БІОМЕДИЦИНА

Молекулярно-генетичний аналіз дефектів гена *AZF* Y-хромосоми та гена *ТРБМ* при чоловічому безплідді

О. А. Фесай, В. М. Пампуха, О. О. Соловйов, Л. А. Лівщиць

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

olga_fesay@ukr.net

Аналіз мікроделецій довгого плеча Y-хромосоми людини, асоційованих з порушенням сперматогенезу, дозволяє виявляти делетовані послідовності трьох ділянок на Yq (AZFa, AZFb і AZFc) у безплідних чоловіків. Мікроделеції знайдено у 16 з 355 (4,5 %) чоловіків із безпліддям. Мутації в гені трансмембранного регуляторного білка муковісцидозу (ТРБМ), які також причетні до чоловічого безпліддя, визначено у 22 з 355 обстежених чоловіків із безпліддям. Найрозповсюдженішою мутацією виявилася F508del (17 з 22 ідентифікованих). Алель 5T гена ТРБМ, асоційований із вродженою двобічною відсутністю сім'явиносних протоків, відмічено у 16 з 355 (4,5 %) пацієнтів. Молекулярно-генетичний аналіз мікроделецій Y-хромосоми і мутацій гена ТРБМ, а також генетичне консультування є необхідними діагностичними елементами для пацієнтів із безпліддям, особливо якщо вони включені до програми допоміжних репродуктивних технологій.

Ключові слова: сперматогенез, мікроделеції Y-хромосоми, ген ТРБМ, чоловіче безпліддя.

Вступ. Відомо, що близько 13–18 % подружніх пар у всьому світі страждають на безпліддя, причому майже в 50 % випадків воно обумовлено порушенням репродуктивної функції з боку чоловіка [1]. Приблизно у 31,7 % чоловіків причину безпліддя встановити не вдається (ідіопатичне безпліддя) [2]. Припускають, що воно може бути обумовлене, в першу чергу, імунологічними або генетичними факторами.

Сперматогенез контролюється великою кількістю генів, розташованих як на аутосомах, так і на статевих хромосомах, зокрема на Y-хромосомі [3]. Вивчення цих генів є актуальним, якщо врахувати, що близько 2 % чоловіків у світі страждають на безпліддя внаслідок тяжких порушень сперматогенезу (різних форм олігоспермії та азооспермію).

У 1976 році висловлено гіпотезу про те, що ген *AZF* (azoospermia factor) (Yq11.23) є специфічним для процесу сперматогенезу [4]. В цьому гені виявлено три длянки – *AZFa*, *AZFb* та *AZFc*, мікроделеції в яких і призводять до порушень дозрівання та формування сперміїв [5, 6]. Частота визначення мікроделецій в гені *AZF* Y-хромосоми у чоловіків, які страждають на безпліддя, варіює в різних дослідженнях від 1 до 55 % [1, 7].

В *AZFc* ділянці Y-хромосоми ідентифіковано ген *DAZ* (deleted in azoospermia) [7]. Встановлено, що він кодує специфічний для яєчок РНК-зв'язувальний білок [8]. Припускають, що білок гена *DAZ* присутній у цитоплазмі зрілих сперматид і в хвос-

О. А. ФЕСАЙ, В. М. ПАМПУХА, О. О. СОЛОВЙОВ, Л. А. ЛІВШИЦЬ, 2008

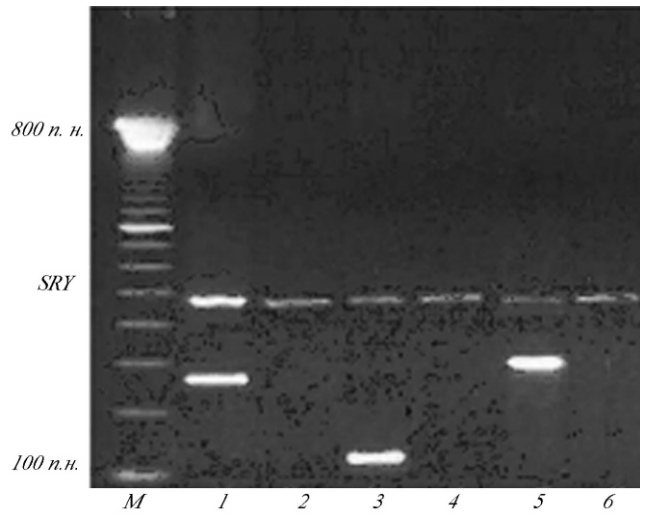

Рис. 1. Електрофореграма продуктів ПЛР послідовностей sY117, sY124 та SY134 (AZFb ділянка) (1,8 %-й агарозний гель): *M* – маркер молекулярної маси Ladder 100 п. н.; *1*, *3*, *5* – наявність sY117, sY124, sY134 відповідно; *2*, *4*, *6* – делеція sY117, sY124, sY134 відповідно; *SRY* – внутрішній контроль ампліфікації

тах сперміїв і причетний до трансляційного контролю матричних РНК цих статевих клітин, а також до формування комплексу структури хвоста. У пацієнтів з делецією *AZFc* білок гена *DAZ* відсутній у хвостах сперміїв [7].

Іншим геном, як вважають, залученим до розвитку чоловічого безпліддя, є ген *ТРБМ* (трансмембранний регуляторний білок муковісцидозу). Азооспермія спостерігається у всіх без винятку чоловіків, хворих на муковісцидоз. Проте у деяких хворих азооспермія пов'язана лише з вродженою відсутністю сім'явиносних протоків (CBAVD – congenital bilateral absence of the vas deferens). У 80 % таких пацієнтів знайдено, принаймні, одну мутацію гена *ТРБМ* і/або Т5 – варіант поліморфного сайта сплайсингу 9-го екзона.

Цікаво зазначити, що в переважної більшості обстежених пацієнтів не виявлено жодної з інших клінічних ознак муковісцидозу. Мутації в гені *ТРБМ* є причиною CBAVD приблизно в 1 % чоловіків із безпліддям [9].

Мета роботи полягала у дослідженні асоціації мікроделецій у ділянках *AZFa*, *AZFb* та *AZFc* із специфічними мутаціями і Т-поліморфізмом 8-го інтрона гена *ТРБМ* у чоловіків з оліго- та азооспермією.

Матеріали і методи. Пацієнти, які проходили лікування в клініках «ISIDA» (м. Київ), «ІСІДА-Днепр-IVF» (м. Днепропетровськ), «Надія» (м. Київ), «Сім'Я» (м. Донецьк), Інституті репродуктивної медицини (м. Київ) та центрі «Імплант» (м. Харків) за методом ICSI (intracytoplasmic sperm injection) – пряма мікроін'єкція одиничних сперміїв у яйцеклітину, були включені в дослідження після інформованої згоди.

Матеріалом досліджень слугували зразки периферичної крові чоловіків з різними формами безпліддя.

ДНК із зразків крові виділяли стандартним методом – внаслідок гідролізу лізатів клітин протеїназою К з наступною фенольно/хлороформною екстракцією [10].

Створено банк зразків лейкоцитарної ДНК: 355 чоловіків з різними формами безпліддя (азооспермія – відсутність сперматозоїдів в еякуляті та олігоспермія – концентрація сперматозоїдів в еякуляті 1–10 млн в 1 мл), які склали загальну групу обстежених. За контроль розповсюдженості мутацій гена *ТРБМ* взято 621 зразок ДНК жінок – донорів ооцитів з різних регіонів України, включених у дослідження після інформованої згоди. Ця група є репрезентативною для оцінки популяційної частоти мутацій в аутосомних генах.

Аналіз восьми мутацій гена *ТРБМ* (delF508, 1677delTA, CFTRdele2,3 (21 kb)) проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшим рестрикційним аналізом (N1303K, R117H, 621+1G-T, P1290S, W1282X) та візуалізацією в 1,8 %-му агарозному та 10 %-му поліакриламідному гелях [11].

Мікроделеції довгого плеча Y-хромосоми в локусах: sY746, sY84, sY85, sY86, USP9Y, sY117, sY124, sY127, sY134, sY141, sY153, sY240, sY146, sY254, sY255, sY158, sY160 досліджували за допомогою мультиплексної ПЛР (рис. 1, 2) [12].

Т-поліморфізм 8-го інтрона гена *ТРБМ* вивчали з використанням ПЛР та подальшим аналізом флуоресцентно мічених продуктів ПЛР на автоматичному лазерному секвенаторі «A.L.F.express» (рис. 3). Після сканування A.L.F.-гель аналізували за допомогою програми ALFwin Sequence Analyser 2.11

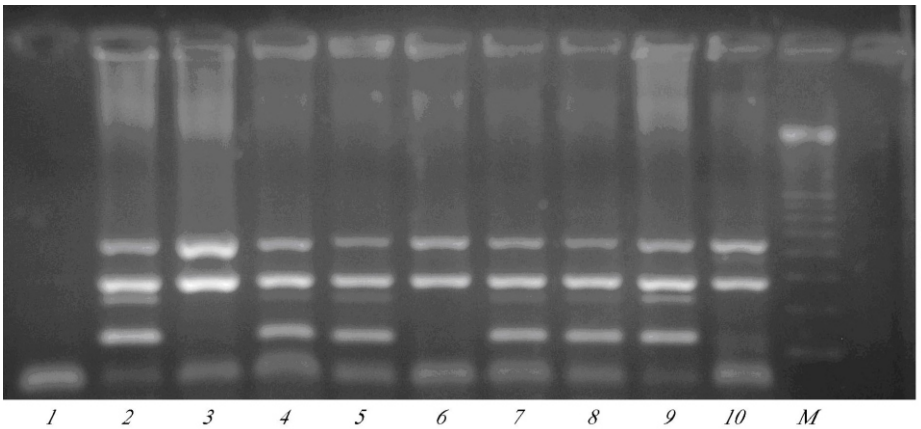

Рис. 2. Електрофореграма продуктів ПЛР послідовностей sY141, sY255, sY158 (AZFc ділянка) (1,8 %-й агарозний гель): *M* – маркер молекулярної маси Ladder 100 п. н.; *2*, *4*, *5, 7*, *8*, *9* – наявність sY255, sY158, sY141; *3*, *6*, *10* – делеції sY255, sY158; *1* – негативний контроль ампліфікації; *SRY* – внутрішній контроль ампліфікації

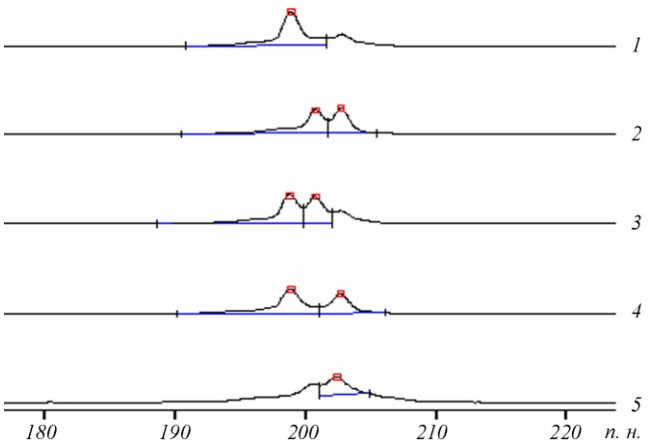

Рис. 3. Флуорограма продуктів ампліфікації послідовності ДНК у політимідиновому тракті 8-го інтрона гена *ТРБМ* (A.L.F.-express): генотипи 5T/5T (*1*); 7T/9T (*2*); 5T/7T (*3*); 5T/9T (*4*); 9T/9T (*5*)

(«Amersham Pharmacia Biotech», Швеція). Для статистичної обробки даних використовували стандартний тест Фішера.

Результати і обговорення. Мікроделеції довгого плеча Y-хромосоми проаналізовано серед 355 чоловіків із азооспермією (135 осіб) та олігоспермією (220 осіб). В одного чоловіка з олігоспермією (в сперматограмі 5–6 млн сперміїв в 1 мл) ідентифіковано делецію послідовності з ділянки *AZFb* (рис. 1). Подібний результат узгоджується з даними про те, що делеції в цій ділянці асоційовані з гетерогенним фенотипом, який проявляється як азооспермія, олігоспермія та нормоспермія. При цьому відбувається порушення сперматогенезу під час мейозу та при дозріванні на стадіях сперматоцитів і сперматид [5].

В іншого пацієнта, у якого діагноз варіює (первинно діагностовано олігоспермію, а потім азооспермію – одиничні спермії аномальної морфології), нами знайдено делецію в *AZFc* ділянці (sY153–sY158) (рис. 2). Проте найцікавішим виявилося те, що такі ж делеції в ділянці *AZFc* визначено ще у восьми пацієнтів з повною відсутністю сперміїв в еякуляті (азооспермія). Можна припустити, що виявлені при першому дослідженні клітини, скоріше за все, представляють собою не диференційовані сперматозоїди, а сперматогонії. Це може бути зумовлено аномальною морфологією зазначених клітин. Таким чином, можна зробити висновок про те, що делеції послідовностей *AZFc* ділянки призводять до порушень сперматогенезу вже на перших його стадіях.

На користь останнього свідчать також дані, отримані нами в результаті дослідження пацієнта з азооспермією, в якого не спостерігали статевих клітин навіть в біоптаті яєчок. Саме у цього пацієнта нами виявлено менш протяжну делецію послідовності ділянки *AZFc* (sY240–sY254). Цікаво зазначити, що таку ж делецію виявлено в іншого пацієнта з олігоспермією. Ще у п'яти пацієнтів із азооспермією нами знайдено делеції різної протяжності з ділянки *AZFc*, але всі вони охоплювали послідовність гена *DAZ* (рис. 4).

Враховуючи вищевикладене, можна припустити, що незалежно від абсолютної протяжності делеції ключовим фактором порушення сперматоге-

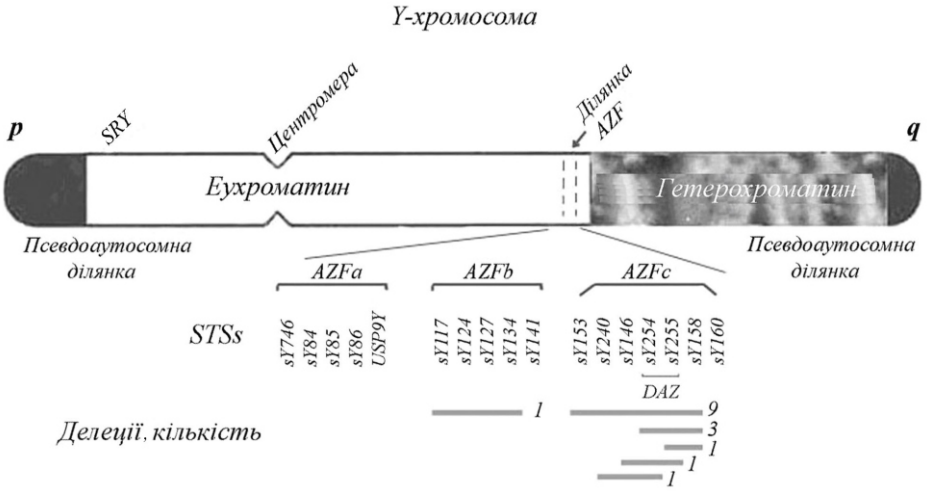

Рис. 4. Схематичне зображення Y-мікроделецій, виявлених у 16 безплідних пацієнтів

Таблиця 1
Частота виявлених мікроделецій у ділянках AZFa, AZFb, AZFc у пацієнтів з різними формами безпліддя з країн Європи та Азії

Країна	Кількість обстежених пацієнтів	Кількість знайдених делецій	Загальний відсоток делецій
Туреччина	50	4	8,0
Росія	810	61	7,5
Франція	72	5	6,9
Японія	113	7	6,2
Україна	355	16	4,5
Хорватія	85	1	1,2

незу у згаданих 15 пацієнтів є делеція саме послідовності гена *DAZ*. Усі ж прояви порушень сперматогенезу, виявлені нами у 15 пацієнтів з делеціями послідовності гена *DAZ*, збігаються з ознаками синдрому клітин Сертолі типу 2, при якому в еякуляті або зовсім відсутні будь-які статеві клітини, або спостерігають поодинокі сперматогонії. Отримані нами дані підтверджують гіпотезу розвитку саме таких патологічних процесів на ранніх стадіях сперматогенезу [4, 5]. Виходячи з клінічно встановленої гетерогенності фенотипу цих 15 пацієнтів, можна припустити наявність тканинного мозаїцизму за делеціями, які охоплюють *DAZ* ген чи навіть цілу *AZFc* ділянку. Цілком можливо, що в частини пацієнтів, у яких не знайдено делецій в геномі лімфоцитів крові, має місце явище тканинного мозаїцизму за делеціями в Yq11. Про можливість саме такого мозаїцизму свідчать результати дослідження мікроделецій у статевих і соматичних клітинах чоловіків із безпліддям [13].

Загальний відсоток (4,5 %) виявлених мікроделецій у досліджуваній групі чоловіків узгоджується з даними, отриманими іншими авторами з країн Європи та Азії (табл. 1) [1, 14–17].

Родинам, в яких у чоловіків спостерігали мікроделеції у довгому плечі Y-хромосоми, було рекомендовано медико-генетичне консультування і пренатальна діагностика статі плоду, оскільки плід чоловічої статі успадковує мутантну Y-хромосому батька, або використання донорської сперми в програмі екстракорпорального запліднення.

Згідно з даними Cystic Fibrosis Mutation Database (www.genet.sickkids.on.ca/cftr/statisticsPage.html) у хворих на муковісцидоз виявлено 1550 різних мутацій гена *ТРБМ*. Частота 14 проаналізованих мутацій гена *ТРБМ* у пробандів з 337 родин хворих на муковісцидоз становить (%): delF508 – 40,8; N1303K – 2,65; CFTRdele2,3 (21 kb) – 1,4; G542X – 0,6; W1282X – 0,5; R334W – 0,3; R553X – 0,3; 1677deleTA – 0,3; G551D – 0,16; R347P – 0,3; 1717-1GaA – 0,3; R117H – 0; 621+1G-T – 0; P1290S – 0; що у підсумку становить 47,61 % від загальної кількості мутантних хромосом. Таким чином, 52,39 % мутантних хромосом не ідентифіковано для даної групи пацієнтів. Деякі розбіжності в показниках частоти зазначених мутацій між групою хворих на муковісцидоз з України та хворих із країн Західної Європи [18] можна пояснити не лише

Таблиця 2
Розподіл мутацій гена ТРБМ у чоловіків з різними формами безпліддя і в контрольній групі

Мутації гена ТРБМ	Частота мутацій, %	
	Досліджувана група (355 осіб – 710 хромосом 7)	Контрольна група (621 особа – 1242 хромосом 7)
delF508	2,40	0,73
o1677delTA*	0,14	–
CFTRdele2,3 (21 kB)	0,42	0,08
N1303K	–	0,16
R117H**	0,14	–
621+1G-T	–	–
P1290S	–	–
W1282X	–	–
Разом	3,10	0,97

Мутацію виявлено* і не виявлено** у пацієнтів, хворих на муковісцидоз, з України.

міжпопуляційними відмінностями, але й помилками у встановленні клінічного діагнозу муковісцидозу для хворих з обстеженої нами групи.

Для з'ясування ролі мутації гена *ТРБМ* у порушенні сперматогенезу у 355 пацієнтів з необструктивними формами чоловічого безпліддя ми провели аналіз восьми мутацій, які найчастіше зустрічалися у пацієнтів, хворих на муковісцидоз з України. В обстежуваній групі виявлено тільки гетерозиготних носіїв: у 17 пацієнтів знайдено delF508, у трьох пацієнтів – CFTRdele2,3 (21 kb), в одного пацієнта R117H та ще в одного – 1677delTA. Таким чином, частота проаналізованих восьми мажорних мутацій гена ТРБМ (delF508, N1303K, CFTRdele2,3 (21 kb), W1282X, 1677deleTA, R117H, 621+1G-T, P1290S) становить 3,1 %, що співвідноситься з частотою мутацій гена *ТРБМ* у пацієнтів із вродженою відсутністю сім'яних протоків із різних країн світу [19]. Загальна частота мутації гена *ТРБМ* у контрольній групі *(n* = 621) становить 0,97 %, що є статистично вірогідно нижче (p < 0,001), ніж у групі чоловіків з необструктивними формами порушення сперматогенезу (*n* = 355) (табл. 2).

Важливо зазначити, що в обстеженій групі пацієнтів з порушенням сперматогенезу виявлено мутацію R117H, яку не ідентифіковано ні в контрольній групі, ні у пацієнтів, що страждають на муковісцидоз. Варто також підкреслити, що, за даними інших авторів, ця мутація є характерною для пацієнтів із вродженою відсутністю сім'явиносних протоків [20].

Дуже цікавими є дослідження ролі полі-Т-поліморфізму і, зокрема, варіанта 5Т (8-й інтрон гена *ТРБМ*) у порушенні сперматогенезу, що призводить до зникнення сайта сплайсингу 9-го екзона даного гена (рис. 3).

У 14 з 355 осіб алель 5Т виявлено в компаунді з алелями 7Т та 9Т і в двох пацієнтів алель 5Т присутній у гомозиготному стані. Таким чином, частота носіїв варіанта 5Т у цій групі складає 4,5 %. Приблизно такий самий відсоток носіїв алеля 5Т визначено при обстеженні чоловіків із вродженою відсутністю сім'яних протоків із деяких країн світу. Варто відмітити, що в Данії, Італії та Греції носії цього алеля складали навіть нижчий відсоток, ніж в обстежуваній групі (табл. 3) [19].

Отримані результати можуть свідчити на користь того, що зміни структури і/або експресії гена

Таблиця 3
Частоти носіїв варіантів 5Т чоловіків з різними формами безпліддя, виявлені в різних країнах світу

Країна	Кількість обстежених пацієнтів	Кількість знайдених 5Т варіантів	Загальний відсоток
Франція	109	35	32,1
Іспанія	384	29	7,6
США	88	12	13,6
Німеччина	114	8	7,0
Польща	100	6	6,0
Данія	172	6	3,5
Італія	230	4	1,7
Греція	210	1	0,5

ТРБМ асоційовані з порушеннями сперматогенезу, а не лише з вродженою відсутністю сім'яних протоків. Це припущення є цілком імовірним з огляду на досить високий рівень експресії гена *ТРБМ* у клітинах різних відділів статевих органів чоловіків.

Розроблені нами методики застосовують у тест-системах для ДНК-аналізу в програмах селективного скринінгу, для профілактики та вибору стратегії лікування генетично обумовлених форм чоловічого безпліддя і подальшого медико-генетичного консультування в клініках, де використовують допоміжні репродуктивні технології, та медико-генетичних закладах.

Автори вдячні лікарям клінік «ISIDA», «ІСІДА-Днепр-IVF», «Надія», «Сім'Я», Інституту репродуктивної медицини та центру «Імплант» за надання зразків крові та клінічної інформації.

O. A. Fesai, V. M. Pampukha, O. O. Solovyov, L. A. Livshits

Analysis of defects in the *AZF* gene of the Y-chromosome and the *CFTR* gene involved in male infertility

Summary

Microdeletions of the long arm of the human Y chromosome are associated with spermatogenic failure and have been used to define three regions of Yq (AZFa, AZFb and AZFc) that are recurrently deleted in infertile males. Microdeletions were detected in 16 out of 355 (4,5 %) infertile males. Mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene, also involved in male infertility, were detected in 22 out of 355 analyzed infertile males. The most common mutation was F508del (17 of 22 mutations). 5T allele of the CFTR gene associated with congenital bilateral absence of the vas deferens was detected in 16 out of 355 (4,5 %) patients. Molecular-genetic analysis of the Y-chromosome microdeletions and the CFTR gene mutations as well as genetic counseling are the necessary diagnostics for patients with male infertility, especially if they are included in an assisted reproductive technologies program.

Keywords: spermatogenesis, Y-chromosome microdeletions, CFTR gene, male infertility.

О. А. Фесай, В. Н. Пампуха, А. А. Соловьев, Л. А. Лившиц

Молекулярно-генетический анализ дефектов гена *AZF* Y-хромосомы и гена *ТРБМ* при мужском бесплодии

Резюме

Анализ микроделеций длинного плеча Y-хромосомы человека, ассоциированных с нарушением сперматогенеза, позволяет выявлять делетированные последовательности трех участков на Yq (AZFa, AZFb и AZFc) у бесплодных мужчин. Микроделеции найдены у 16 из 355 (4,5 %) мужчин с бесплодием. Мутации в гене трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза (ТРБМ), также причастные к мужскому бесплодию, выявлены у 22 из 355 обследованных бесплодных мужчин. Наиболее распространенной мутацией оказалась F508del (17 из 22 идентифицированных). Аллель 5T гена ТРБМ, ассоциированный с врожденным двусторонним отсутствием семявыносящих протоков, присутствует у 16 из 355 (4,5 %) пациентов. Молекулярно-генетический анализ микроделеций Y-хромосомы и мутаций гена ТРБМ, а также генетическое консультирование являются необходимыми диагностическими элементами для пациентов с бесплодием, особенно если они включены в программу вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: сперматогенез, микроделеции Y-хромосомы, ген ТРБМ, мужское бесплодие.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Krausz C., Quintana-Murci L., Barbaux S., Siffroi J. P., Rouba H., Delafontaine D., Souleyreau-Therville N., Arvis G., Antoine J. M., Erdei E., Taar J. P., Tar A., Jeandidier E., Plessis G., Bourgeron T., Dadoune J. P., Fellous M., McElreavey K.* A high frequency of Y chromosome deletions in males with nonidiopathic infertility // J. Clin. Endocrinol. Metab.–1999.–**84**.–P. 3606–3612.
2. *Diemer T., Desjardins C.* Developmental and genetic disorders in spermatogenesis // Hum. Reprod. Update.–1999.–**5**, N 2.–P. 120–140.
3. *Vogt P. H.* Human chromosome deletions in Yq11, AZF candidate genes and male infertility: history and update // Mol. Hum. Reprod.–1998.–**4**.–P. 739–744.
4. *Tiepolo L., Zuffardi O.* Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm // Hum. Genet.–1976.–**34**, N 2.–P. 119–124.
5. *Affara N. A*. The role of the Y chromosome in male infertility // Exp. Revs Mol. Med.–2001.–**3**.–P. 1–16.
6. *Vogt P. H., Edelmann A., Kirsch S., Henegariu O., Hirschmann P., Kiesewetter F., Kohn F. M., Schill W. B., Farah S., Ramos C., Hartmann M., Hartschuh W., Meschede D., Behre H. M., Castel A., Nieschlag E., Weidner W., Grone H. J., Jung A., Engel W., Haidl G.* Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11 // Hum. Mol. Genet.–1996.–**5**, N 7.–P. 933–943.
7. *Habermann B., Mi H. F., Edelmann A., Bohring C., Backert I. T., Kiesewetter F., Aumuller G., Vogt P. H.* DAZ (deleted in azoospermia) genes encode proteins located in human late spermatids and in sperm tails // Hum. Reprod.–1998.–**13**.–P. 363–369.
8. *Cooke H., Elliott D.* RNA-binding proteins and human male infertility // Trends Genet.–1997.–**13**.–P. 87–89.
9. *Van der Ven K., Messer L., Van der Ven H., Jeyendran R. S., Ober C.* Cystic fibrosis mutation screening in healthy men with reduced sperm quality // Hum. Reprod.–1996.–**11**.–P. 513–517.
10. *Erlich H. A*. PCR technology: principles and applications for DNA amplification.–New York: Stockton press, 1989.–207 p.
11. *Лівшиць Л. А.* Молекулярно-генетичний аналіз в деяких екзонах гена ТРБМ у хворих на муковісцидоз з України // Цитологія і генетика.–2000.–**34**, № 4.–С. 6–9.
12. *Лівшиць Л. А., Нечипоренко М. В., Ясінська О. А., Пампуха В. М., Грищенко Н. В., Кравченко С. А., Лівшиць Г. Б., Судома І. В., Зінченко В. М.* Генетичне тестування у програмах допоміжних репродуктивних технологій // Зб.

наук. праць академії співробітників КМАПО ім. П. Л. Шупіка.–Київ, 2004.–Т. 5, Вип. 13.–356 с.

13. *Le Bourhis C., Siffroi J. P., McElreavey K., Dadoune J. P.* Y chromosome microdeletions and germinal mosaicism in infertile males // Mol. Hum. Reprod.–2000.–**6**, N 8.– P. 688–693.
14. *Zamani A. G., Kutlu R., Durakbasi-Dursun H. G., Gorkemli H., Acar A.* Y chromosome microdeletions in Turkish infertile men // Ind. J. Hum. Genet.–2006.–**12**, N 2.–P. 66–71.
15. *Черных В. Б., Чухрова А. Л., Бескоровайная Т. С., Гришина Е. М., Сорокина Т .М., Шилейко Л. В., Гоголевский П. А., Калугина А. С., Морина Г. В., Тогобецкий А. С., Таневский В. Э., Здановский В. М., Гоголевская И. К., Крамеров Д. А., Поляков А. В., Курило Л. Ф.* Типы делеций Y-хромосомы и их частота у мужчин с бесплодием // Генетика.–2006.–**42**, № 8.–С. 1130–1136.
16. *Kihaile P. E., Yasui A., Shuto Y.* Prospective assessment of Y-chromosome microdeletions and reproductive outcomes among infertile couples of Japanese and African origin // J. Exp. Clin. Ass. Reprod.–2005.–**2**.–P. 1–7.
17. *Medica I., Gligorievska N., Prenc M., Peterlin B.* Y microdeletions in the Istra country, Croatia // As. J. Androl.–2005.–**7**, N 2.–P. 213–216.
18. *Bobadilla J. L., Macek M. Jr., Fine J. P., Farrell P. M.* Cystic fibrosis: A worldwide analysis of CFTR mutations – correlation with incidence data and application to screening // Hum. Mut.–2002.–**19**.–P. 575–606.
19. *Groman J. D., Hefferon T. W., Casals T., Bassas L., Estivill X., Des Georges M., Guittard C., Koudova M., Fallin M. D., Nemeth K., Fekete G., Kadasi L., Friedman K., Schwarz M., Bombieri C., Pignatti P. F., Kanavakis E., Tzetis M., Schwartz M., Novelli G., D'Apice M. R., Sobczynska-Tomaszewska A., Bal J., Stuhrmann M., Macek M. Jr., Claustres M., Cutting G. R.* Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign // Amer. J. Hum. Genet.–2004.–**74**.–P. 176–179.
20. *Gervais R., Dumur V., Rigot J. M., Lafitte J. J., Roussel P., Claustres M., Demaille J.* Hight frequency of the R117H cystic fibrosis mutation in patients with congenital absence of the vas deferens // N. Engl. J. Med.–1993.–**328**.–P. 446–447.

УДК 575.11 + 577.21
Надійшла до редакції 06.08.07