сперматогенеза и определять степень патологического процесса или дегенеративных изменений, способность герминативного эпителия к регенерации, выявить стадию сперматогенеза, на которой происходит блокирование, а также судить о состоянии межучной ткани, характеризующей эндокринную деятельность яичек [6]. Однако следует учитывать, что биопсия яичка — болезненная процедура и может сопровождаться осложнениями. Полностью избежать хирургических вмешательств можно, используя для диагностики различных нарушений сперматогенеза и спермиогенеза образцы эякулята. Наиболее часто в медицинской практике суждения о нарушениях функционирования половых желез и мужской фертильности составляют на основе спермограммы, включающей макроскопические, микроскопические, биохимические и иммунологические исследования эякулята. В настоящее время в клинической практике для оценки эякулята приняты нормы ВОЗ [5]. Макроскопическое исследование включает в себя определение объема, вязкости, запаха, цвета и pH эякулята. Для современной анд-

рологии наибольшее значение имеют микроскопические исследования, дающие информацию о количестве, подвижности, морфологии спермиев, а также о наличии в эякуляте клеточных и неклеточных элементов.

Характерные признаки нормального сперматозоида: овальная головка длиной 4–6 мкм и шириной 2–4 мкм, акросома занимает 40–60 % головки, отсутствие дефектов шейки и хвоста, цитоплазматическая капля не должна превышать по размеру головку [5]. В отличие от большинства млекопитающих, у человека регистрируется наибольший процент морфологически аномальных спермиев [44]. Для нормальных сперматозоидов характерно прогрессивно-поступательное движение со спиральным вращением вокруг своей оси. Отсутствие подвижности сперматозоидов (астенозооспермия) может быть вызвано нарушениями аксонемы и микротрубочек. Существенной характеристикой является соотношение количества сперматозоидов к объему эякулята. Этот критерий зависит от плотности расположения половых клеток, а также количества клеток Сертоли и степени развития эндоплазматического ретикулума клеток Лейдига. Повышенная концентрация сперматозоидов, по-видимому, не является патологическим состоянием, так как не снижает оплодотворяющую способность спермиев [46]. Значительное снижение концентрации сперматозоидов в эякуляте (олигозооспермия) приводит к бесплодию.

Макроскопические и микроскопические характеристики эякулята у конкретного индивидуума могут варьировать. Концентрация и подвижность сперматозоидов зависят не только от периода воздержания и количества дегенерирующих клеток, но и от времени года, возраста мужчины и даже от времени суток [14]. Возможно, что эти параметры спермограммы, в отличие от доли морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте, подвержены также влиянию этногеографических факторов и образа жизни мужчины.

Следует отметить существование взаимосвязи между основными параметрами спермограммы. Так, для сперматозоидов с нормальной морфологией характерна большая подвижность, чем для сперматозоидов с нарушением морфологии. Кроме того, нарушения сперматогенеза, приводящие к изменению морфологии, подвижности и концентрации сперматозоидов в эякуляте, редко встречаются в чистом виде [6].

Несомненно, что три основных параметра спермограммы (концентрация, доля подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов) представляются важными для оценки сперматогенеза, однако их количественное выражение не является строгим диагностическим критерием бес-

плодия, и пациенты с аномальными параметрами спермограммы могут иметь детей без использования техник вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Поэтому для более детального анализа качества сперматозоидов используются так называемые функциональные тесты, оценивающие оплодотворяющую способность сперматозоидов. На первом этапе происходит взаимодействие сперматозоида с цервикальной слизью. На этом основан посткоитальный тест: определение количества и подвижности сперматозоидов в цервикальной слизи через некоторое время после полового акта. На практике для облегчения процедуры используется аналог цервикальной слизи — гиалуроновый полимер. Показано, что вероятность проникновения сперматозоида через этот полимер коррелирует со способностью к слиянию с яйцеклеткой [8]. При попадании в полость матки начинается процесс капацитации, комплекс физиологических и биохимических преобразований, одним из которых является гиперактивация — изменение характера подвижности сперматозоида, что можно регистрировать с помощью программ компьютерного анализа изображений. На следующем этапе происходит связывание сперматозоида с блестящей оболочкой ооцита и инициация акросомной реакции — слияние внешней и внутренней мембран акросомы с выделением протеолитических ферментов.

Метод гетерологичного оплодотворения ооцитов хомячка сперматозоидами человека, предложенный Е. Rudak [49], основан на способности сперматозоидов оплодотворять ооциты золотистого хомячка, лишенные блестящей оболочки, и позволяет оценить способность сперматозоида активировать ооцит и формировать мужской пронуклеус. На практике в центрах репродукции чаще используется внутрицитоплазматическая инъекция сперматозоидов в ооциты мыши, более доступные и устойчивые к механическому воздействию.

Следует отметить, что морфофункциональная оценка сперматозоидов — зрелых половых клеток, позволяет лишь косвенным образом судить о состоянии сперматогенеза. В этой связи перспективным является изучение эякулированных клеток сперматогенного ряда, находящихся на разных стадиях развития. Их доля в эякуляте составляет до 5 % у здоровых мужчин и более 40 % у пациентов с олигоспермией [54]. Хромосомный материал некоторых из них может быть объектом цитогенетического анализа [54]. Так, среди пациентов с нарушением фертильности этим методом выявляются аномалии фигур мейоза: аномальное спаривание хромосом, количество и распределение хиазм [61].

Интересен также метод количественного кариологического анализа незрелых половых клеток (**ККА НПК**), предложенный Л. Ф. Курило и соавторами [4]. Метод основан на подсчете клеток, находящихся на разных стадиях мейотического деления или дифференцировки. Показано, что количественный и качественный состав эякулированных сперматоцитов адекватно отражает общую картину процесса сперматогенеза и частота НПК в эякуляте соответствует таковым в биоптате [4]. ККА НПК при нарушении фертильности позволяет обнаружить стадию, на которой происходит блокирование сперматогенеза.

Генетический контроль сперматогенеза

По оценкам некоторых исследователей, в сперматогенез вовлечены более 2000 генов, контролирующих процессы пролиферации гонацитов и сперматогониев, мейотического деления и спермиогенеза [26].

Среди генов, специфически участвующих в сперматогенезе, выделяют несколько основных групп. К первой группе можно отнести гены, участвующие в развитии мужской репродуктивной системы и половой дифференцировке. Примером могут служить гены *SRY*, *SOX9*, *WT1* и другие, обеспечивающие дифференцировку гонады по мужскому типу. Так, клиническая картина синдрома де ля Шапелля (кариотип 46,XX при мужском фенотипе) включает изменение наружных половых органов и отсутствие сперматогенеза, большинство таких пациентов имеют в кариотипе транслоцированный фрагмент хромосомы Y, содержащий ген *SRY* [16].

Миграция первичных половых клеток, межклеточные контакты, пролиферация сперматогониев A_0 , составляющих резервный пул стволовых клеток, и, возможно, способность сперматогониев к мейотическому делению, регулируются посредством системы *c-Kit*-рецептор/лиганд *SCF* [39], участвующей также в апоптотических процессах. Следует отметить, что апоптоз играет важную роль в сперматогенезе на протяжении всех его этапов: от образования гонацитов до мейоза и спермиогенеза. Оптимальная плотность половых клеток в семенных канальцах обеспечивается избирательным апоптозом сперматогониев в месте их чрезмерного скопления [48]. Нарушение баланса работы про- и антиапоптотических генов этой группы (например, семейство генов *Bcl-2*) приводит к значительному снижению концентрации сперматозоидов в эякуляте и, как следствие, к бесплодию [30].

Около 10 % случаев мужского бесплодия вызвано обструкцией семявыносящих путей. Эту патологию, вызванную аномалиями развития Вольфова протока, чаще всего связывают с нарушени-

ем трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза (CFTR — cystic fibrosis transmembrane conductance regulator). Мутации этого гена не влияют на процессы в самом яичке, и сперматогенез у таких пациентов практически не нарушен [52].

Во вторую группу включают гены, обеспечивающие эндокринную регуляцию. Развитие и деятельность яичек находятся непосредственно под контролем центральной нервной системы, гипоталамуса и гипофиза, который осуществляется как через секрецию гормонов, так и нейрогенным путем. Причиной угнетения сперматогенеза и мужского бесплодия может быть нарушение секреции или действия гормонов.

Гипогонадотропный гипогонадизм — гетерогенное заболевание, вызванное поражением гипоталамуса, что приводит к значительному уменьшению (или отсутствию) секреции гонадотропин-рилизинг-гормона (**ГнРГ**) и сопровождается нарушением развития репродуктивной сферы. В 20 % случаев снижение уровня секреции ГнРГ вызвано синдромом Кальмана и связано с нарушением гена *KALIG-1*, локализованного в коротком плече X-хромосомы (Xp22.3) [17]. Примером нарушения активности ГнРГ может быть синдром Прадера-Вилли — болезнь геномного импринтинга, вызванная отсутствием отцовского локуса на хромосоме 15 (15q11-q13), который помимо ожирения и умственной отсталости, сопровождается аномалиями половых органов и бесплодием.

Функцию регуляции сперматогенеза осуществляют также клетки Сертоли и клетки Лейдига, имеющие рецепторы к фолликулостимулирующему (**ФСГ**) и лютеинизирующему гормону (**ЛГ**), поэтому снижение мужской фертильности также может быть связано со снижением активности или секреции ФСГ и ЛГ, или мутациями, нарушающими работу их рецепторов [30, 40]. Секретируемый клетками Лейдига основной андроген — тестостерон, последний в каскаде гормонов, регулирующих сперматогенез, обеспечивает дифференцировку сперматогониев и сперматоцитов, а также спермиогенез [6]. Последовательная трансформация холестерина в тестостерон происходит под влиянием пяти различных ферментных систем и нарушения на любом этапе приводят к андрогенной недостаточности, половой дисфункции и бесплодию [30]. Еще одной причиной мужского бесплодия может быть функциональное состояние рецептора к андрогену, ген которого содержит тринуклеотидные повторы $[CAG]_n$, кодирующие глутамин. Увеличение количества повторов более 40 приводит к снижению активности этого рецептора и является причиной спинально-бульбарной мышеч-

ной атрофии (болезнь Кеннеди), которая помимо атрофии яичек и снижения качества эякулята сопровождается мышечной слабостью и мышечными атрофиями. В то же время у пациентов с количеством повторов ≤ 40 может наблюдаться только нарушение фертильности [38].

Третью группу составляют гены, вовлеченные в процесс сперматогенеза и спермиогенеза. Здесь особого внимания заслуживают гены, локализованные в локусах *AZF* (azoospermia factor) в длинном плече Y-хромосомы (Yq). Выделяют три основных локуса: *AZF_a*, *AZF_b* и *AZF_c*, делеции в которых обнаруживаются у пациентов с нарушением фертильности, по разным оценкам, в 1–50 % [42]. Делеции в локусе *AZF_a*, как правило, приводят к полному отсутствию сперматогониев и в сперматогенной ткани присутствуют только клетки Сертоли. Большинство генов, локализованных в этом локусе (*DFFRY*, *DBY*, *UTY*, *TB4Y*), не являются специфичными для сперматогенеза и являются генами «домашнего хозяйства» [36]. В локусе *AZF_b* основная роль отводится семейству генов *RBMY*, входящему в состав мультигенного семейства, имеющего РНК-связывающий домен. Некоторые гены этого семейства являются псевдогенами и локализуются не только в Y-, но и в X-хромосоме. Однако только ген *RBMY*, локализованный в локусе *AZF_b*, экспрессирует белок, который, вероятно, является специфическим регулятором сплайсинга в сперматогенных клетках [64]. Делеции гена *RBMY* связаны с блокированием сперматогенеза на стадии мейоза [30]. У пациентов с делецией в локусе *AZF_c* наблюдается широкое варьирование клинического проявления: от олигоспермии до полного отсутствия сперматогенных клеток [35], причем у таких пациентов степень регрессии сперматогенного эпителия с возрастом увеличивается [58]. В локусе *AZF_c* локализован также ген *DAZ* (deleted in azoospermia), содержащий РНК-связывающий домен, что указывает на участие генов этого семейства в трансляции мРНК и, по-видимому, в дифференцировке сперматогенных клеток и мейотическом делении [19]. Делеция *DAZ* может приводить к блокированию сперматогенеза на стадии пахитены [34]. Установлено присутствие белков *DAZ* и в поздних сперматидеях и в хвосте сперматозоидов [18], что подтверждает участие этого белка в хранении и транспорте специфичной мРНК, трансляция которой репрессируется до образования зрелых сперматозоидов [2]. Недавно был идентифицирован локус *AZF_d*, мутации в котором также связаны с нарушением сперматогенеза и, возможно, отражаются и в изменении морфологии сперматозоида [21].

Гены, обеспечивающие мейотическое деление, необходимо выделить в отдельную группу. Мейоз обеспечивает два основных процесса: редукцию числа хромосом и рекомбинацию генетического материала. Однако механизмы, лежащие в основе выбора сперматоцита для вступления в мейоз, до сих пор остаются слабо изученными. На сегодняшний день предлагается несколько генов — кандидатов на роль основного медиатора вступления сперматоцита в мейоз, однако единого мнения пока не существует.

Точность спаривания хромосом и формирование бивалентов, образование синаптонемного комплекса, инициация рекомбинации, контроль распределения хиазм и сегрегации хромосом, а также поддержания сестринского хроматидного сцепления необходимы для обеспечения мейотического деления. Анализ генетических аномалий мейоза на молекулярном и цитогенетическом уровне включает: выявление генов, участвующих в мейотическом делении, и визуализацию особенностей фигур мейоза. Так, иммунофлуоресцентная детекция белков латерального элемента, поперечных филаментов синаптонемного комплекса и белка MLH1, маркирующего сайты мейотической рекомбинации, позволяет оценить частоту и распределение сайтов рекомбинации в норме и у пациентов с нарушением фертильности [59].

Следует отметить существование систем контроля. Первый этап мейотического контроля, связанный со спариванием хромосом и нормальным образованием бивалентов, осуществляется на стадии зиготены. Клетки со значительными дефектами спаривания у обоих полов, по-видимому, подвергаются гибели [15], снижая таким образом концентрацию сперматозоидов в эякуляте. У человека для конъюгации (спаривания) хромосом необходимы двунитевые разрывы [27]. В мониторинге и репарации этих разрывов участвует ген *ATM* (ген атаксии-телеангиэктазии), мутации которого приводят к остановке сперматогенеза на стадии пахитены при значительном фрагментировании хромосом [60].

Недостаток рекомбинации в мейозе млекопитающих будет приводить к нарушению баланса между силами веретена деления и хиазмами, ослаблению кинетохорного напряжения, что является причиной нарушения перехода метафазы к анафазе и гибели клетки. Особенно строгому контролю подвержена рекомбинация гоносом в мужском мейозе, но иногда нерекомбинантные гоносомы могут заканчивать мейоз с образованием функциональных, хотя и анеуплоидных гамет [33].

При переходе от метафазы к анафазе осуществляется контроль за прикреплением нитей веретена деления к биваленту. Этот тип контроля свойст-

вен только мужскому гаметогенезу. Почти во всех женских половых системах наблюдается отсутствие способов проверки моноориентированных хромосом [37], что может быть причиной высокой частоты числовых аномалий в ооцитах по сравнению со сперматозоидами [33].

Однако на действие контрольных механизмов сперматогенеза может накладываться ограничение существования цитоплазматических связей между сперматоцитами одной генерации. С одной стороны, эти связи могут способствовать выживанию аномального сперматоцита. С другой, распространение токсических агентов апоптотических клеток будет способствовать массовой гибели нормальных сперматоцитов, что приводит к снижению фертильности [29].

И наконец, можно выделить группу генов, обеспечивающих нормальное функционирование сперматозоидов и оплодотворение. Так, аномалии микротрубочек, денеиновых ручек и моторного аппарата ресничек приводят к патологии дыхательных путей (носа, носовых пазух, бронхов) и являются причиной синдромов Катаргера и Янга. У таких пациентов отмечается и снижение фертильности вследствие нарушения подвижности сперматозоидов (астенозооспермия) [40]. Аналогичная картина наблюдается при синдроме неподвижности ресничек [63]. Мутации гена фертилина (fertilin β) приводят к нарушениям связывания сперматозоида с вителиновой мембраной ооцита и невозможности оплодотворения [41].

В эту же группу можно отнести мутации митохондриальной ДНК (мтДНК). Мутации в любом из генов, участвующих в синтезе АТФ, могут существенно повлиять на подвижность сперматозоидов. На данный момент известно несколько мутаций и делеций мтДНК, приводящих к бесплодию у мужчин [55, 57].

Хромосомные аномалии: структурные aberrации

Отдельного рассмотрения заслуживают нарушения сперматогенеза, связанные с аномалиями кариотипа. Среди мужчин с бесплодием и нарушением сперматогенеза у 5–15 % обнаруживают хромосомные нарушения, при этом аномалии гомосом составляют 75 %, аутосом — 25 % [1].

Структурные aberrации кариотипа, не сказываясь на фенотипе пациента, вследствие ошибок мейотического деления и образования несбалансированных гамет, могут отражаться на морфофункциональных параметрах сперматозоидов и приводить к бесплодию. Могут нарушаться и функции контрольных механизмов, элиминирующих несбалансированные сперматозоиды, что, вероятно, также приводит к снижению концентрации спермато-

зоидов в эякуляте. Еще одной причиной бесплодия мужчин с хромосомными аномалиями могут быть спонтанные аборт на ранних сроках. То есть, высокая частота образования генетически несбалансированных сперматозоидов приводит к образованию эмбрионов, неспособных к имплантации или абортирующихся на очень ранних сроках.

У пациентов с реципрокными транслокациями гомологичная конъюгация происходит с образованием тетравалента. Только при чередующемся расхождении (20,0–80,5 %, [23]) хромосом образуются генетически сбалансированные продукты мейоза. Кроссинговер в интерстициальных участках изменяет это соотношение и зависит от хромосом, вовлеченных в перестройку. Доля аномальных гамет и степень нарушения сперматогенеза определяется также размером транслоцированного участка [50].

В сперматоцитах мужчин — носителей робертсоновских транслокаций наблюдается формирование тривалента, представленного aberrантной хромосомой и двумя ее гомологами. Несбалансированные продукты мейоза у таких пациентов образуются в результате соседней сегрегации [3]. При этом типе расхождения в одной из гамет присутствуют транслоцированная и одна нормальная хромосомы (дисомия по одной из вовлеченных в транслокацию хромосом), а в другой — только нормальная хромосома (нуллисомия по одной из нормальных хромосом). По оценкам различных авторов, частота образования несбалансированных сперматозоидов варьирует от 3 до 27 % [3, 50]. У гетерозигот по инверсиям при гомологичном спаривании на стадии пахитены наблюдается петлеобразная конъюгация. Если длина инвертированного участка составляет более 30 % от длины хромосомы, то кроссинговер приводит к образованию сперматозоидов, несущих небольшие делеции и дупликации. Если кроссинговер происходит внутри небольшой инверсии, то образуются значительные делеции и дупликации. Частота образования несбалансированных сперматозоидов варьирует от 0 % при небольших до 25–30 % при протяженных инверсиях [28].

Хромосомные аномалии: анеуплоидия

В случае числовых аномалий кариотипа ситуация осложняется тем, что у пациентов с синдромом Клайнфельтера (47,XXY), пациентов с кариотипом 47,XYY и их мозаичными вариантами отмечается изменение гормонального статуса организма [24]. Тем не менее, основной причиной бесплодия в этом случае считается нарушение мейоза: нарушение формирования полового пузырька (XY). Спаривание и синапсис половых хромосом в половом пузырьке приводит к инактивации X-хромосомы, основной целью которой

является предотвращение рекомбинации между половыми хромосомами [43]. Именно инактивация X-хромосомы является одним из критических моментов сперматогенеза, и ее нарушение приводит к блоку мейоза и гибели сперматоцитов [25]. Массовая гибель мейоцитов с аномально сформированным половым пузырьком сопровождается снижением концентрации сперматозоидов в эякуляте (азоо- и олигозооспермия) у мужчин с аномалиями половых хромосом [12].

Для пациентов с синдромом Клайнфельтера с классическим 47,XXY или мозаичным 46,XY/47,XXY кариотипом характерно снижение репродуктивной функции вплоть до полного отсутствия сперматозоидов. Однако некоторые данные цитологического анализа указывают на возможность вступления сперматогониев 47,XXY в мейоз [10], что предполагает различные варианты синапсиса половых хромосом: тривалент XXY, бивалент XX+унивалент Y, бивалент XY+унивалент X, унивалент X+X+Y [12]. В любой из этих ситуаций невозможность формирования полового пузырька и инактивации X-хромосомы приводит к остановке мейоза [28]. Только незначительная часть сперматоцитов способна завершить мейоз с образованием сперматозоидов. В случае мозаичного кариотипа массовая гибель сперматоцитов 47,XXY дезорганизует нормальное течение мейоза и, возможно, вызывает апоптоз части сперматоцитов 46,XY [45].

При кариотипе 47,XYY наблюдается иная ситуация. Такие мужчины обычно не страдают бесплодием, что, возможно, связано с потерей дополнительной Y-хромосомы до вступления в мейоз или во время мейоза [28]. В случае спаривания XY и образования Y-унивалента происходит нормальное формирование полового пузырька и инактивация X-хромосомы [28]. Наряду с этим у пациентов с кариотипом 47,XYY сперматоциты могут вступать в мейоз с образованием YY-бивалента и X-унивалента [53], присутствие которых будет предопределять гибель сперматоцита [53], приводя к снижению фертильности, наблюдающейся у некоторых пациентов 47,XYY.

Организация генома сперматогенных клеток

Для сперматозоидов характерна высокоспециализированная структурно-функциональная организация хроматина. Исследования последних лет позволяют говорить о том, что нарушения в организации геномного материала в сперматозоидах негативно сказываются на их способности к оплодотворению и нормальному эмбриональному развитию [31].

Эпигенетическое репрограммирование генома, связанное с метилированием ДНК по остаткам цитозина, начинается на ранних стадиях спермато-

генеза, однако полное завершение этого процесса происходит только к стадии сперматид [20], а характер метилирования генов, участвующих в процессе сперматогенеза, устанавливается только в незрелых сперматозоидах, находящихся в эпидидимисе [11]. Снижение общего уровня или изменение специфичности метилирования ДНК не влияет на способность сперматозоида к оплодотворению, но нарушает эмбриональное развитие [31]. К тому же, по данным центров вспомогательных репродуктивных технологий, в парах с мужским фактором бесплодия при использовании для экстракорпорального оплодотворения незрелых сперматозоидов или сперматид отмечается повышение частоты рождения детей с «болезнями импринтинга» (синдром Ангельмана и синдром Видемана-Беквита) [51].

В сперматогенезе проходит несколько этапов ремоделирования хроматина, обусловленных заменой белков, связанных с хроматином и/или их модификацией. Деацетилирование и метилирование гистонов, характерное для инактивированного состояния хроматина, наблюдается в половых хромосомах на стадии пахитены [32], обеспечивая гетерохроматинизацию, необходимую для нормального протекания мужского гаметогенеза. Следовательно, наряду с конъюгацией хромосом, рекомбинацией и другими процессами в мейозе, гистоновые белки осуществляют модификацию хроматина, участвуют в функционировании контрольных точек сперматогенеза. Последовательная замена гистоновых белков аргинин-богатыми протаминами обеспечивает высокую степень компактизации хроматина в сперматозоидах и необходима для минимизации объема головки сперматозоида, защиты целостности генетического материала, а также контроля сперматогенеза. Следует отметить, что замещению не подвергаются до 15 % гистоновых белков, что определяется генами, локализованными в этих районах хромосом, и особым статусом хроматина [22], что, возможно, является существенным фактом для процесса сперматогенеза, начальных этапов оплодотворения и раннего эмбрионального развития. Так, у пациентов с нарушением фертильности отмечается изменение соотношения протаминов обоих типов и гистонов в головке сперматозоидов [47].

Протаминирование хроматина напрямую связано с поддержанием целостности, обеспечением функциональной полноценности генома сперматозоида. Однако для нормального гаметогенеза в некоторых случаях необходимо формирование разрывов в ДНК, к примеру, двунитевые разрывы необходимы для спаривания хромосом в мейозе [27]. С другой стороны, фрагментация хроматина может происходить вследствие аномалий процесса

компактизации (нарушение работы топоизомеразы II, необходимой для протаминирования хроматина), апоптотических процессов сперматогенеза, действия эндонуклеаз, окислительного стресса или воздействия внешних факторов [9]. Полагают, что фрагментация хроматина не снижает оплодотворяющей способности сперматозоида, а имеет более отдаленные последствия, снижая способность эмбриона к имплантации [62], что также можно отнести к мужскому фактору бесплодия.

Таким образом, проблема мужского бесплодия напрямую связана с общебиологической проблемой механизмов, контролирующей точность и надежность передачи генетической информации в поколениях, обеспечивая наследственность и изменчивость. Эта задача тем более актуальна, т. к. в последние десятилетия отмечается снижение качества эякулята у здоровых мужчин [56]. Бурное развитие экспериментальной эмбриологии и генетики позволяет преодолевать многие причины мужского и женского бесплодия с использованием методов вспомогательной репродуктивной технологии. Однако это требует тщательного изучения ближайших и отдаленных последствий искусственного вмешательства в репродуктивную сферу и разработки путей минимизации нежелательных последствий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 05-04-49175а) и фонда U. S. Civilian Research Development foundation for the Independent States of the Former Soviet Union (Y4-B-12-01).

Литература

1. Ворсанова С. Г. Аномалии половых хромосом при нарушении репродуктивной функции у мужчин / Ворсанова С. Г., Шаронин В. О., Курило Л. Ф. // Проблемы репродукции. — 1998. — Т. 4, № 2. — С. 12–21.
2. Гоголевская И. К. Y-хромосома и мужское бесплодие / Гоголевская И. К., Гоголевский П. А. // Проблемы репродукции. — 1999. — № 5. — С. 15–20.
3. Дыбан А. П. Цитогенетика развития млекопитающих / Дыбан А. П., Баранов В. С. — М.: Наука, 1978. — 215 с.
4. Курило Л. Ф. Кариологический анализ состава незрелых половых клеток эякулята / Курило Л. Ф., Любашевская И. А., Дубинская В. П., Гаева Т. Н. // Урол. и нефрол. — 1993. — № 2. — С. 45–47.
5. Руководство ВОЗ по стандартному обследованию и диагностике супружеских пар. — М.: МедПресс, 1997. — 91 с.
6. Тиктинский О. Л. Андрология / Тиктинский О. Л., Михайличенко В. В. — СПб.: Медиа Пресс, 1999. — 464 с.
7. A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate and severe oligospermia / Martin R. H., Rademaker A. W., Greene C. [et al.] // Biol. Reprod. — 2003. — Vol. 69. — P. 535–539.
8. Aitken R. J. Sperm penetration into a hyaluronic acid polymer as a means of monitoring functional competence / Aitken R. J., Bowie H., Buckingham D. [et al.] // J. Androl. — 1992. — Vol. 13, N 1. — P. 44–54.
9. Alvarez J. G. The predictive value of sperm chromatin structure assay / Alvarez J. G. // Hum. Reprod. — 2005. — Vol. 20, № 8. — P. 2365–2367.
10. Analysis of meiosis in intratesticular germ cells from subject affected by classic Klinefelter's syndrome / Foresta C., Galeazzi C., Bettella A. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1999. — Vol. 84. — P. 3807–3810.
11. Ariel M. Developmental changes in methylation of spermatogenesis-specific genes include reprogramming in the epididymis / Ariel M., Cedar H., McCarrey J. // Nat. Genet. — 1994. — Vol. 7, N 1. — P. 59–63.
12. Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype / Rives N., Joly G., Machy A. [et al.] // Molecular human reproduction. — 2000. — Vol. 2. — P. 107–112.
13. Bhasin S. Clinical review 64: Pathophysiology and natural history of male infertility / Bhasin S., De Kretser D. M., Baker H. W. G. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1994. — Vol. 79. — P. 1525–1529.
14. Cagnacci A. Diurnal variation of semen quality in human males / Cagnacci A., Maxia N., Volpe A. // Hum. Reprod. — 1999. — Vol. 14, N 1. — P. 106–109.
15. Cheng E. Y. An analysis of meiotic pairing in trisomy 21 oocytes using fluorescent in situ hybridization / Cheng E. Y., Chen Y.-J., Bonnet G., Gartler S. M. // Cytogenet. Cell Genet. — 1998. — Vol. 80. — P. 48–53.
16. Clinical, endocrinological, and cytological characterization of two 46, XX males / Schweikert H. U., Weissbach L., Leyendecker G. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1982. — Vol. 54. — P. 745–752.
17. Contiguous gene syndromes due to deletions in the distal short arm of the human X-chromosome / Ballabio A., Bardoni B., Carrozzo R. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1989. — Vol. 86, N 24. — P. 10001–10005.
18. DAZ (Deleted in Azoospermia) genes encode proteins located in human late spermatids and in sperm tails / Habermann B., Mi H. F., Edelman A. [et al.] // Hum. Reprod. — 1998. — Vol. 13, N 2. — P. 363–369.
19. DAZ family proteins exist through male germ cell development and transit from nucleus to cytoplasm at meiosis in human and mice / Reijo R. A., Dorfman D. M., Slee R. [et al.] // Biol. Reprod. — 2000. — Vol. 63. — P. 1490–1496.
20. De Rycke M. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: risk analysis and epigenetic inheritance / De Rycke M., Liebaers I., Van Steirteghem A. // Hum. Reprod. — 2002. — Vol. 17, N 10. — P. 2487–2494.
21. Defining region of the Y-chromosome responsible for male infertility and identification of the AZF region (AZFd) by Y-chromosome microdeletion detection / Kent-First M., Mullen A., Schultz J. [et al.] // Mol. Reprod. Dev. — 1999. — Vol. 53. — P. 27–41.

22. Establishment of male-specific epigenetic information / Rousseaux S., Caron C., Govin J. [et al.] // *Gene*. — 2005. — Vol. 345, N 2. — P. 139–153.
23. FISH on sperm heads allows the analysis of chromosome segregation and interchromosomal effects in carrier of structural rearrangement: result in a translocation carrier, t(5;8)(q33;q13) / Blanco J., Egozcue J., Clusellas N. [et al.] // *Cytogenet. Cell Genet.* — 1998. — Vol. 83. — P. 275–280.
24. *Gelisio P.* XYY-syndrome. Report of a case / Gelisio P., Frigato F., Magnanini P. [et al.] // *Minerva Endocrinol.* — 1991. — Vol. 16, N 4. — P. 199–201.
25. *Hale D. W.* Is X-Y recombination necessary for spermatocyte survival during mammalian spermatogenesis? / Hale D. W. // *Cytogenet. Cell Genet.* — 1994. — Vol. 65. — P. 278–282.
26. *Hargreave T. B.* Genetic basis of male fertility / Hargreave T. B. // *Br. Med. Bull.* — 2000. — Vol. 56, N 3. — P. 650–671.
27. *Hassold T.* Counting cross-overs: characterizing meiotic recombination in mammals / Hassold T., Sherman S., Hunt P. // *Hum. Mol. Genet.* — 2000. — Vol. 9, N 16. — P. 2409–2419.
28. Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion / Egozcue S., Blanco J., Vendrell J. M. [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. — 2000. — Vol. 6, N 1. — P. 93–105.
29. *Hunt P. A.* Sex Matters in Meiosis / Hunt P. A., Hassold T. J. // *Science*. — 2002. — Vol. 296. — P. 2181–2183.
30. *Huynh T.* Selected genetic factors associated with male infertility / Huynh T., Mollard R., Trounson A. // *Hum. Reprod. Update*. — 2002. — Vol. 8, N 2. — P. 183–198.
31. Influence of global sperm DNA methylation on IVF results / Benchaib M., Braun V., Ressenkoff D. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 2005. — Vol. 20, N 3. — P. 768–773.
32. *Khalil A. M.* Dynamic histone modifications mark sex chromosome inactivation and reactivation during mammalian spermatogenesis / Khalil A. M., Boyar F. Z., Driscoll D. J. // *PNAS*. — 2004. — Vol. 101, N 47. — P. 16583–16587.
33. *Koehler K. E.* Recombination and nondisjunction in humans and flies / Koehler K. E., Hawley R. S., Sherman S., Hassold T. J. // *Hum. Mol. Genet.* — 1996. — Vol. 5. — P. 1495–1504.
34. *Kostiner D. R.* Male infertility: analysis of the markers and genes on the human Y-chromosome / Kostiner D. R., Turek P. J., Reijo R. A. // *Hum. Reprod.* — 1998. — Vol. 13, N 11. — P. 3032–3038.
35. *Krausz C.* The Y-chromosome and male fertility and infertility / Krausz C., Forti G., McElreavey K. // *International Journal of Andrology*. — 2003. — Vol. 26. — P. 70–75.
36. *Lahn B. T.* Functional coherence of the human Y-chromosome / Lahn B. T., Page D. C. // *Science*. — 1997. — Vol. 278. — P. 675–680.
37. *LeMaire-Adkins R.* Lack of Checkpoint Control at the Metaphase/Anaphase Transition: A Mechanism of Meiotic Nondisjunction in Mammalian Females / Le Maire-Adkins R., Radke K., Hunt P. A. // *J. Cell Biol.* — 1997. — Vol. 139. — P. 1611–1619.
38. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility / Tut T. G., Ghadessy F. J., Trifiro M. A. [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1997. — Vol. 82, N 11. — P. 3777–3782.
39. *Lovenand K. L.* Stem cell factor and c-kit in the mammalian testis: lesson originating from Mother Nature's gene knockout / Lovenand K. L., Schlatt S. // *Journal of Endocrinology*. — 1997. — Vol. 153. — P. 337–344.
40. *Maduro M. R.* Genes and male infertility: what can go wrong? / Maduro M. R., Lo K. C., Chuang W. W., Lamb D. J. // *J. Androl.* — 2003. — Vol. 24, N 4. — P. 485–493.
41. Mapping, sequence, and expression analysis of the human fertilin beta gene (FTNB) / Burkin H. R., Burkin D. J., Davey P. M. [et al.] // *Genomics*. — 1997. — Vol. 40, N 1. — P. 190–192.
42. *McElreavey K.* Sex chromosome genetics'99 Male infertility and the Y-chromosome / McElreavey K., Krausz C. // *Am. J. Hum. Genet.* — 1999. — Vol. 64. — P. 928–933.
43. *McKee B. D.* Sex chromosomes, recombination, and chromatin conformation / McKee B. D., Handel M. A. // *Chromosoma*. — 1993. — Vol. 102, N 2. — P. 71–80.
44. Morphological abnormalities in spermatozoa from man and great apes / Seuaner H. N., Carothers A. D., Martin D. E. [et al.] // *Nature*. — 1977. — Vol. 270. — P. 345–347.
45. *Mroz K.* Meiotic aneuploidy in the XXY mouse: evidence that a compromised testicular environment increases the incidence of meiotic errors / Mroz K., Hassold T. J., Hunt P. // *Hum. Reprod.* — 1999. — Vol. 14, N 5. — P. 1151–1156.
46. No evidence for a decrease fertilizing potential after *in vitro* fertilization using spermatozoa from polyzoospermic men / Tounaye H., Staessen C., Camus M. [et al.] // *Hum. Reprod.* — 1997. — Vol. 12, N 10. — P. 2183–2185.
47. *Oliva R.* Protamines and male infertility / Oliva R. // *Hum. Reprod. Update*. — 2006. — Vol. 12, N 4. — P. 417–435.
48. *Rooij D. G.* Spermatogonial stem cells / Rooij D. G., Grooten J. A. // *Current opinion in cell biology*. — 1998. — Vol. 10. — P. 694–701.
49. *Rudak E.* Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa / Rudak E., Jacobs P. A., Yanagimachi R. // *Nature*. — 1978. — Vol. 274. — P. 911–913.
50. *Shi Q.* Multicolor fluorescence in situ hybridization analysis of meiotic chromosome segregation in a 47,XXY male and a review of the literature / Shi Q., Martin R. H. // *Am. J. Med. Genet.* — 2000. — Vol. 93. — P. 40–46.
51. *Shiota K.* Assisted reproductive technologies and birth defects / Shiota K., Yamad S. // *Congenital Anomalies*. — 2005. — Vol. 45, N 2. — P. 39–43.
52. *Silber S. J.* Quantitative evaluation of spermatogenesis by testicular histology in man with congenital absence of the vas deferens undergoing epididymal sperm aspiration / Silber S. J., Partizio P., Asch R. H. // *Hum. Reprod.* — 1990. — Vol. 5. — P. 89–93.
53. *Solari A. J.* The prevalence of a YY synaptonemal complex over XY synapsis in an XYY man with exclusive XYY spermatocytes / Solari A. J., Valzacchi G. // *Chromosome Res.* — 1997. — Vol. 5. — P. 467–474.
54. *Sperling K.* Meiotic studies of the ejaculated seminal fluid of humans with normal semen count and oligospermia / Sperling K., Kaden R. // *Nature*. — 1971. — Vol. 232. — P. 481.

55. Sperm mitochondrial mutations as a cause of low sperm motility / Thangaraj K., Joshi M. B., Reddy A. G. [et al.] // J. Androl. — 2003. — Vol. 24, N 3. — P. 388–392.
56. Spermatogenesis / De Kretser D. M., Loveland K. L., Meinhardt A. [et al.] // Human Reprod. — 1998. — Vol. 5. — P. 1–8.
57. Spiropoulos J. Can mitochondrial DNA mutations cause sperm dysfunction? / Spiropoulos J., Turnbull D. M., Chinnery P. F. // Mol. Hum. Reprod. — 2002. — Vol. 8, N 8. — P. 719–721.
58. Spontaneous regression over time of the germinal epithelium in a Y-chromosome-microdeleted patient / Calogero A. E., Garofalo M., Barone N. [et al.] // Hum. Reprod. — 2001. — Vol. 16, N 9. — P. 1845–1848.
59. Synapsis and meiotic recombination analyses: MLH1 focus in the XY pair as an indicator / Codina-Pascual M., Oliver-Bonet M., Navarro J. [et al.] // Hum. Reprod. — 2005. — Vol. 20, N 8. — P. 2133–2139.
60. Targeted disruption of ATM leads to growth retardation, chromosomal fragmentation during meiosis, immune defects, and thymic lymphoma / Xu Y., Ashley T., Brainerd E. E. [et al.] // Genes Dev. — 1996. — Vol. 10, N 19. — P. 2411–2422.
61. *Templado C.* Meiotic studies in human semen. Report of 180 cases / Templado C., Marina S., Coli M. D., Egozcue J. // Hum. Genet. — 1980. — Vol. 53. — P. 315–319.
62. *Tesarik J.* Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation / Tesarik J., Greco E., Mendoza C. // Hum. Reprod. — 2004. — Vol. 19, N 3. — P. 611–615.
63. The genetic basis of infertility / Shah K., Sivapalan G., Gibbons N. [et al.] // Reproduction. — 2003. — Vol. 126, N 1. — P. 13–25.
64. *Venables J. P.* The roles of RNA-binding proteins in spermatogenesis and male infertility // Venables J. P., Eperon I. // Curr. Opin. Genet. Dev. — 1999. — Vol. 9, N 3. — P. 346–354.

GENETIC FACTORS ASSOCIATED WITH MALE INFERTILITY

Fedorova I. D., Kuznetzova T. V.

■ **Summary:** Idiopathic male infertility can be caused by genetic and epigenetic abnormalities. Such abnormalities are often associated with structural and numerical chromosome disorders, Y-chromosome microdeletions. In many cases mutation of genes taking part in spermatogenesis or development of male reproduction system, like CFTR, is related to male infertility. Studies of last decades are highlighting the important role of epigenetic mechanisms (DNA methylation, covalent histone modifications and its replacement by protamines) for fertilization and early embryogenesis. DNA integrity is also significant for early embryogenesis. In spite of success of artificial reproductive technologies for estimation of risk of inherited disorders, efficient diagnosis and further investigations in the area of male infertility are needed.

■ **Key words:** human spermatogenesis; genes; chromosome abnormalities; epigenetic modifications