



Оригинальная статья

Состояние репродуктивной системы и алгоритм решения вопроса деторождения у мужчин с муковисцидозом

Репина С.А.¹ • Красовский С.А.^{1,2} • Шмарина Г.В.¹ • Штаут М.И.¹ • Жекайте Е.К.^{1,3} •
Воронкова А.Ю.^{1,3} • Шерман В.Д.^{1,3} • Кондратьева Е.И.^{1,3} • Черных В.Б.^{1,4}

Репина Светлана Афанасьевна – врач-генетик, отдел организации медицинской помощи¹

✉ 115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324 70 16.
E-mail: repina@med-gen.ru

Красовский Станислав Александрович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр., научно-клинический отдел муковисцидоза¹; лаборатория муковисцидоза²

Шмарина Галина Васильевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., лаборатория молекулярной биологии¹

Штаут Мария Имреевна – науч. сотр., лаборатория генетики нарушений репродукции¹

Жекайте Елена Кястутисовна – науч. сотр., научно-клинический отдел муковисцидоза¹; врач-педиатр отделения муковисцидоза³

Воронкова Анна Юрьевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр., научно-клинический отдел муковисцидоза¹; врач-педиатр отделения муковисцидоза³

Шерман Виктория Давидовна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр., научно-клинический отдел муковисцидоза¹; врач-педиатр отделения муковисцидоза³

Кондратьева Елена Ивановна – д-р мед. наук, профессор, заведующая научно-клиническим отделом муковисцидоза¹; заведующая отделением муковисцидоза³

Черных Вячеслав Борисович – д-р мед. наук, руководитель лаборатории генетики нарушений репродукции¹; доцент кафедры молекулярной и клеточной генетики медико-биологического факультета⁴

Актуальность. Муковисцидоз (МВ) – частое наследственное заболевание, обусловленное мутациями в гене *CFTR*, характеризующееся прогрессирующим течением и мультисистемным поражением (в первую очередь пищеварительной и/или легочной систем). У большинства мужчин с МВ диагностируют бесплодие. С появлением новых возможностей терапии увеличилась продолжительность жизни при МВ, что актуализировало вопросы репродукции.

Цель – комплексная оценка состояния репродуктивной системы и фертильности у мужчин с муковисцидозом, а также совершенствование тактики решения вопросов репродукции.

Материал и методы. В когортное проспективное исследование в период с 2006 по 2018 г. включен 81 российский неродственный мужчина в возрасте от 15 до 69 лет (средний возраст 25,6±7,9 года) с подтвержденным диагнозом МВ, из них 42 с легочной (E84.0) и 39 со смешанной (E84.8) формой МВ. Выполнено клиническое, андрологическое и лабораторно-инструментальное обследование (ультразвуковое исследование органов мошонки, стандартное и биохимическое спермиологическое исследование эякулята и гормональное исследование).

Результаты. Выявлена гетерогенность нарушений репродуктивной системы и сперматологических изменений при МВ: от сохранной фертильности до бесплодия. Отмечены следующие андрологические нарушения: позднее наступление пубертата (48%), урологическая патология (26%), одно-/двусторонняя гипоплазия яичек (42%), диффузные изменения и кисты придатка яичка (70%), диффузные изменения/кальцинаты предстательной железы (50%), сниженная концентрация тестостерона (24,2%). Азооспермия диагностирована у 87,5% пациентов. Умеренно тяжелые или «легкие» формы патозооспермии, представленные олиго-/астено-/тератозооспермией, регистрировали у 11,1%, нормозооспермию – у 1,4% пациентов. Между группами пациентов с легочной и смешанной формой МВ обнаружены статистически значимые отличия по объему эякулята (1,4±1,5 против 0,6±0,5 мл; $p=0,006$), pH эякулята (6,7±0,7 против 6,1±0,4 ед.; $p<0,0001$) и концентрации сперматозоидов (19,6±56 против

0,001±0,008 млн/мл; $p=0,011$). Нормальный объем эякулята чаще отмечали (21,5 против 14,7%; $p>0,05$) у пациентов в возрасте до 25 лет. У 71,4% пациентов, имеющих генетический вариант 3849+10kbC>T (с.3718-2477C>T), выявлено сохранение проходимости семявыносящих путей. Обнаружено статистически значимое различие ($p<0,00001$) по частоте генетического варианта 3849+10kbC>T гена *CFTR* между мужчинами с обструкцией (9,5%) и без обструкции (93,8%) семявыносящих путей. Разработан алгоритм решения проблемы бесплодия (в том числе с помощью методов вспомогательных репродуктивных технологий) у мужчин с МВ в зависимости от статуса фертильности/наличия и формы патозооспермии и некоторых других факторов, влияющих на наступление беременности и риск МВ у потомства, а также предложены практические рекомендации по андрологическому обследованию и сохранению репродуктивного здоровья и планированию деторождения. **Заключение.** Пациенты мужского пола с МВ нуждаются в комплексном обследовании репродуктивной системы. Прогноз в отношении репродуктивной функции, тактика сохранения репродуктивного здоровья и решение вопроса о деторождении зависит от формы МВ, генотипа по гену *CFTR*, сперматологических нарушений и возраста пациента. Легочная форма, генетический вариант 3849+10kbC>T (с.3718-2477C>T) гена *CFTR* и молодой возраст относятся к факторам возможного сохранения проходимости семявыносящих путей и фертильности у мужчин с МВ.

Ключевые слова: муковисцидоз, ген *CFTR*, мужское бесплодие, обструктивная азооспермия

Для цитирования: Репина СА, Красовский СА, Шмарина ГВ, Штаут МИ, Жекайте ЕК, Воронкова АЮ, Шерман ВД, Кондратьева ЕИ, Черных ВБ. Состояние репродуктивной системы и алгоритм решения вопроса деторождения у мужчин с муковисцидозом. Альманах клинической медицины. 2019;47(1):26–37. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-001.

Поступила 12.10.2018; принята к публикации 11.01.2019; опубликована 31.01.2019

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; 115522, г. Москва, ул. Москворечье, 1, Российская Федерация

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии Федерального медико-биологического агентства»; 105077, г. Москва, ул. 11-я Парковая, 32/4, Российская Федерация

³ ГБУЗ МО «Московский областной консультативно-диагностический центр для детей»; 141009, Московская область, г. Мытищи, ул. Коминтерна, 24а/1, Российская Федерация

⁴ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России; 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1, Российская Федерация



Муковисцидоз (МВ) – одно из наиболее частых моногенных заболеваний в европейских популяциях. В европейской части Российской Федерации его частота составляет около 1:10 000 [1]. Заболевание характеризуется прогрессирующим течением с поражением различных органов и систем, включая репродуктивную систему. Согласно современной классификации выделяют две его формы: легочную (МВ с сохранной функцией поджелудочной железы, E84.0) и смешанную (МВ с панкреатической недостаточностью с осложнениями и без них, E84.8) [1].

Причиной развития МВ выступают мутации гена *CFTR* (англ. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), кодирующего белок – муковисцидозный трансмембранный регулятор проводимости [2–6]. По тяжести клинических проявлений мутации в гене *CFTR* подразделяют на «тяжелые» (с нарушением внешнесекреторной функции поджелудочной железы) и «мягкие». Наиболее распространенным патогенным вариантом гена *CFTR* признан F508del (с.1521_1523delCTT), в России его частота варьирует в диапазоне 33,8–53,5% от общего числа аллелей мутантного хромосом [1, 3, 7, 8]. Генетический вариант 3849+10kbC->T (с.3718-2477C>T) относится к «мягким», его частота в России равняется 1,7–3,2% среди всех патогенных вариантов гена *CFTR* [7–9], у взрослых пациентов с МВ этот показатель достигает 5,33% и занимает третье место после F508del (с.1521_1523delCTT) и CFTRdels2,3 (с.54-5940_273+10250del21kb) [1]. У мужчин, являющихся компаунд-гетерозиготами по данному патогенному варианту в сочетании с мутацией гена *CFTR*, в том числе с «тяжелой», может быть сохранена проходимость семявыносящих путей и репродуктивная функция [9–14].

У большинства мужчин с МВ диагностируют бесплодие, что в первую очередь связано с двусторонним нарушением проходимости семявыносящих путей и, как следствие, обструктивной азооспермией. Помимо этого у пациентов с МВ нарушение фертильности может быть обусловлено различными факторами, имеющими широкий этиологический спектр [10, 15–17], как то: негативными эффектами, вызванными нарушением функции белка МВТР/мутациями гена *CFTR*, на репродуктивную систему; отрицательными воздействиями от поражения экстрагенитальных органов и систем; побочными эффектами от приема лекарственных препаратов (антибиотики, гормональные препараты и др.); этиопатогенетически несвязанными с МВ причинами

и факторами, влияющими на репродуктивную систему.

У мужчин с МВ отмечаются различные нарушения репродуктивной системы: задержка полового созревания, бесплодие, гипогонадизм и гипоплазия тестикул и семенных пузырьков, нарушение проходимости семявыносящих путей и функции придаточных половых желез [10, 18–20]. Основным показателем состояния репродуктивной системы – фертильности. Ее можно оценить по наличию беременностей у супруги в анамнезе и/или по показателям спермограммы (отсутствию тяжелых форм патозооспермии, в частности азооспермии). В 97–98% случаев мужчины, страдающие МВ, бесплодны вследствие двустороннего отсутствия/аплазии семявыносящих протоков – vas deferens, семенных пузырьков, что проявляется обструктивной азооспермией [10, 16]. Синдром CBAVD (англ. congenital bilateral absence of the vas deferens – врожденное двустороннее отсутствие семявыносящего протока) может выступать как одно из проявлений классической или атипичных форм МВ, то есть встречается изолированно от других симптомов МВ («генитальная» форма МВ), или как самостоятельное заболевание [10, 21–22]. У мужчин мутации гена *CFTR* могут быть причиной снижения количества и качества мужских гамет [23–25].

В связи с недостаточной изученностью вопросов, касающихся нарушений фертильности и патологии органов репродуктивной системы у мужчин с МВ, актуальным представляется выявление клинических, генетических, спермиологических корреляций у пациентов с МВ. Алгоритмы, тактика ведения и решение проблем репродукции у таких пациентов нуждаются в разработке.

Цель настоящей работы – оценить состояние репродуктивной системы и фертильности у мужчин в зависимости от формы МВ, генотипа по гену *CFTR* и возраста пациентов, а также совершенствование тактики решения вопросов репродукции.

Материал и методы

В когортное проспективное исследование включали пациентов мужского пола в возрасте от 15 лет и старше с подтвержденным диагнозом МВ или подозрением на МВ, госпитализированные в период с 2006 по 2018 г. в ГБУЗ «ГКБ им. Д.Д. Плетнева ДЗМ» (ГКБ № 57 ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России) и направленные на обследование в ФГБНУ «МГНЦ». Критериями невключения были возраст пациента менее 15 лет, отсутствие возможности самостоятельно приехать в ФГБНУ «МГНЦ», неспособность сдать биоматериал для спермиологического исследования. Пациент

исключался из исследования, если в его ходе диагноз МВ не подтверждался.

Работа выполнена в период с 2015 по 2018 г. на кафедре молекулярной и клеточной генетики медико-биологического факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России на базе ФГБНУ «МГНЦ». Проведение настоящего исследования одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (протокол № 152 от 15 февраля 2016 г.). Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на проведение исследования (в случае несовершеннолетних информированное согласие получено у их родителей).

Всего обследован 81 российский неродственный мужчина в возрасте от 15 до 69 лет (средний возраст $25,6 \pm 7,9$ года) с подтвержденным диагнозом МВ, из них 42 пациента имели легочную форму МВ и 39 – смешанную. Всем пациентам проведено клиническое обследование, выполнено ультразвуковое исследование (УЗИ) органов мочеполовой системы, стандартное спермиологическое исследование и биохимический анализ эякулята, определение уровня гормонов в сыворотке крови.

Клинико-генеалогический метод. Клиническое обследование включало анамнестическое и генеалогическое исследование и осмотр. На каждого больного заполняли генетическую карту со специально разработанным для исследования опросным листом, состоявшим из 33 вопросов, касающихся анамнеза; выясняли наличие у пациентов вредных привычек, негативных факторов окружающей среды и профессиональных вредностей, а также андрологический статус. Пациентам проводили антропометрию с измерением роста и веса и последующим определением индекса массы тела (ИМТ) по формуле: вес (кг)/рост (м)². ИМТ в диапазоне от 18,5 до 24,99 принимали за норму. Степень зрелости полового развития оценивали согласно критериям, предложенным Таннером [26].

УЗИ органов мочеполовой системы. УЗИ яичек и их придатков выполняли при помощи ультразвукового аппарата Aloka ProSound SSD- α 10 (Hitachi Aloka, Япония) с использованием линейного датчика с частотой 10 МГц. Оценивали морфологическое состояние органов мошонки и визуализацию вен семенного канатика с измерением их диаметра, определяли размеры, объем, эхоструктуру яичка и придатка. За нормальный размер яичка принимали объем 12 см³ и более. Трансректальное ультразвуковое сканирование (ТРУЗИ) предстательной железы и семенных пузырьков выполняли при помощи аппарата Medison SA 9900 (Южная Корея) с использованием линейного датчика Prime

5–12 МГц. При ультразвуковом сканировании определяли объем, структуру и симметричность долей, дифференцировку структурных элементов железы, состояние семенных пузырьков, вентрикулярной кровотоков.

Спермиологическое исследование и биохимический анализ эякулята (фруктоза, лимонная кислота, α -гликозидаза) выполняли согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (2010) [27].

Определение уровня гормонов в сыворотке крови. Концентрацию тестостерона в плазме определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора Diagnostic Biochem Canada Inc. (Канада) согласно рекомендациям производителя. Гипогонадизм диагностировали при снижении уровня общего тестостерона крови менее 3 нг/мл.

Молекулярно-генетическое исследование гена CFTR выполняли на геномной ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови. На первом этапе анализировали частые мутации, в случае не обнаружения мутации проводили секвенирование ДНК по Сэнгеру или с использованием технологии массового параллельного секвенирования.

В качестве *основного показателя мужской фертильности при МВ* оценивали наличие/отсутствие сперматозоидов в эякуляте (наличие/отсутствии азооспермии), а также определяли такие спермиологические показатели, как объем эякулята, концентрация и общее количество сперматозоидов, уровень pH и фруктозы. Данный показатель оценки фертильности признан безопасным, эффективным и экономически приемлемым.

Дополнительными ожидаемыми результатами исследования были гетерогенность нарушения фертильности и поражения органов репродуктивной системы у мужчин с МВ, зависимость частоты и тяжести нарушений от формы МВ и генотипа по гену CFTR. Среди других показателей отметим изменения гормонального статуса (снижение тестостерона), морфологические и структурные изменения при УЗИ органов мошонки (кисты яичка и придатка).

Анализ в подгруппах. В зависимости от сохранности функции поджелудочной железы (формы МВ) обследованные пациенты разделены на две группы: с легочной (n=42) и смешанной (n=39) формами МВ. Для оценки влияния возрастного фактора проводили сравнительный анализ состояния репродуктивной системы и ее нарушений в возрастных группах «до 25 лет» и «25 лет и старше». При исследовании гено-фенотипических корреляций проведен сравнительный анализ



нарушений фертильности у пациентов с МВ с наличием генетического варианта 3849+10kbC>T и пациентов с МВ, не имеющих данной мутации в генотипе.

Статистический анализ результатов выполняли с использованием программы StatSoft Statistica 8 (StatSoft inc., США). Количественные показатели представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений ($M \pm SD$). Сравнение количественных данных в двух группах проводили с использованием U-критерия Манна – Уитни. Качественные показатели сравнивали с помощью точного критерия Фишера. Статистически значимым был принят уровень вероятности ошибки первого рода $p < 0,05$.

Результаты

Участники исследования

В группе пациентов с легочной формой МВ ($n = 42$) средний возраст составил $27,1 \pm 9,8$ года, со смешанной формой – $24,1 \pm 4,7$. Статистически значимых различий по данному показателю между группами не выявлено ($p = 0,352$, U-критерий Манна – Уитни).

На момент обследования в зарегистрированном или гражданском браке состояли 52% (39 из 75) взрослых пациентов. У супруг 8 пациентов беременность наступила самостоятельно, родились здоровые (без МВ) дети. У 4 пациентов (3 из них с легочной формой МВ), имевших азоосперию, проведена успешная тестикулярная биопсия, в результате программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО/ICSI) у их супруг наступила беременность и родились здоровые (без МВ) дети. Беременность наступила у супруги еще одного пациента со смешанной формой азооспермии после проведения процедуры ЭКО/ICSI.

Сперматологическое обследование

Стандартное сперматологическое исследование выполнено у 72 пациентов с МВ. Тяжелые формы патозооспермии, представленные азооспермией / криптозооспермией, обнаружены у 87,5% (63 из 72) обследованных мужчин с МВ. Нормозооспермия или «мягкие» / «умеренно тяжелые» формы патозооспермии, представленные олиго- / астено- / тератозооспермией, выявлены у 9 (12,5%) пациентов. Олигоспермия (объем эякулята менее 1,5 мл, то есть ниже нормативных показателей) диагностирована у 57 (80,3%) пациентов. Кислотность эякулята в 82,7% образцов составляла меньше нормы ($pH < 7,2$). Повышенная вязкость (от 30 мм и более) определена в 23% образцах семенной жидкости. Концентрация лейкоцитов в 79

(96,3%) образцах эякулята находилась в пределах нормативных значений.

Биохимическое исследование семенной жидкости выполнено у 27 пациентов, в том числе у 12 мужчин с легочной и у 15 со смешанной формой МВ. У остальных пациентов биохимическое исследование не проведено вследствие недоступности биологического материала или малого объема эякулята. Низкое количество фруктозы, α -глюкозидазы и лимонной кислоты обнаружено в 96, 73 и 50% образцов семенной жидкости соответственно.

Половой статус

У всех обследованных мужчин с МВ развитие половых органов соответствовало возрасту и мужскому полу. Признаков врожденных пороков развития наружных половых органов отмечено не было. Средний возраст наступления пубертата составил $15 \pm 1,5$ года, у 48% обследованных выявлено позднее начало полового созревания (14–16 лет). Задержку пубертата чаще регистрировали при смешанной (57%), чем при легочной (31%) форме МВ.

У 21 (25,6%) пациента в анамнезе были паховая грыжа ($n = 6$), крипторхизм ($n = 1$), крипторхизм и паховая грыжа ($n = 1$), гидроцеле и паховая грыжа ($n = 2$), выраженная гипоплазия яичек ($n = 1$), перекрут яичка ($n = 1$), фимоз ($n = 2$), гидроцеле ($n = 3$), варикоцеле ($n = 3$), фимоз и варикоцеле ($n = 1$).

Молекулярно-генетическое исследование гена CFTR

Молекулярно-генетическое исследование выполнено у 81 пациента. Патогенные варианты гена CFTR обнаружены в 162 из 162 (100%) проанализированных аллелей. Выявлены следующие патогенные варианты гена CFTR: F508del (с.1521_1523delCTT; 48%), 3849+10kbC>T (с.3718-2477C>T; 3%), CFTRdele2,3 (с.54-5940_273+10250del21kb; 6,2%), E92K (с.274G>A; 4,9%), 2789+5G>A (с.2657+5G>A; 2,5%), L138ins (с.413_415dupTAC; 1,9%), N1303K (с.3909C>G; 1,9%), W1282X (с.3846G>A; 1,9%), 1677delTA (с.1545_1546delTA; 1,9%) и 3272-16T>A (с.3140-16T>A; 1,9%). Спектр и частота генетических вариантов исследованной выборки пациентов в целом соответствовали взрослым российским больным с МВ [1].

Изменения органов репродуктивной системы

Данные ультразвукового обследования органов мошонки, семенных пузырьков и предстательной железы. УЗИ органов мошонки

проведено у 43 пациентов, ТРУЗИ – у 2, абдоминальное УЗИ – у 8. Средний объем яичек составил $26,2 \pm 8,2$ см³. Одно- или двусторонняя гипоплазия яичек диагностирована у 18 (42%) пациентов. Морфологические изменения органов мошонки отмечены у 30 из 43 (70%) обследованных. По данным УЗИ органов мошонки выявлены диффузные изменения и кисты придатка яичка (53,5%), объемные образования яичка (9,3%), другая патология органов мошонки (варикоцеле, гидроцеле, выраженная гипоплазия яичка с нарушением его структуры) (7%). При ТРУЗИ и УЗИ предстательной железы у 5 из 10 обследованных обнаружены кальцинаты / петрификаты, у 3 из 10 – диффузные изменения простаты. У обоих мужчин, которым выполнено ТРУЗИ семенных пузырьков, наблюдалось уменьшение их размеров (гипоплазия) без изменения структуры.

Уровень общего тестостерона. Исследование уровня общего тестостерона в сыворотке крови выполнено у 62 пациентов, в том числе у 24 с легочной и 38 со смешанной формой МВ. Средний уровень тестостерона составил $4,6 \pm 1,9$ нг/мл (норма 3–12 нг/мл). Нормальный показатель общего тестостерона был у 47 (75,8%) пациентов, сниженный – у 15 (24,2%).

Состояние репродуктивной системы в зависимости от формы муковисцидоза, *CFTR*-генотипа и возраста

Обнаружено существенное различие по структуре сперматологических диагнозов между пациентами с разными формами МВ. Олигоспермия, низкие значения рН (менее 7,2), отсутствие сперматозоидов или их крайне низкая концентрация

(менее 0,5 млн/мл) в эякуляте статистически значимо ($p < 0,05$) чаще регистрировали в группе мужчин со смешанной формой МВ (табл. 1).

При сравнении показателей возраста наступления пубертата, ИМТ, биохимических маркеров семенной жидкости, объема тестикул, уровня тестостерона и частоты сниженного его уровня статистически значимых различий между группами пациентов с легочной и смешанной формой МВ не выявлено ($p > 0,05$). Изменения объема тестикул и структурные изменения органов мошонки обнаружены у 92,6% пациентов со смешанной формой МВ и 81,3% больных с легочной формой, однако различия не достигли уровня статистической значимости ($p = 0,82$).

В обследованной выборке 21 пациент был носителем генетического варианта 3849+10kbC>T, характерного для легочной формы МВ. У 8 из 21 (38%) пациента с легочной формой МВ, являвшихся компаунд-гетерозиготами по патогенному варианту 3849+10kbC>T, в анамнезе отмечено наступление беременности у партнерш, что свидетельствует о сохраненной ранее фертильности. Таким образом, у 71,4% обследованных нами мужчин с МВ, имеющих генетический вариант 3849+10kbC>T, зарегистрировано сохранение проходимости семявыносящих путей (беременности у партнерш в анамнезе, отсутствие азооспермии при сперматологическом обследовании). Выявлено статистически значимое различие ($p < 0,00001$) по частоте патогенного варианта 3849+10kbC>T между мужчинами с обструкцией семявыносящих путей (9,5%) и без обструкции (93,8%).

Для оценки влияния возрастного фактора на состояние репродуктивной системы исследованную выборку пациентов, обследованных сперматологически, разделили на две возрастные группы: «до 25 лет» ($n = 38$) и «25 лет и старше» ($n = 34$). У мужчин более старшего возраста наблюдалась тенденция к более выраженным сперматологическим нарушениям (нормальный объем эякулята выявлен у 8 (21,1%) и 5 (14,7%) пациентов 1-й и 2-й групп соответственно), однако межгрупповые различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$).

Обсуждение

Выбор цели настоящего исследования обусловлен сохранностью фертильности у некоторых мужчин с МВ, а также отсутствием тактики репродуктологического обследования и решения проблем деторождения у мужчин с МВ в зависимости от формы заболевания, генотипа по гену *CFTR*, статуса фертильности и сперматологических

Таблица 1. Сперматологические показатели, по которым выявлены статистически значимые различия между группами пациентов с легочной и смешанной формой муковисцидоза

Параметр	Форма муковисцидоза		Значение <i>p</i>
	легочная ($n = 35$)	смешанная ($n = 37$)	
Частота азооспермии / криптозооспермии, %	76,5	100	0,0008*
Объем эякулята ($M \pm SD$), мл; $N \geq 1,5$ мл	$1,4 \pm 1,5$	$0,6 \pm 0,5$	0,0006**
Концентрация сперматозоидов ($M \pm SD$), млн/мл; $N \geq 15$ млн/мл	$19,6 \pm 56$	$0,001 \pm 0,008$	0,012**
рН эякулята ($M \pm SD$); $N = 7,2-7,8$	$6,7 \pm 0,7$	$6,1 \pm 0,4$	$< 0,0001$ **

N – норма

* Точный критерий Фишера

** U-критерий Манна – Уитни



изменений. В нашей работе мы впервые оценили состояние репродуктивной системы и фертильности у мужчин с МВ на крупной выборке ($n = 81$).

Мы выявили гетерогенность андрологических и сперматологических нарушений у больных МВ. Показано, что легочная форма МВ характеризуется различными формами патозооспермии (87,5% пациентов имели азооспермию, 13,5% – другие формы патозооспермии или нормозооспермию). У 100% мужчин со смешанной формой МВ диагностирована обструктивная азооспермия. Характерными сперматологическими признаками нарушения фертильности у мужчин с МВ были азооспермия, олигоспермия, низкие значения pH и фруктозы эякулята. Все пациенты с сохраненной проходимостью семявыносящих протоков имели в генотипе патогенный вариант 3849+10kbC>T. В предыдущих исследованиях отмечено сохранение фертильности у некоторых пациентов с МВ, в частности, имеющих в генотипе данный патогенный вариант, однако нами впервые показано на большой выборке пациентов с комплексным обследованием репродуктивной системы, что у носителей патогенного варианта 3849+10kbC>T фертильность сохранена в 71,4%.

Среди ограничений настоящего исследования можно назвать относительно небольшую выборку пациентов при сравнении двух групп в зависимости от формы МВ: легочной ($n = 42$) и смешанной ($n = 39$). Не всем пациентам было проведено биохимическое исследование эякулята вследствие малого объема семенной жидкости. На выводы могло повлиять количество носителей патогенного варианта 3849+10kbC>T в исследованной выборке и в подгруппе с легочной формой МВ, однако частота данного варианта примерно соответствовала таковой среди взрослых российских пациентов, согласно Регистру больных МВ в Российской Федерации (2016) [1].

Полученные нами результаты и данные других исследований свидетельствуют о том, что у большинства мужчин с МВ нарушена фертильность вследствие азооспермии. Бесплодие у мужчин с МВ обычно вызвано обструкцией семявыносящих протоков и характеризуется азооспермией, олигоспермией (объем эякулята менее 1,5 мл), pH менее 7,0 и низким или неопределяемым значением фруктозы в эякуляте [16, 28–30]. Выявленное различие в частоте азооспермии у пациентов с МВ между обследованной нами выборкой (87,5%) и данными литературы (98%), возможно, обусловлено особенностями нашей выборки: молодым возрастом многих пациентов, относительно более частой представленностью патогенного варианта гена *CFTR*

3849+10kbC>T. Следует отметить, что бесплодие может быть и у мужчин с МВ без азооспермии/обструкции семявыносящих путей. Нарушение репродуктивной функции у них может быть следствием дефектов сперматогенеза, снижения количественных и/или качественных показателей сперматозоидов в семенной жидкости или других факторов, влияющих на мужскую фертильность.

Мы показали, что на сохранение проходимостью семявыносящих путей существенно влияет клиническая форма МВ. Так, пациенты со смешанной формой МВ (с поражением поджелудочной железы) имели азооспермию/криптозооспермию. Другие сперматологические заключения отмечены только у пациентов с легочной формой МВ. А наиболее «мягкие» формы патозооспермии или нормозооспермии наблюдались лишь у пациентов, имеющих генетический вариант 3849+10kbC>T. Данный патогенный вариант характерен для легочной формы МВ, он редко встречается при синдроме двусторонней аплазии семявыносящих протоков (CBAVD), в большинстве случаев обусловлен мутациями гена *CFTR*. Наличие единичных сперматозоидов (криптозооспермия) у многих пациентов с МВ свидетельствует о том, что в патогенезе поражения семявыносящих протоков при МВ имеет место не агенезия, а аплазия семявыносящих протоков с потерей их проходимостью. В работах других авторов обнаружена сохранность семенных пузырьков у мальчиков с МВ, в то время как аплазия/гипоплазия семявыносящих протоков и их производных – семенных пузырьков – присутствует у 97–98% взрослых мужчин с МВ и у 80% пациентов с CBAVD [18, 31, 32]. Вместе с тем остается открытым вопрос о таких факторах, как механизм и динамика аплазии семявыносящих протоков и семенных пузырьков.

Отсутствие аномалий формирования пола у пациентов с МВ говорит о том, что мутации в гене *CFTR* не влияют на дифференцировку пола и морфогенез органов репродуктивной системы [10, 23]. Частыми изменениями при МВ являются одно-/двусторонняя гипоплазия яичек, морфологические изменения органов мошонки (диффузные изменения придатков и кисты придатков и/или яичек). В ряде публикаций [31] описаны изменения размеров и структуры органов мошонки у взрослых мужчин с МВ, однако другие авторы [28] регистрировали нормальный объем яичек. Одно из негативных воздействий МВ на половую систему у мальчиков-подростков – задержка полового созревания в среднем на 1–1,5 года [18]. В нашем исследовании задержка



Таблица 2. Методы исследования состояния репродуктивной системы у мужчин с муковисцидозом

Метод	Условия и периодичность обследования	Особые указания
Клиническое обследование		
Анамнестическое и генеалогическое исследование, осмотр	Подростки в возрасте от 14 лет (с пубертата)	Для несовершеннолетних – с письменного согласия родителя(ей)
Лабораторно-инструментальное обследование		
Ультразвуковое исследование органов мошонки	При признаках гипоплазии яичек, структурных изменений органов мошонки – контрольное ультразвуковое исследование в динамике, 1 раз в год	При наличии объемных образований в мошонке: магнитно-резонансная томография мошонки, онкомаркеры (альфа-фетопротеин, хорионический гонадотропин человека, лактатдегидрогеназа), консультация андролога-уролога
Стандартное и биохимическое спермиологическое исследование	Для несовершеннолетних – с письменного согласия родителя(ей). Рекомендованный срок для сдачи анализа – половое воздержание 3–5 дней	При сохранении проходимости семявыносящих протоков – контрольное исследование в динамике, 1 раз в год. В случае ухудшения показателей спермограммы – криоконсервация сперматозоидов
Исследование гормонов (тестостерон) в сыворотке крови	Утром натощак. Повторное исследование в динамике (по мере необходимости)	При гипогонадизме – консультация эндокринолога с решением вопроса о гормонзаместительной терапии

полового созревания наблюдалась не у всех пациентов, а ее встречаемость у мальчиков-подростков с МВ зависела от формы МВ, генотипа (поздний пубертат более характерен для пациентов со смешанной формой МВ), тяжести клинических проявлений МВ, в частности низкого ИМТ (при гипотрофии метаболизм стероидных гормонов замедляется) [10, 18]. Снижение уровня тестостерона отмечено у 28% взрослых мужчин с МВ, не обнаружено корреляции уровня гормонов с низкой массой тела [33]. Вопрос о гормонзаместительной терапии у пациентов с МВ остается открытым.

Очевидно, что возрастной фактор негативно влияет на состояние репродуктивной системы многих пациентов с нарушением фертильности, в том числе у мужчин с МВ. Так, у более молодых мужчин с МВ чаще наблюдали мягкие формы патозооспермии или нормозооспермию, а также нормальный объем эякулята, свидетельствующие о сохранной проходимости семявыносящих путей и секреторной функции половых желез, в частности семенных пузырьков. Негативные изменения в спермограмме в динамике также указывают на ухудшение ее показателей с возрастом [34]. Однако в нашем исследовании различия в объеме эякулята и частоте мягких форм патозооспермии в двух возрастных группах не достигли уровня статистической значимости.

Рекомендации по репродуктологическому обследованию мужчин и мальчиков-подростков с муковисцидозом

Основываясь на собственных данных и результатах исследований других авторов, мы разработали рекомендации по обследованию и клиническому ведению мужчин и мальчиков-подростков с МВ. Таким пациентам с целью оценки органов половой системы и фертильности рекомендуется проведение комплексного обследования состояния репродуктивной системы. Методы, условия и периодичность проведения данного обследования отражены в табл. 2.

Репродуктологическое обследование необходимо проводить у мальчиков-подростков в возрасте 15–18 лет и у молодых мужчин с МВ [21, 28, 30, 35].

Подходы к решению вопроса о репродукции у мужчин с муковисцидозом

Несмотря на высокую частоту нарушения репродуктивной системы и фертильности, многие пациенты с МВ, в том числе мужчины, могут иметь собственное потомство. Пациентам с МВ необходимо рекомендовать раннее решение вопроса репродукции, заблаговременное и по возможности раннее планирование беременности естественным путем или с помощью методов вспомогательных



репродуктивных технологий (при необходимости их применения).

При сохраненной фертильности, с целью профилактики передачи МВ потомству, необходимо рекомендовать использование контрацептивов, своевременное генетическое тестирование супругов на носительство патогенных вариантов гена *CFTR* и медико-генетическое консультирование при планировании беременности. В случае сохранной проходимости семявыносящих путей / отсутствия азооспермии у мужчин и мальчиков-подростков с МВ в репродуктивном плане актуальны криоконсервация и хранение сперматозоидов для последующего их использования в программах экстракорпорального оплодотворения (ЭКО / ICSI). Это позволяет сохранить возможность репродукции у мужчин с МВ с помощью ЭКО / ICSI, не прибегая к тестикулярной биопсии.

Супруге больного с МВ при планировании беременности следует выполнить генетическое обследование на носительство патогенных вариантов гена *CFTR*. В случае обнаружения патогенных вариантов необходимо медико-генетическое консультирование и решение вопроса о проведении преимплантационной генетической диагностики МВ. У мужчин с МВ, имеющих нарушение проходимости семявыносящих путей и/или тяжелые формы патозооспермии, в частности азооспермию, решение проблемы деторождения возможно с помощью биопсии тестикул с последующим их использованием для искусственного оплодотворения методом ЭКО / ICSI.

На рисунке представлена схема обследования и тактика решения вопроса репродукции у мужчин с МВ в зависимости от сохранения фертильности и тяжести сперматологических изменений (форм патозооспермии).

Сперматологический анализ – одно из ключевых репродуктологических обследований у мужчин, включая больных МВ. Прогноз возможности деторождения и дальнейшая тактика решения вопроса репродукции могут быть определены уже на основании его результатов. Так, в зависимости от сперматологических изменений (форм патозооспермии или наличия нормозооспермии) пациенты могут быть условно разделены на три группы (см. рисунок). Пациентам, имеющим наиболее тяжелые формы патозооспермии (азооспермию или олигозооспермию тяжелой степени), с целью получения сперматозоидов может быть рекомендовано выполнение тестикулярной биопсии. При обнаружении сперматозоидов, пригодных для оплодотворения, показано их использование в программах ЭКО / ICSI. У пациентов, имеющих патозооспермию,

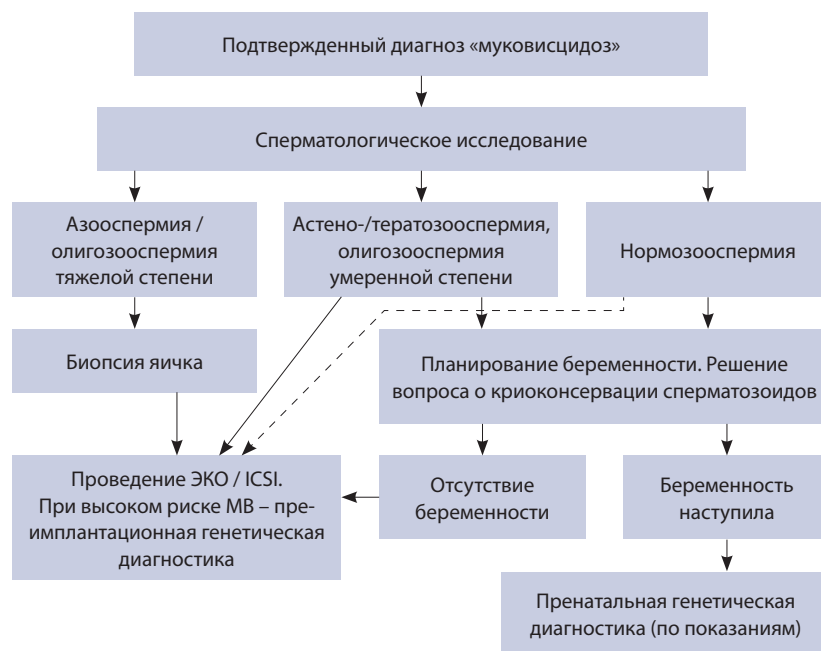


Схема решения вопроса репродукции (в том числе с помощью методов вспомогательных репродуктивных технологий) и планирования дородовой диагностики на муковисцидоз (МВ) у мужчин с МВ в зависимости от состояния фертильности / формы патозооспермии и ряда других факторов, влияющих на наступление беременности и риск МВ у потомства. Пунктирной линией указано проведение программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО / ICSI) у пациентов с нормозооспермией, супруги которых имеют нарушения фертильности и/или являются носителями мутации гена *CFTR* (высокий риск МВ). Преимплантационная и пренатальная диагностика показана при высоком риске МВ у потомства

не связанную с азооспермией / олигозооспермией тяжелой степени, выбор тактики планирования беременности и решения проблемы репродукции определяется исходя из выраженности нарушений репродуктивного здоровья у супругов и наличия показаний для преимплантационной генетической диагностики МВ. При высоком риске МВ у потомства, например, если супруга является носителем мутации гена *CFTR*, независимо от формы патозооспермии или наличия нормозооспермии, а также сохранной фертильности у пациента с МВ рекомендована соответствующая преимплантационная генетическая диагностика. В случае неудачи при получении пригодных гамет, низкого их качества следует рассмотреть вопрос об использовании донорских половых клеток.

Заключение

У большинства мужчин и мальчиков-подростков, страдающих МВ, встречаются различные нарушения органов репродуктивной системы. Основная причина мужского бесплодия при МВ – обструктивная форма азооспермии вследствие



двусторонней аплазии семявыносящих протоков и семенных пузырьков. Среди других андрологических факторов, нарушающих репродуктивное здоровье, следует отметить повышенную частоту гипоплазии и других изменений тестикул, придатков яичка, придаточных половых желез, склонность к развитию гипогонадизма. Ключевым нерешенным моментом следует признать гетерогенность поражения семявыносящих путей при различных генотипах по гену *CFTR*, в том числе при наличии «благоприятного» для сохранения фертильности генетического варианта 3849+10kbC>T, влияние модифицирующих факторов, а также возраста пациента.

Обследование состояния органов репродуктивной системы и оценка фертильности пациентов с МВ должны быть комплексными, а ведение пациентов – мультидисциплинарным (с участием врачей-андрологов/гинекологов, эндокринологов и генетиков). Тактика решения проблемы репродукции зависит от пола, состояния фертильности (обоих супругов), степени сперматологических

нарушений, возраста пациента и статуса носительства патогенных вариантов в гене *CFTR* у супруги. Использование пренатальной и преимплантационной диагностики позволяет осуществлять профилактику рождения больного ребенка у больных МВ и носителей. Мужчинам с МВ необходимо рекомендовать раннее решение вопроса о репродукции, а по возможности – криоконсервацию гамет, что позволяет избежать биопсии яичка и повышать результативность ЭКО.

Разработанные рекомендации по комплексному исследованию репродуктивной системы у мужчин с МВ и алгоритм решения вопроса деторождения внесены в «Национальный консенсус по муковисцидозу» и адресованы врачам разных специальностей, которые осуществляют медицинскую помощь пациентам с МВ, прежде всего генетикам, андрологам, гинекологам, репродуктологам, специалистам в области МВ и вспомогательных репродуктивных технологий. Полученные результаты внедрены в практику ФГБНУ «МГНЦ» и российских медицинских центров по МВ. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Исследование выполнено в рамках проведения диссертационной работы, финансирование осуществлялось ФГБНУ «МГНЦ» за счет средств на утвержденную научно-исследовательскую работу.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

С.А. Репина – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, проведение комплексного обследования пациентов, анализ полученных данных, статистическая обработка данных, написание текста; С.А. Красовский – сбор и обработка материала, проведение комплексного обследования пациентов; Г.В. Шмарина – сбор и обработка материала, проведение лабораторного исследования, анализ полученных данных, статистическая обработка данных; М.И. Штаут – сбор и обработка материала, проведение лабораторного исследования; Е.К. Жекайте, В.Д. Шерман и А.Ю. Воронкова – проведение комплексного обследования пациентов; Е.И. Кондратьева – дизайн

исследования, проведение комплексного обследования пациентов, организация проведения обследования; В.Б. Черных – концепция и дизайн исследования, проведение комплексного обследования пациентов, анализ и интерпретация результатов, написание и редактирование текста, утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность сотруднику ФГБУ «НИИЦ эндокринологии» д-ру мед. наук Роману Викторовичу Роживанову (гл. науч. сотр. отделения андрологии и урологии) за проведение ультразвукового исследования, сотрудникам ФГБНУ «МГНЦ» д-ру биол. наук Нике Валентиновне Петровой (вед. науч. сотр. лаборатории генетической эпидемиологии), канд. мед. наук Тагуи Аветиковне Адян (науч. сотр. лаборатории ДНК-диагностики) и д-ру биол. наук, профессору РАН Александру Владимировичу Полякову (руководитель лаборатории ДНК-диагностики) за проведение ДНК-диагностики мужчин с муковисцидозом.

Литература

1. Красовский СА, Черняк АВ, Воронкова АЮ, Амелина ЕЛ, Каширская НЮ, Кондратьева ЕИ, Гембицкая ТЕ, ред. Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2016 год. М.: Медпрактика-М; 2018. 64 с.
2. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell*. 1993;73(7):1251–4. doi: 10.1016/0092-8674(93)90353-R.
3. Капранов НИ, Каширская НЮ, ред. Муковисцидоз. М.: Медпрактика-М; 2014. 672 с.
4. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Ferenc C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros*. 2008;7(3):179–96. doi: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.
5. Pettit RS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-modifying medications: the future of cystic fibrosis treatment. *Ann Pharmacother*. 2012;46(7–8):1065–75. doi: 10.1345/aph.1R076.
6. Michl RK, Tabori H, Hentschel J, Beck JF, Mainz JG. Clinical approach to the diagnosis and treatment of cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Expert Rev Respir Med*. 2016;12:1–10. doi: 10.1080/17476348.2016.1240032.
7. Петрова НВ, Тимковская ЕЕ, Зинченко РА, Гинтер ЕК. Анализ частоты некоторых мутаций в гене CFTR в разных популяциях России. *Медицинская генетика*. 2006;5(2): 28–31.



8. Степанова АА, Красовский СА, Поляков АВ. Информативность поиска 19 частых мутаций в гене CFTR у российских больных муковисцидозом и расчетная частота заболевания в Российской Федерации. *Генетика*. 2016;52(2):231–41.
9. Красовский СА, Петрова НВ, Степанова АА, Усачева МВ, Самойленко ВА, Амелина ЕЛ, Никонова ВС. Клиническое течение заболевания у взрослых больных муковисцидозом – носителей «мягких» мутаций. *Пульмонология*. 2012;(6):5–11. doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-6-5-11.
10. Черных ВБ. Ген муковисцидоза и нарушение фертильности у мужчин. *Андрология и генитальная хирургия*. 2010;11(4):23–32.
11. Rowntree RK, Harris A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet*. 2003;67(Pt 5):471–85. doi: 10.1046/j.1469-1809.2003.00028.x.
12. Duguépéroux I, De Braekeleer M. The CFTR 3849+10kbC->T and 2789+5G->A alleles are associated with a mild CF phenotype. *Eur Respir J*. 2005;25(3):468–73. doi: 10.1183/09031936.05.10100004.
13. Feldmann D, Couderc R, Audrezet MP, Ferec C, Bienvenu T, Desgeorges M, Claustres M, Mittre H, Blayau M, Bozon D, Malinge MC, Monnier N, Bonnefont JP, Iron A, Bieth E, Dumur V, Clavel C, Cazeneuve C, Girodon E. CFTR genotypes in patients with normal or borderline sweat chloride levels. *Hum Mutat*. 2003;22(4):340. doi: 10.1002/humu.9183.
14. Mickle JE, Cutting GR. Genotype-phenotype relationships in cystic fibrosis. *Med Clin North Am*. 2000;84(3):597–607. doi: 10.1016/S0025-7125(05)70243-1.
15. Черных ВБ, Степанова АА, Бескорвайная ТС, Сорокина АМ, Шилейко ЛВ, Курило ЛФ, Поляков АВ. Частота и спектр мутаций и IVS8-T-полиморфизма гена CFTR среди российских мужчин с бесплодием. *Генетика*. 2010;46(6):844–52.
16. Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2005;10(1):14–41. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60801-2.
17. Chen H, Ruan YC, Xu WM, Chen J, Chan HC. Regulation of male fertility by CFTR and implications in male infertility. *Hum Reprod Update*. 2012;18(6):703–13. doi: 10.1093/humupd/dms027.
18. Blau H, Freud E, Mussaffi H, Werner M, Konen O, Rathaus V. Urogenital abnormalities in male children with cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 2002;87(2):135–8. doi: 10.1136/adc.87.2.135.
19. Radpour R, Gourabi H, Dizaj AV, Holzgreve W, Zhong XY. Genetic investigations of CFTR mutations in congenital absence of vas deferens, uterus, and vagina as a cause of infertility. *J Androl*. 2008;29(5):506–13. doi: 10.2164/jandrol.108.005074.
20. Chillón M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey MC, Ruiz-Romero J, Verlingue C, Claustres M, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med*. 1995;332(22):1475–80. doi: 10.1056/NEJM199506013322204.
21. Llabador MA, Pagin A, Lefebvre-Maunoury C, Marcelli F, Leroy-Martin B, Rigot JM, Mitchell V. Congenital bilateral absence of the vas deferens: the impact of spermatogenesis quality on intracytoplasmic sperm injection outcomes in 108 men. *Andrology*. 2015;3(3):473–80. doi: 10.1111/andr.12019.
22. Patat O, Pagin A, Siegfried A, Mitchell V, Chassaing N, Faguer S, Monteil L, Gaston V, Bujan L, Courtade-Saïdi M, Marcelli F, Lalau G, Rigot JM, Mieuisset R, Bieth E. Truncating mutations in the adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene ADGRG2 Cause an X-linked congenital bilateral absence of vas deferens. *Am J Hum Genet*. 2016;99(2):437–42. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.06.012.
23. Marcocelles P, Gillet D, Friocourt G, Ledé F, Samaison L, Huguen G, Ferec C. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein expression in the male excretory duct system during development. *Hum Pathol*. 2012;43(3):390–7. doi: 10.1016/j.humpath.2011.04.031.
24. Fok KL, Chen H, Ruan YC, Chan HC. Novel regulators of spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 2014;29:31–42. doi: 10.1016/j.semdcb.2014.02.008.
25. Xu WM, Chen J, Chen H, Diao RY, Fok KL, Dong JD, Sun TT, Chen WY, Yu MK, Zhang XH, Tsang LL, Lau A, Shi QX, Shi QH, Huang PB, Chan HC. Defective CFTR-dependent CREB activation results in impaired spermatogenesis and azoospermia. *PLoS One*. 2011;6(5):e19120. doi: 10.1371/journal.pone.0019120.
26. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: British children, 1965. I. *Arch Dis Child*. 1966;41(219):454–71.
27. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 5-е изд., 2010 г. Пер. с англ. М.: Капитал Принт; 2012. 304 с.
28. Rathaus V, Werner M, Freud E, Mei-Zahav M, Mussaffi H, Blau H. Sonographic findings of the genital tract in boys with cystic fibrosis. *Pediatr Radiol*. 2006;36(2):162–6. doi: 10.1007/s00247-005-0055-4.
29. Hubert D, Patrat C, Guibert J, Thiounn N, Bienvenu T, Viot G, Jouannet P, Epelboin S. Results of assisted reproductive technique in men with cystic fibrosis. *Hum Reprod*. 2006;21(5):1232–6. doi: 10.1093/humrep/dei453.
30. Chiang HS, Lin YH, Wu YN, Wu CC, Liu MC, Lin CM. Advantages of magnetic resonance imaging (MRI) of the seminal vesicles and intra-abdominal vas deferens in patients with congenital absence of the vas deferens. *Urology*. 2013;82(2):345–51. doi: 10.1016/j.urolgy.2013.03.038.
31. von Eckardstein S, Cooper TG, Rutscha K, Meschede D, Horst J, Nieschlag E. Seminal plasma characteristics as indicators of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia. *Fertil Steril*. 2000;73(6):1226–31. doi: 10.1016/S0015-0282(00)00516-1.
32. Thorpe-Beeston JG. Contraception and pregnancy in cystic fibrosis. *J R Soc Med*. 2009;102 Suppl 1:3–10. doi: 10.1258/jrsm.2009.s19002.
33. Leifke E, Friemert M, Heilmann M, Puvogel N, Smaczny C, von zur Muhlen A, Brabant G. Sex steroids and body composition in men with cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol*. 2003;148(5):551–7.
34. Штаут МИ, Шилейко ЛВ, Репина СА, Красовский СА, Шмарина ГВ, Сорокина ТМ, Курило ЛФ, Черных ВБ. Комплексное сперматологическое обследование пациентов с муковисцидозом. *Андрология и генитальная хирургия*. 2017;18(4):69–76. doi: 10.17650/2070-9781-2017-18-4-69-76.
35. Boyd JM, Mehta A, Murphy DJ. Fertility and pregnancy outcomes in men and women with cystic fibrosis in the United Kingdom. *Hum Reprod*. 2004;19(10):2238–43. doi: 10.1093/humrep/deh405.

References

1. Krasovskiy SA, Chernyak AV, Voronkova AY, Amelina EL, Kashirskaya NYu, Kondrat'eva El, Gembitskaya TE, editors. *The Russian Federation cystic fibrosis patient registry for 2016*. Moscow: Medpraktika-M; 2018. 64 p. Russian.
2. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell*. 1993;73(7):1251–4. doi: 10.1016/0092-8674(93)90353-R.
3. Kapranov NI, Kashirskaya NYu, editors. *Cystic fibrosis*. Moscow: Medpraktika-M; 2014. 672 p. Russian.
4. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael MB, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS. Consensus on the use and interpretation of cystic



- fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros.* 2008;7(3):179–96. doi: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.
5. Pettit RS. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-modifying medications: the future of cystic fibrosis treatment. *Ann Pharmacother.* 2012;46(7–8):1065–75. doi: 10.1345/aph.1R076.
6. Michl RK, Tabori H, Hentschel J, Beck JF, Mainz JG. Clinical approach to the diagnosis and treatment of cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Expert Rev Respir Med.* 2016;12:1–10. doi: 10.1080/17476348.2016.1240032.
7. Petrova NV, Timkovskaya EE, Zinchenko RA, Ginter EK. The analysis of CFTR mutation frequencies in different populations of Russia. *Medical Genetics.* 2006;5(2):28–31. Russian.
8. Stepanova AA, Krasovsky SA, Polyakov AV. Reliability of the search for 19 common mutations in the CFTR gene in Russian cystic fibrosis patients and the calculated frequency of the disease in Russian Federation. *Russian Journal of Genetics.* 2016;52(2):204–13. doi: 10.1134/S1022795416010130.
9. Krasovsky SA, Petrova NV, Stepanova AA, Usacheva MV, Samoilenko VA, Amelina EL, Nikonova VS. Clinical course of cystic fibrosis on adult patients carrying "mild" mutations. *Russian Pulmonology.* 2012;(6):5–11. Russian. doi: 10.18093/0869-0189-2012-0-6-5-11.
10. Chernykh VB. CFTR gene and male infertility. *Andrology and Genital Surgery.* 2010;11(4): 23–32. Russian.
11. Rowntree RK, Harris A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet.* 2003;67(Pt 5):471–85. doi: 10.1046/j.1469-1809.2003.00028.x.
12. Duguépéroux I, De Braekeleer M. The CFTR 3849+10kbC->T and 2789+5G->A alleles are associated with a mild CF phenotype. *Eur Respir J.* 2005;25(3):468–73. doi: 10.1183/09031936.05.10100004.
13. Feldmann D, Couderc R, Audrezet MP, Ferec C, Bienvenu T, Desgeorges M, Claustres M, Mitre H, Blayau M, Bozon D, Malinge MC, Monnier N, Bonnefont JP, Iron A, Bieth E, Dumur V, Clavel C, Cazeneuve C, Girodon E. CFTR genotypes in patients with normal or borderline sweat chloride levels. *Hum Mutat.* 2003;22(4):340. doi: 10.1002/humu.9183.
14. Mickle JE, Cutting GR. Genotype-phenotype relationships in cystic fibrosis. *Med Clin North Am.* 2000;84(3):597–607. doi: 10.1016/S0025-7125(05)70243-1.
15. Chernykh VB, Stepanova AA, Beskorovainaya TS, Sorokina TM, Shileiko LV, Kurilo LF, Polyakov AV. The frequency and spectrum of mutations and the IVS8-T polymorphism of the CFTR gene in Russian infertile men. *Russian Journal of Genetics.* 2010;46(6):750–7. doi: 10.1134/S1022795410060165.
16. Claustres M. Molecular pathology of the CFTR locus in male infertility. *Reprod Biomed Online.* 2005;10(1):14–41. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60801-2.
17. Chen H, Ruan YC, Xu WM, Chen J, Chan HC. Regulation of male fertility by CFTR and implications in male infertility. *Hum Reprod Update.* 2012;18(6):703–13. doi: 10.1093/humupd/dms027.
18. Blau H, Freud E, Mussaffi H, Werner M, Konen O, Rathaus V. Urogenital abnormalities in male children with cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* 2002;87(2):135–8. <http://dx.doi.org/10.1136/adc.87.2.135>.
19. Radpour R, Gourabi H, Dizaj AV, Holzgreve W, Zhong XY. Genetic investigations of CFTR mutations in congenital absence of vas deferens, uterus, and vagina as a cause of infertility. *J Androl.* 2008;29(5):506–13. doi: 10.2164/jandrol.108.005074.
20. Chillón M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey MC, Ruiz-Romero J, Verlingue C, Claustres M, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med.* 1995;332(22):1475–80. doi: 10.1056/NEJM199506013322204.
21. Llabador MA, Pagin A, Lefebvre-Maunoury C, Marcelli F, Leroy-Martin B, Rigot JM, Mitchell V. Congenital bilateral absence of the vas deferens: the impact of spermatogenesis quality on intracytoplasmic sperm injection outcomes in 108 men. *Andrology.* 2015;3(3):473–80. doi: 10.1111/andr.12019.
22. Patat O, Pagin A, Siegfried A, Mitchell V, Chassaing N, Faguer S, Monteil F, Gaston V, Bujan L, Courtade-Saïdi M, Marcelli F, Lalau G, Rigot JM, Mieuisset R, Bieth E. Truncating mutations in the adhesion G Protein-Coupled Receptor G2 Gene ADGRG2 Cause an X-linked congenital bilateral absence of vas deferens. *Am J Hum Genet.* 2016;99(2):437–42. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.06.012.
23. Marcotelles P, Gillet D, Friocourt G, Ledé F, Saimaison L, Huguen G, Ferec C. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein expression in the male excretory duct system during development. *Hum Pathol.* 2012;43(3):390–7. doi: 10.1016/j.humpath.2011.04.031.
24. Fok KL, Chen H, Ruan YC, Chan HC. Novel regulators of spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 2014;29:31–42. doi: 10.1016/j.semdcb.2014.02.008.
25. Xu WM, Chen J, Chen H, Diao RY, Fok KL, Dong JD, Sun TT, Chen WY, Yu MK, Zhang XH, Tsang LL, Lau A, Shi QX, Shi QH, Huang PB, Chan HC. Defective CFTR-dependent CREB activation results in impaired spermatogenesis and azoospermia. *PLoS One.* 2011;6(5):e19120. doi: 10.1371/journal.pone.0019120.
26. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaiishi M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: British children, 1965. I. *Arch Dis Child.* 1966;41(219): 454–71.
27. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th edition. WHO; 2010. 287 p.
28. Rathaus V, Werner M, Freud E, Mei-Zahav M, Mussaffi H, Blau H. Sonographic findings of the genital tract in boys with cystic fibrosis. *Pediatr Radiol.* 2006;36(2):162–6. doi: 10.1007/s00247-005-0055-4.
29. Hubert D, Patrat C, Guibert J, Thiounn N, Bienvenu T, Viot G, Jouannet P, Epelboin S. Results of assisted reproductive technique in men with cystic fibrosis. *Hum Reprod.* 2006;21(5): 1232–6. doi: 10.1093/humrep/dei453.
30. Chiang HS, Lin YH, Wu YN, Wu CC, Liu MC, Lin CM. Advantages of magnetic resonance imaging (MRI) of the seminal vesicles and intra-abdominal vas deferens in patients with congenital absence of the vas deferens. *Urology.* 2013;82(2):345–51. doi: 10.1016/j.urology.2013.03.038.
31. von Eckardstein S, Cooper TG, Rutscha K, Meschede H, Horst J, Nieschlag E. Seminal plasma characteristics as indicators of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia. *Fertil Steril.* 2000;73(6):1226–31. doi: 10.1016/S0015-0282(00)00516-1.
32. Thorpe-Beeston JG. Contraception and pregnancy in cystic fibrosis. *J R Soc Med.* 2009;102 Suppl 1:3–10. doi: 10.1258/jrsm.2009.s19002.
33. Leifke E, Friemert M, Heilmann M, Puvogel N, Smaczny C, von zur Muhlen A, Brabant G. Sex steroids and body composition in men with cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol.* 2003;148(5): 551–7.
34. Shtaut MI, Schileiko LV, Repina SA, Krasovsky SA, Shmarina GV, Sorokina TM, Kurilo LF, Chernykh VB. Comprehensive semen examination in patients with cystic fibrosis. *Andrology and Genital Surgery.* 2017;18(4): 69–76. Russian. doi: 10.17650/2070-9781-2017-18-4-69-76.
35. Boyd JM, Mehta A, Murphy DJ. Fertility and pregnancy outcomes in men and women with cystic fibrosis in the United Kingdom. *Hum Reprod.* 2004;19(10):2238–43. doi: 10.1093/humrep/deh405.



Reproductive system status and the algorithm to solve fertility issues in men with cystic fibrosis

S.A. Repina¹ • S.A. Krasovskiy^{1,2} • G.V. Shmarina¹ • M.I. Shtaut¹ • E.K. Zhekayte^{1,3} • A.Yu. Voronkova^{1,3} • V.D. Sherman^{1,3} • E.I. Kondratyeva^{1,3} • V.B. Chernykh^{1,4}

Rationale: Cystic fibrosis (CF) is a common hereditary disease related to the CFTR gene mutations and characterized by progression and multiple system involvement (primarily of the digestive tract and/or pulmonary system). Most men with CF are infertile. Due to new therapeutic options, the life expectancy of CF patients has increased, with reproductive issues becoming relevant. **Aim:** A multifaceted assessment of the reproductive system status and fertility in male patients with CF and improvement of the strategies to resolve their reproduction issues. **Materials and methods:** This cohort prospective study was performed 2006 to 2018 and included 81 unrelated Russian male patients with confirmed CF, aged from 15 to 69 years (mean age 25.6 ± 7.9 years). Forty two (42) patients had pancreatic sufficient and 39 pancreatic insufficient CF. The patients underwent clinical, andrological, laboratory and instrumental examination (scrotal ultrasonography, standard and biochemical semen examination and hormone levels). **Results:** Reproductive disorders and semen abnormalities found in CF patients varied from preserved fertility to infertility. The following andrological abnormalities were found: delayed puberty (48%), urological disorders (26%), uni- or bilateral testicular hypoplasia (42%), diffuse lesions and cysts of the epididymis (70%), diffuse lesions /calcifications of the prostate (50%), and decreased testosterone levels (24.2%). Azoospermia was diagnosed in 87.5% of the patients, “moderate” or “mild” pathozoospermia (oligo-/astheno-/teratozoospermia) in 11.1%, and normozoospermia in 1.4% of the patients. There were significant differences between the patients with pancreatic sufficient and pancreatic insufficient CF in the ejaculate volume (1.4 ± 1.5 ml vs. 0.6 ± 0.5 ml; $p=0.006$), ejaculate pH (6.7 ± 0.7 vs. 6.1 ± 0.4 ; $p<0.0001$), and sperm concentration (19.6 ± 56.0 Mio/mL vs. 0.001 ± 0.008 Mio/mL; $p=0.011$). Normal ejaculate volume was more

frequent (21.1% vs 14.7%; $p>0.05$) in patients under the age of 25. No bilateral obstruction of vas deferens was found in 71.4% patients with 3849+10kbC>T mutation. There was a significant difference ($p<0.00001$) in the frequency of 3849+10kbC>T mutation between the patients with vas deferens obstruction (9.5%) and without it (93.8%). We developed an algorithm to resolve infertility issues (including assisted reproductive technologies) in male CF patients depending on their fertility /presence and type of pathozoospermia and some other factors that may influence the conception and CF risk in the offspring. We also suggested practical recommendations for the andrological assessment, maintenance of reproductive health, and planning of childbirth in these patients. **Conclusion:** Male CF patients require a multifaceted assessment of their reproductive system. The prognosis of their reproductive functions, the strategy to maintain their reproductive health and making a decision on childbirth depends on the CF type, the CFTR genotype, the results of semen analysis, and the patient’s age. Pancreatic sufficient CF type, 3849+10kbC>T mutation of the CFTR gene and younger age are favorable factors for potential maintenance of vas deferens patency and male fertility in CF patients.

Key words: cystic fibrosis, *CFTR*, male infertility, obstructive azoospermia

For citation: Repina SA, Krasovskiy SA, Shmarina GV, Shtaut MI, Zhekayte EK, Voronkova AY, Sherman VD, Kondratyeva EI, Chernykh VB. Reproductive system status and the algorithm to solve fertility issues in men with cystic fibrosis. *Almanac of Clinical Medicine*. 2019;47(1):26–37. doi: 10.18786/2072-0505-2019-47-001.

Received 12 October 2018; accepted 11 January 2019; published 31 January 2019

Funding

The study was performed as a PhD thesis and research and financed by the Research Centre for Medical Genetics (Moscow, Russia) from the approved research budget.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgments

The authors express their acknowledgment to the National Research Center of Endocrinology (Moscow, Russia) employee Roman V. Rozhivanov (Chief Research Fellow of Andrology and Urology Department, MD, PhD) and to the Research Centre for Medical Genetics (Moscow, Russia) employees Nika V. Petrova (Leading Research Fellow of the Laboratory of Genetic Epidemiology, Dr. Biol. Sci.), Tagui A. Adyan (Research Fellow of the Laboratory for DNA Diagnostics, MD), and Prof. Aleksandr V. Polyakov (Head of Laboratory for DNA Diagnostics, Dr. Biol. Sci., Professor of the Russian Academy of Sciences) for the DNA diagnosis in CF patients.

Svetlana A. Repina – MD, Geneticist, Medical Services Department¹

✉ 1 Moskvorech'e ul., Moscow, 115522, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 70 16. E-mail: repina@med-gen.ru

Stanislav A. Krasovskiy – MD, PhD, Senior Research Fellow, Clinical and Consulting Department of Cystic Fibrosis¹; Laboratory of Cystic Fibrosis²

Galina V. Shmarina – MD, PhD, Leading Research Fellow, Laboratory of Molecular Biology¹

Maria I. Shtaut – MD, Research Fellow, Laboratory of Genetics of Reproductive Disorders¹

Elena K. Zhekayte – MD, Research Fellow, Clinical and Consulting Department of Cystic Fibrosis¹; Pediatrician, Department of Cystic Fibrosis³

Anna Yu. Voronkova – MD, PhD, Senior Research Fellow, Clinical and Consulting Department of Cystic Fibrosis¹; Pediatrician, Department of Cystic Fibrosis³

Viktoriya D. Sherman – MD, PhD, Senior Research Fellow, Clinical and Consulting Department of Cystic Fibrosis¹; Pediatrician, Department of Cystic Fibrosis³

Elena I. Kondratyeva – MD, PhD, Professor, Head of Clinical and Consulting Department of Cystic Fibrosis¹; Head of Department of Cystic Fibrosis³

Vyacheslav B. Chernykh – MD, PhD, Head of Laboratory of Genetics of Reproductive Disorders¹; Associate Professor, Chair of Molecular Genetics and Cytogenetics of Medicobiologic Faculty⁴

¹ Medical Genetic Science Center; 1 Moskvorech'e ul., Moscow, 115522, Russian Federation

² Federal Pulmonology Research Institute; 32/4 11-ya Parkovaya ul., Moscow, 105077, Russian Federation

³ Moscow Regional State Referral Center for Children; 24a/1 Kominterna ul., Mytishchi, Moskovskaya oblast', 141009, Russian Federation

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University; 1 Ostrovityanova ul., Moscow, 117997, Russian Federation