

Комплексное генетическое обследование мужчин: программы ИКСИ

Ж.И.Глинкина

*ГУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН (дир. -
акад. РАМН В.И.Кулаков), Москва*

Введение

В последние годы лечение мужского бесплодия характеризуется значительным прогрессом, связанным главным образом с внедрением в широкую медицинскую практику метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Этот передовой подход позволяет иметь потомство мужчинам с тяжелыми формами олиго-, астено-, терато- и даже азооспермии, ранее обреченных на абсолютное бесплодие.

При включении пациентов в программы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) не стоит забывать, что возникновение патологических состояний репродуктивной системы часто обусловлено хромосомными, генными мутациями и наличием наследственной предрасположенности к заболеванию. Генетические мутации родителей, приводящие к нарушению репродукции и невозможности зачатия ребенка естественным путем, при применении программ ВРТ могут передаваться будущему потомству. До сих пор в литературе имеются противоречивые данные о генетических нарушениях у детей, рожденных в программах ВРТ. Многие авторы утверждают, что частота пороков развития у детей, рожденных после этих программ, достоверно не отличается от общепопуляционной. В то же время другие авторы отмечают повышение уровня пороков развития в среднем в 2,5 раза у мальчиков, рожденных в программе ИКСИ, по сравнению с девочками [1, 2]. Некоторые исследователи считают, что в программе ИКСИ возникают хромосомные мутации *de novo* и встречаются значительно чаще, чем в популяции [1]. Таким образом, пациенты с тяжелыми формами бесплодия, нуждающиеся в лечении методами ВРТ, требуют к себе повышенной генетической настороженности, так как главная задача ВРТ - *получение здорового потомства*.

Материал и методы

В отделении вспомогательных технологий в лечении бесплодия ГУ НЦ АГ и П РАМН были обследованы 274 мужчины, которые имели отклонения в показателях спермограммы и нуждались в проведении процедуры ИКСИ. Первичное бесплодие среди пациентов отмечено в 48% случаев.

Средний возраст мужчин составлял 38,5 года (от 24 до 63 лет).

Медико-генетическое консультирование включало: клинико- генеалогический метод; цитогенетический (кариотипирование лимфоцитов периферической крови); молекулярно-цитогенетический (FISH-метод); молекулярно-генетический метод (полимеразная цепная реакция - ПЦР); серологический метод исследования антигенов системы HLA I класса.

Исследование эякулята проводили всем пациентам не реже 2 раз с интервалом в 2 нед по стандартной методике, рекомендованной ВОЗ (WHO, 1999).

Исследование ДНК крови на наличие микроделений AZF локусов хромосомы Y проведено ПЦР-методом 59 мужчинам с необструктивной азооспермией (17 человек) и олигозооспермией (42 человека) с концентрацией сперматозоидов в 1 мл менее 5 млн. Возраст пациентов был от 25 до 45 лет.

В работе использовали мультиплексную амплификацию с набором из 12 праймеров, позволяющих исследовать следующие Y-специфические маркеры: SRY, ZFY, sY84, sY86, sY615, sY127, sY134, sY254, sY255, sY242, sY157, sY1192.

Исследования антигенов системы HLA I класса проведены у мужчин русской популяции: 211 пациентов с отклонениями показателей в спермограмме; 106 с нормозооспермией (группа контроля).

Для молекулярно-цитогенетических исследований препараты клеток эякулята готовили по методу Guttenbach (1997 г.). Для флюоресцентной гибридизации *in situ* использовали зонды фирмы "Vysis". ДНК-пробы предназначены для идентификации α -сателлитной последовательности центромерного региона X хромосомы (Xp11.1-q11.1) и сателлита III Y хромосомы (Yq12). Гибридизацию *in situ* проводили в соответствии с протоколом, рекомендуемым фирмой-производителем.

Количество проанализированных ядер сперматозоидов зависело от количества сперматозоидов в эякуляте. У пациентов с выраженной олигозооспермией были проанализированы все доступные для анализа сперматозоиды, у мужчин с нормозооспермией - не меньше 1000 сперматозоидов.

Таблица 1. Врожденные пороки развития, моногенные заболевания и гетерозиготное носительство мутантных генов, выявленные у мужчин программы ИКСИ

Наименование врожденных пороков развития и генетических нарушений	Число наблюдений
Врожденная дисфункция коры надпочечников, обусловленная недостаточностью 21-гидроксилазы (мягкая форма)	3
Гетерозиготное носительство мутации гена CYP21B	3
Носительство доминантного мутантного гена, приводящего к врожденным порокам развития почек у детей	1
Синдром Дэль-Кастильо	1
Спинно-бульбарная амиотрофия Кеннеди	1
Синдром Поланда	1
Гипохондроплазия	1
Брахидактилия	1
Различные врожденные пороки почек	5
Синдактилия	1

Врожденный порок сердца	1
-------------------------	---

Цели генетического обследования пациентов

- постановка диагноза;
- выявление возможной генетической причины заболевания;
- определение типа наследования заболевания;
- получение информации относительно течения, вариабельности и экспрессивности заболевания.

Таблица 2. Результаты цитогенетического исследования мужчин программы ИКСИ

Кариотип	Число наблюдений (n=274)
46,XY	251
47,XYX	1
47,XXY	4
47,XXY/46,XY	1
47,XYX/46,XY	1
46,XX	1
46,X,del(Y)(q11q23)	1
46,XY, inv (7)(p11q11)	2
46,XY, inv (3)(p21q12)	1
46,XY,der(13/14)(q10q10)	5
46,XY,t(7/16)(q21q22)	1
46,XY,t(8/15)(q13qter)	1
46,XY,t(15/18)(qterq11)	1
46,XY,t(8/20)(qterq11)	1
46,XY,t(12/22)(q22qter)	1
46,XY/46,XYdel 16(q12.1qter)	1

Таблица 3. Молекулярно-цитогенетическое исследование сперматозоидов мужчин из супружеских пар, включенных в программы ЭКО и ПЭ, ИКСИ

Группа	Кариотип	Уровень анеуплоидии гоносом в сперматозоидах, %
1 (35 мужчин с нормозооспермией)	46, XY (группа сравнения) (33 наблюдения)	0,22
	47,XYX (1 наблюдение)	2,6
	46, XY, inv (2)(p12q14) (1 наблюдение)	0,7
2 (20 мужчин с показателями спермограммы на границе нормы)	46, XY (19 наблюдений)	0,5
	46,XY.ishXp11.1-q11.1(DXZ1x1), ish.Yq12(DYZ1x1)[470]/	
	46,XX.ishXp11.1-q11.1(DXZ1x2)[30]	

	(1 наблюдение)	3,7
3 (32 мужчины с олиго-, астенozoоспермией)	46, XY (31 наблюдение)	0,48
	47, XYY. ishXp11.1-q11.1(DXZ1x1),	
	ish. Yq12(DYZ1x2)[400]/ 46, XY. ishXp11.1-q11.1(DXZ1x1),	
	ish. Yq12(DYZ1x1) [100] (1 наблюдение)	0,8
4 (26 мужчин с тератозооспермией)	46, XY (25 наблюдений)	0,62
	46, XY, inv (7) (p11q11) (1 наблюдение)	1,2
5 (44 мужчины с ОАТ)	46, XY (40 наблюдений)	0,85
	46, XY, inv (3)(p21q12) (1 наблюдение)	1,4
	46, XY, inv(7)(p11q11) (1 наблюдение)	1,0
	46, XY, t(13/14)(q10q10) (3 наблюдения)	1,7
	46, XY, t(8/15)(q13qter) (1 наблюдение)	1,4

Результаты

При медико-генетическом консультировании у 19 (7%) из 274 мужчин выявлены врожденные пороки развития, моногенные заболевания и гетерозиготное носительство мутантных генов (табл. 1).

У 6 из 19 пациентов была выявлена врожденная дисфункция коры надпочечников, обусловленная недостаточностью 21- гидроксилазы (мягкая форма), и гетерозиготное носительство мутации гена CYP21B. В тех случаях, когда у одного из супругов была выявлена мутация данного гена, второму супругу проводилось аналогичное исследование для исключения носительства по исследуемому гену (учитывая высокую частоту данной мутации гена в популяции 1:30). Только в одном случае оба супруга являлись гетерозиготными носителями мутации гена CYP21B.

Исследование кариотипа в культивированных лимфоцитах крови 274 мужчин обнаружило у 23 (8%) мужчин изменения хромосомного набора (табл. 2).

В 14 из 23 наблюдений были обнаружены перестройки аутосом, которые в основном были представлены транслокациями и перичентрическими инверсиями. В половине наблюдений транслокации аутосом были представлены робертсоновскими транслокациями хромосом 13 и 14. Из 3 выявленных перичентрических инверсий 2 были представлены инверсиями хромосомы 7. Исследование кариотипа 2 мужчин показало у них делеции хромосомы Y и хромосомы 16 (мозаичная форма). Кроме того, были выявлены кариотипы, соответствующие синдрому Клайнфельтера (полная и мозаичная форма), синдрому полисомии хромосомы Y (полная и мозаичная форма), а у 1 мужчины кариотип был представлен - 46, XX.

Для уточнения кариотипа с целью определения доли аномального клона

клеток при подозрении на мозаицизм половых хромосом у пациентов дополнительно проведено молекулярно-цитогенетическое исследование лимфоцитов. Выявление уровня соотношения клонов с нормальным и измененным кариотипом имеет принципиальное значение при выборе метода лечения пациентов с бесплодием и прогнозе здоровья потомства.

Исследование крови на наличие микроделений локусов хромосомы Y: SR_Y, ZFY, sY84, sY86, sY615, sY127, sY134, sY254, sY255, sY242, sY157, sY 1192, проведено у 59 мужчин с азооспермией и олигозооспермией (концентрацией сперматозоидов в 1 мл эякулята менее 5 млн). Наличие микроделений хромосомы Y выявлено у 5 (8,4%) пациентов.

Все микроделеции были выявлены у мужчин с олигозооспермией тяжелой степени. Ни у одного из мужчин с азооспермией не наблюдались мутации генов AZF локусов хромосомы Y.

Исследование частоты нерасхождения хромосом X и Y в сперматозоидах с помощью FISH-метода проведено 157 пациентам (55 мужчин - программа ЭКО и 102 мужчины - программа ИКСИ). Возраст пациентов был от 24 до 63 лет. У 11 пациентов определены хромосомные aberrации в кариотипе, которые были представлены: в 3 наблюдениях нарушениями в комплексе половых хромосом; в 4 - хромосомными транслокациями; в 4 наблюдениях перицентрическими инверсиями хромосом. Всем пациентам проведено молекулярно-цитогенетическое исследование сперматозоидов с использованием зондов на хромосомы X и Y. Все обследуемые пациенты были подразделены на 5 групп:

1-я группа - мужчины, с нормальными показателями спермограммы;

2-я - мужчины, показатели спермограммы которых находились на границе нормы (концентрация сперматозоидов в 1 мл - 20 млн, активно подвижных сперматозоидов - 25%, нормальная морфология сперматозоидов - 30%);

3-я - мужчины, у которых в спермограмме наблюдали олигозооспермию, астенозооспермию или сочетанную форму патозооспермии - олигоастенозооспермию;

4-я - мужчины, в спермограмме которых, наблюдали тератозооспермию;

5-я - мужчины, в спермограмме которых определена сочетанная форма патозооспермии - олигоастенотератозооспермия (ОАТ).

Результаты FISH-исследования сперматозоидов мужчин программы ЭКО, ИКСИ представлены в табл. 3 (результаты кариотипов приведены с учетом FISH-метода и без учета хромосомных вариантов).

Мужчины 1-й группы с нормальными показателями спермограммы и нормальным кариотипом составили группу сравнения. Уровень анеуплоидии гоносом в сперматозоидах у них составил 0,22%.

Самая высокая частота анеуплоидии гоносом в сперматозоидах была выявлена у пациентов с нарушениями в комплексе половых хромосом в кариотипе (3,7; 2,6%).

Наши исследования показали, что хромосомные aberrации одних хромосом (в частности, инверсии и транслокации) в кариотипах пациентов влияют на расхождение других хромосом в процессе мейоза (хромосом X и Y), что подтверждает теорию существования интерхромосомного эффекта.

Полученные данные свидетельствуют о существовании корреляции между

хромосомными изменениями в лимфоцитах периферической крови и половых клетках в независимости от типа хромосомных aberrаций в кариотипе.

Наши исследования выявили достоверную корреляцию между частотой анеуплоидии гоносом в сперматозоидах и различными состояниями сперматогенеза у мужчин с нормальными кариотипами (при сравнении уровня анеуплоидии гоносом 2, 3, 4 и 5-й групп с группой сравнения $p < 0,05$).

У мужчин с нормальным кариотипом и сочетанной формой отклонений в показателях спермограммы по концентрации, подвижности, морфологии ОАТ был выявлен самый высокий уровень анеуплоидии в сперматозоидах по изучаемым хромосомам - 0,85%. У мужчин с показателями спермограммы на границе нормы - 0,50%; с олигоастенозооспермией - 0,48%; с тератозооспермией - 0,62%. Полученные данные указывают на то, что при любых отклонениях в показателях спермограммы наблюдается повышенный уровень анеуплоидии гоносом в сперматозоидах. Учитывая статистически достоверное отличие частоты анеуплоидии гоносом в сперматозоидах у мужчин с показателями спермограммы на границе нормы и нормальным кариотипом по сравнению с группой сравнения, мы считаем, что эти супружеские пары также следует относить к группе риска пациентов, у которых в потомстве могут возникать хромосомные aberrации.

У пациентов во всех представленных группах с нормальными и измененными кариотипами соотношение сперматозоидов с хромосомой X к сперматозоидам с хромосомой Y было 1:1. Это же соотношение сохранялось и у мужчин с полисомией хромосомы Y (кариотип 47, XY₂).

Соотношение нерасхождения хромосом XY: XX: YY у мужчин программы ЭКО (с нормозооспермией и показателями спермограммы на границе нормы) нормальными кариотипами составило 3,6:1,5:1, у мужчин программы ИКСИ и нормальными кариотипами - 2,7:1,7:1 (среднее значение). Высокий уровень нерасхождений хромосом XY говорит о том, что нарушения процесса расхождения хромосом чаще происходят при первом делении мейоза. Только у пациентов с полисомией хромосомы Y соотношение частоты нерасхождения хромосом YY к нерасхождению XX было больше единицы (5:1:1,5). Кроме того, выявленный у них высокий уровень сперматозоидов с хромосомами XY может подтверждать теорию о том, что у мужчин с кариотипами 47, XY₂ в процессе мейоза может образовываться повышенная частота сперматозоидов с хромосомным набором 24, XY и 24, YY. При теоретическом расчете анеуплоидии в сперматозоидах у мужчин с кариотипами 47, XY₂ уровень нерасхождений хромосом должен быть значительно выше, чем выявляется на практике. Это подтверждает теорию о существовании специальных механизмов, блокирующих развитие клеток с aberrантным кариотипом.

Один из путей успешного решения проблем профилактики заболевания связан с выявлением предрасположенности индивидуума к ним. По данным ряда исследователей, антигены системы HLA могут быть успешно использованы для этой цели.

Мы обследовали антигены системы HLA у 3 групп мужчин русской популяции: 1 - с нормозооспермией (106 человек), 2 - с олигозооспермией, астенозооспермией или сочетанной формой олигоастенозооспермией (102

человека), 3 - с тератозооспермией или в сочетании с олиго-, астенозооспермией (109 человек). Положительная ассоциация антигенов HLA I класса была выявлена только у пациентов с тератозооспермией ($p < 0,05$). Риск возникновения заболевания более 4 был обнаружен при гаплотипах A10,B35 (4,5) и A26,B18 (4,7). Сочетание обоих антигенов в гаплотипе B18 и B35 увеличивает риск до 11.

Обсуждение

Разработка новых технологий в лечении бесплодия, выяснение причин бесплодия и получение здорового потомства при использовании ВРТ является актуальной задачей современной медицины. Своевременное определение причин нарушения репродуктивной функции, связанное с выявлением хромосомных и генных мутаций, приобретает особое значение в изучении репродуктивной системы и является одной из ведущих проблем медицинской генетики.

Учитывая, что мужской фактор бесплодия составляет примерно 50% от общего процента бесплодия, было интересно выяснить причины, приводящие у мужчин к нарушению репродуктивной функции (НРФ). Особый интерес представляют пациенты с бесплодием неясного генеза, а также пациенты с ярко выраженными формами патоспермии (отклонения всех показателей в спермограмме: концентрации, подвижности, морфологии и др.).

Выявленные врожденные пороки развития и генетические нарушения у пациентов с бесплодием указывает на необходимость медико-генетического консультирования пациентов, нуждающихся в лечении методами ВРТ и притом до включения их в программу ВРТ.

Основную группу риска пациентов, у которых потомству могут быть переданы генетические мутации или возникнуть *de novo*, составляют супружеские пары с генетическими мутациями, а также женщины старше 35 лет. Другими словами, не вызывает сомнения необходимость разработки профилактических мероприятий через медико-генетическое консультирование у пациентов программы ВРТ, алгоритма генетического обследования, рекомендаций по оптимизации программы ЭКО.

Наши данные о высоком уровне хромосомных aberrаций, микроделеций хромосомы Y у пациентов с нарушением репродуктивной функции по сравнению с общепопуляционными совпадают с данными других авторов [3-8].

Изучение характера хромосомных аномалий имеет важное значение ввиду их высокой частоты при нарушении репродуктивной функции. Кроме того, выявление хромосомной патологии у пациентов с НРФ и нуждающихся в лечении методами ВРТ имеет принципиальное значение. Применение ВРТ у носителей мутаций без учета особенностей их генотипа может привести к многочисленным отрицательным результатам проведения программы ЭКО, повлиять на вынашивание беременности и в конечном итоге привести к рождению ребенка с врожденными и генетическими аномалиями.

Полученные нами данные указывают на высокую частоту микроделеций хромосомы Y у пациентов с НРФ - 8,4%, что совпадает с результатами исследования других авторов [9-11]. Интересен тот факт, что все микроделеции были выявлены у мужчин с олигозооспермией и ни в одном из случаев у

пациентов с азооспермией. А также, что все микроделеции представлены мутацией в локусе AZFc хромосомы Y. По всей видимости, это связано с небольшим числом обследуемых мужчин. Тем не менее тот факт, что все микроделеции были выявлены в локусе AZFc хромосомы Y, указывает на то, что эти мутации занимают преобладающее место среди микроделений AZF локусов хромосомы Y, что также совпадает с мнением других авторов [7, 11].

Учитывая высокий уровень сперматозоидов с хромосомными aberrациями у пациентов программы ИКСИ, мы рекомендуем исследовать их половые клетки на уровень анеуплоидии перед проведением ВРТ для установления потенциального риска появления в их потомстве ребенка с генетической патологией. Использование в программе ИКСИ гамет с хромосомными изменениями может негативно влиять на эффективность программы и привести к рождению детей с хромосомными aberrациями. Таким образом, супружеским парам, у мужей которых в сперматозоидах имеется повышенная частота анеуплоидии, рекомендуется проведение преимплантационной или инвазивной пренатальной диагностики.

Полученные нами данные о повышенной частоте хромосомных нарушений в половых клетках у мужчин с различными формами нарушений сперматогенеза совпадают с данными других исследователей. По данным M.Pang и соавт. (1999 г.), частота дисомии аутосом в сперматозоидах составила 5,4% у мужчин с ОАТ по сравнению с 0,05-0,2% в контроле; частота диплоидных сперматозоидов у пациентов с ОАТ была от 0,4 до 9,6%; контроль показал значение 0.04% (исследователи в своей работе использовали зонды к хромосомам 4, 6, 7, 8 9, 10, 11, 12, 13, 17, 18, 21, X и Y). Применяя зонды на хромосомы 18, 21, X и Y, L.Colombego и соавт. (1999 г.) также выявили эту закономерность. Однако уровень анеуплоидии был несколько ниже, а показатели в контрольной группе значительно выше: 2,7% у мужчин с ОАТ против 1,8% в контроле.

Повышенная доля хромосомных aberrаций в сперматозоидах у мужчин с ОАТ отмечена также другими авторами [5, 8, 12].

Антигены системы HLA как генетические маркеры приобрели важное значение для выявления предрасположенности к возникновению ряда заболеваний, связанных с мужским бесплодием. Полученные нами данные об ассоциации антигенов системы HLA и отклонениями в спермограмме совпадают с данными других авторов.

D.Aleksovski и соавт. (1988 г.) при исследовании мужчин югославы с азооспермией и олигозооспермией неизвестной этиологии выявил повышенную ассоциацию антигенов системы HLA с нарушением сперматогенеза. Наиболее частыми антигенами локуса А были: A26, A28; локус В был представлен только антигеном В18.

В.В. Михайличенко и соавт. (1992 г.) исследовали у мужчин - жителей Санкт-Петербурга, ассоциации антигенов HLA системы с инфертильностью, обусловленной левосторонним варикоцеле. Обследование 97 инфертильных мужчин с различной степенью олигозооспермии (37 - с I степенью, 36 - со II степенью и 24 - с III степенью) выявило повышение частоты встречаемости антигенов по локусу А - A3; A11; AW19; а по локусу В - B13; B16; B22; B27; B35, а также снижение частоты B5. Наиболее выраженной генетической связью

с инфертильностью при варикоцеле обладают антигены A3; B13; B22. Они также показали, что наиболее сильную гаметную ассоциацию у этих больных дают гаплотипы A3-B22; A11-B22; AW19-B22.

Повышенная ассоциация антигенов системы HLA с идиопатической азооспермией была найдена также H. Miura и соавт. (1998 г.) у 65 японских мужчин. Частота антигенов HLA A33, B13 и B44 была значительно выше по сравнению с контрольной группой. Авторы предполагают, что антигены I класса системы HLA являются важными генетическими маркерами предрасположенности к возникновению идиопатической азооспермии.

Таким образом, исследование антигенов системы HLA I класса у пациентов с нарушением сперматогенеза может иметь значение для прогноза здоровья их будущего потомства.

Генетическое обследование пациентов с нарушением репродуктивной функции приобретает определенное значение ввиду выявления у них высокой частоты генетических мутаций. Следует отметить, что эти обследования необходимо проводить мужчинам до включения их в программу ИКСИ.

Знания о частоте и характере генетических нарушений у пациентов с нарушением репродуктивной функции позволят улучшить лечебно-диагностическую и консультативно-диагностическую помощь супружеским парам с бесплодием, а также совершенствовать мероприятия, направленные на профилактику бесплодия [15].

Все сказанное указывает на необходимость разработки и широкого внедрения в медицинскую практику профилактических мероприятий, в частности преимплантационной генетической диагностики, которая проводится в рамках программы экстракорпорального оплодотворения и дает возможность генетической селекции эмбрионов у пациентов с генетическими нарушениями.

Литература

1. Antoni K. Тезисы 17-го ежегодного конгресса ESHRE. *Hum Reprod* 2001; 16.
2. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L. Obstetric outcome of pregnancies following ICSI, classified according to sperm origin and quality. *Hum Reprod* 2000; 15 (5): 1189-94.
3. Зарецкая Ю.М. Клиническая иммуногенетика. М., 1985.
4. Михайличенко В.В., Александров В.П., Щетина Ю.И. Особенности ассоциаций антигенов гистосовместимости у больных с бесплодием, обусловленным варикоцеле. *Урол. и нефрол.* 1992; 4/5/6: 39-40.
5. Савельева А.П. Структура хромосомной патологии среди пациентов с мужским бесплодием и патозооспермией. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2002.
6. Снелл Дж., Доссе Ж., Нетенсон С. Совместимость тканей. М., 1979.
7. Черных В.Б. Микроделеционный анализ AZF-локуса в рамках комплексного клинико-генетического обследования мужчин с азооспермией и олигозооспермией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2002.
8. Шаронин В.О. Роль молекулярно - цитогенетических исследований хромосомных аномалий соматических и половых клеток при нарушении репродуктивной системы у пациентов мужского пола. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1998.
9. Chang SY, Tsai MY. Detection of azoospermic factor genes in Chinese men with azoospermia or severe oligozoospermia. *J Assist Reprod Genet* 1999; 6 (5): 259-62.
10. Loginova IuA, Nagornaia II, Shlykova SA et al. Molecular genetic analysis of Y-chromosome micro deletions in men with severe spermatogenic defects. *Mol Biol (Mosk)* 2003; 37 (1): 74-80.
11. Yang Y, Zhang SZ, Peng LM et al. Studies on molecular epidemiology of Y chromosome azoospermia factor microdeletions in Chinese patients with idiopathic azoospermia or severe oligozoospermia. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2003; 20 (5): 385-9.
12. Baumgartner A, Van Hummelen P, Lowe XR et al. Numerical and structural chromosomal abnormalities detected in human sperm with a combination of multicolor FISH assays. *Environ Mol Mutagen* 1999; 33 (1): 49-58.
13. Алексеев Л.П. Иммунология. 1985; 3 (3): 5-9.

14. Тананов А.Т., Орлов-Морозов А.В. Система HLA - антигенов и болезни. Науч. обзор. М., 1982.
15. Курило Л.Ф., Шилейко Л.Ф., Мхитарова Е.В. и др. Структура наследственной патологии половой системы при обследовании пациентов с нарушением репродукции. Тез. Конф. "Инвалидиз. Наследственные заболевания", МГНЦ РАМН, М., XI 1997.
16. Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Соловьев И.В. Современные достижения молекулярной цитогенетики в диагностике хромосомной патологии у детей. Росс. вестн. перинатол. и педиатрии. 1998; 43 (1): 31-6.
17. Руководство ВОЗ по лабораторному исследованию эякулята человека и взаимодействия сперматозоидов с цервикальной слизью. Четвертое издание. Издательство Cambridge University Press, 1999. Перевод с английского Р.А.Нерсесяна, Научный редактор русского перевода проф. Л.Ф.Курило. М., 2001.
18. Aleksovski D, Todorov Z, Chimanov Z. Possibilities of association of azoospermia and oligospermia with some HLA system antigens. Hum Reprod 1988; 3 (1): 83-4.
19. Aribarg A, Ngeamvijawat J, Chanprasit Y. Investigation of sex chromosome abnormalities in teratozoospermia of infertile men using fluorescence in situ hybridization. J Med Assoc Thai 2000; 83 (7): 737-42.
20. Azim M, Khan AH, Khilji ZL et al. Chromosomal abnormalities as a cause of recurrent abortions: a hospital experience. J Pak Med Assoc 2003; 3 (53): 117-9.
21. Colombero LT, Hariprashad JJ, Tsai MC et al. Incidence of sperm aneuploidy in relation to semen characteristics and assisted reproductive outcome. Fertil Steril 1999; 72 (1): 90-6.
22. Guttenbach M, Schakowski R, Schmid M. Incidence of chromosome 3,7,10,11 and X disomy in mature human sperm nuclei as determined by nonradioactive in situ hybridization. Hum Genet 1997; 93 (3): 7-12.
23. Meschede D, Lemcke B, Exeler JR et al. Chromosome abnormalities in 447 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection- prevalence, types, sex distribution and reproductive relevance. Hum Reprod 1998; 13 (3): 576-82.
24. Miura H, Tsujimura A, Nishimura K et al. Susceptibility to idiopathic azoospermia in Japanese men is linked to HLA class I antigen. J Urol 1998; 159 (6): 1939-41.
25. Pang MG, Hoegerman SF, Cuticchia AJ et al. Detection of aneuploidy for chromosomes 4,6,7,8,9,10,11,12,13,17,18,21,X and Y by fluorescence in situ hybridization in spermatozoa from nine patients with oligoasthenoteratozoospermia undergoing intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1999; 14 (5): 1266-73.
26. Schreurs A, Legius E, Meuleman C et al. Increased frequency of chromosomal abnormalities in female partners of couples undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. Fertil Ster 2000; 74 (7): 94-9.
27. Stern C, Pertile M, Norris H et al. Chromosome translocation in couples with in vitro fertilization implantation failure. Hum Reprod 1999; 14 (8): 2097-101.
28. Testart J, Gautier E, Brami C et al. Intracytoplasmic sperm injection in infertile Patients with structural chromosome abnormalities. Hum Reprod 1996; 11 (12): 2609-12.



/media/gynecology/06_04/60.shtml :: Saturday, 07-Apr-2007 19:51:41 MSD

http://old.consilium-medicum.com/media/gynecology/06_04/60.shtml