

Федеральное государственное  
бюджетное научное учреждение  
**«ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ  
НАУК»**  
(Томский НИМЦ)

Адрес юридического лица: Набережная реки  
Ушайки ул., д. 10, Томск г., Томская область, 634050  
Тел.: 8 (3822) 51 22 28  
E-mail: center@tnimc.ru

ОКПО 01895186, ОГРН 1027000861568,  
ИНН / КПП 7019011979 / 701701001

22.11.2024г. № 02-1540  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

**УТВЕРЖДАЮ**  
Директор Федерального  
государственного бюджетного  
научного учреждения  
«Томский национальный  
исследовательский медицинский  
центр» Российской академии наук,  
академик РАН  
д-р биол. наук, профессор  
Степанов Вадим Анатольевич



## ОТЗЫВ

**ведущей организации на диссертационную работу  
Меликян Люси Петросовны  
на тему «Полиморфизм САG-повторов гена андрогенового рецептора  
при патозооспермии и мужском бесплодии», представленную на соискание  
ученой степени кандидата медицинских наук  
по специальности 1.5.7. Генетика**

### Актуальность темы диссертационной работы

Диссертационная работа Меликян Л. П. посвящена изучению связи полиморфного САG-повтора гена рецептора андрогена (*AR*) с нарушением мужской фертильности и спермиологическими показателями. Бесплодие является частым заболеванием, поражающим одну из шести пар в западных странах (Krausz, Riera-Escamilla 2018). Мужской фактор способствует бесплодию примерно в 50% случаев и может быть классифицирован по четырем основным этиологическим категориям: (i) дисфункция гипоталамо-гипофизарной оси; (ii) количественные изменения сперматогенеза; (iii) качественные изменения сперматогенеза; и (iv) обструкция/дисфункция протоков (Tournaue et al., 2016). Известные генетические факторы присутствуют в каждой из этих этиологических категорий, и, в зависимости от тяжести нарушения сперматогенеза, они составляют около 10–20% случаев. На сегодняшний день, ген *AR* остается наиболее изученным геном, сцепленным с X-хромосомой, в этиологии мужского бесплодия. Продукт гена *AR*, андрогеновый рецептор, имеет решающее значение для различных процессов развития и, как правило, функционирует как фактор транскрипции, связывающийся с ДНК. После связывания лигандов стероидных гормонов в цитоплазме рецептор

транслоцируется в ядро, а затем стимулирует экспрессию генов, чувствительных к андрогенам. Фенотип пациентов с мутациями в AR сильно варьирует от легких симптомов синдрома до полной нечувствительности к андрогенам с реверсией пола (Brinkmann, 2001). Пациенты с легким синдромом нечувствительности к андрогенам, в частности, могут иметь нормальные гениталии и изолированное мужское бесплодие. Варианты, обнаруженные у бесплодных пациентов, в основном представляют собой миссенс мутации, влияющие на трансактивационный потенциал AR (Goglia et al., 2011; O'Hara, Smith, 2015). Однако из множества зарегистрированных мутаций в гене AR (Gottlieb et al., 2012) только небольшое число было четко связано с азооспермией или олигозооспермией.

Ген AR содержит полиморфный CAG-повторы в первом экзоне. Повторы длиной более 35 мономеров ассоциированы со спинальной и бульбарной мышечной атрофией, а короткие повторы (менее 18 мономеров) – с раком предстательной железы (McCrea et al., 2016, Cortes, La Spada, 2018). Известно, что количество повторов CAG обратно коррелирует с транскрипционной активностью гена AR *in vitro* (Tut et al., 1997, Ferlin et al., 2004). В последние два десятилетия проводятся интенсивные исследования, целью которых является выявление связи длины полиморфного CAG-повторов гена AR с мужским бесплодием. Но, несмотря на это, выводы этих исследований весьма противоречивы. Более длинные CAG-повторы могут быть фактором риска мужского бесплодия, хотя результаты мета-анализов (Davis-Dao et al., 2007, Xiao et al., 2016) свидетельствуют против сильной связи с мужским бесплодием неясного генеза, как такие же вариации длины повторов обнаруживаются и у здоровых людей. Так, длина повторов CAG была связана с мужским бесплодием в популяциях европеоидной расы, но не в популяциях азиатов или египтян. Анализ подгрупп не выявил существенной разницы в популяциях немцев, но длина повторов CAG была связана с мужским бесплодием в Китае и США (Xiao et al., 2016). В нашей стране изучению связи полиморфных вариантов CAG-повторов в гене AR с мужским бесплодием были посвящены единичные исследования (Михайленко и др., 2019; Онопко и др., 2022) и этого явно недостаточно.

Таким образом, актуальность проведения исследования, направленного на анализ связи полиморфных вариантов CAG в гене AR с мужским бесплодием, а также рядом спермиологических показателей у мужчин с нарушенной фертильностью не вызывает сомнений. Сформулированные автором задачи исследования в полной мере отражают пути достижения поставленной цели.

**Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов**

Впервые на репрезентативной выборке исследована длина CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR* у российских мужчин с различным статусом фертильности и спермиологическими диагнозами (мужчин с нормозооспермией, пациентов с бесплодием, связанным с патозооспермией неясного генеза). Исследована связь различных аллельных вариантов гена андрогенового рецептора с формами патозооспермии и их возможная корреляция со спермиологическими показателями, в том числе у мужчин, имеющих различный генотип (по наличию/отсутствию частичных делеций AZFc региона хромосомы Y).

### **Обоснованность и достоверность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации**

Высокий методический уровень проведенных исследований и достоверность полученных результатов подтверждается репрезентативной выборкой – 1378 индивидуумов, в том числе 994 мужчин с нарушением фертильности и 387 мужчин с нормозооспермией или фертильных мужчин (с доказанным отцовством), наличием публикаций в рецензируемых российских журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России, а также входящих в международные базы учета научного цитирования Scopus, Web of Science. Исследование выполнено с использованием общепринятых клинических и лабораторных методов (спермиологическое исследование), современных молекулярно-генетических методов диагностики и адекватных методов статистической обработки данных. Результаты, полученные автором, свидетельствуют о выполнении поставленных задач, выводы и умозаключения подкреплены убедительными экспериментальными данными и полностью отражают результаты проведенного исследования.

### **Научно-практическая ценность диссертации**

Оценено влияние длины CAG-повторов в экзоне 1 гена андрогенового рецептора (*AR*) на сперматогенез и мужскую фертильность, развитие их нарушений у большой группы российских мужчин с различным статусом фертильности и спермиологическими диагнозами. Проанализирована возможная связь количества CAG-повторов с различными формами патозооспермии и спермиологическими показателями, в том числе с учетом генотипа по хромосоме Y. Наличие взаимосвязи генотип-фенотип, например, при обнаружении повторов CAG менее 18 мономеров, может использоваться в качестве маркера для постановки диагноза нарушения фертильности или бесплодия с действием мужского фактора у супружеских пар с бесплодием неясного генеза, что позволит начать раньше оказание помощи в рамках вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ, ЭКО/ИКСИ). Разработаны практические рекомендации по медико-генетическому исследованию полиморфизма CAG-повторов в гене

андрогенового рецептора у мужчин с нарушением фертильности, консультирования пациентов с бесплодием, связанным с нарушением сперматогенеза и мужской фертильности.

### **Значимость полученных результатов для развития соответствующей отрасли науки**

Настоящее диссертационное исследование, выполненное на репрезентативной выборке мужчин, позволит окончательно сделать вывод о влиянии длины CAG-повторов в гене *AR* на мужскую фертильность, а также на связь этого полиморфного повтора с различными спермиологическими показателями.

### **Общая характеристика работы, ее структура и содержание**

Представленная работа оформлена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы и приложения. Работа представлена на 124 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц, 10 рисунков и 9 приложений. Список литературы включает в себя 124 источника, из них 18 отечественных и 106 иностранных источников, а также 2 интернет-ресурса.

Во введении рассматривается актуальность проблемы, ее новизна и практическая значимость работы. Литературный обзор выполнен с привлечением большого количества источников, в нем рассматриваются основные причины мужского бесплодия и нарушения фертильности, влияние андрогенов на репродуктивную систему у мужчин, строение гена рецептора андрогена, его функции и имеющиеся в научной литературе данные о связи CAG-повторы в гене *AR* со сперматогенезом и нарушением фертильности у мужчин.

Материалы и методы описаны достаточно подробно. В работе исследованы репрезентативные выборки мужчины репродуктивного возраста с нарушением фертильности без микроделеций хромосомы Y ( $n=597$ ) и на основании архивных данных сформирована группа мужчин с патозооспермией и микроделециями хромосомы Y ( $n=397$ ). Группы сравнения были сформированы из пациентов с нормозооспермией ( $n=101$ ) и фертильных мужчин с доказанным отцовством ( $n=286$ ). Для каждого пациента был проведен клинико-генеалогический анализ. Несомненным достоинством работы является подробное спермиологическое исследование пациентов с нарушением фертильности. В работе приведены использованные методы генетико-статистического анализа, которые полностью адекватны дизайну исследования и соответствуют его целям и задачам.

В главе «Результаты и обсуждения» представлены результаты спермиологического исследования, анализа частичных делеций в локусе AZFc и исследования полиморфных вариантов CAG-повторы гена *AR*. В группе мужчин с патозооспермией без частичных делеций в

локусе AZFc выявлена следующая структура сперматологических диагнозов: азооспермия (17%), олигозооспермия тяжелой степени (27%), олигозооспермия умеренной степени (14%) и астено-/тератозооспермия (42%). Были выявлены основные аллельные варианты CAG-повторов гена *AR* в различных исследуемых группах мужчин с нарушением фертильности и контрольной группе. Отмечено отсутствие статистически значимой зависимости тяжести нарушения фертильности и сперматогенеза, наличия и тяжести/формы патозооспермии, а также сперматологических показателей (концентрации сперматозоидов, общего количества сперматозоидов в эякуляте, живых сперматозоидов, прогрессивно подвижных (PR) сперматозоидов, морфологически нормальных сперматозоидов) от количества CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR*. Наиболее высокая доля «длинных» ( $n \geq 26$ ) CAG-аллелей отмечена в группе мужчин с нормозооспермией – 16,8%, тогда как наиболее низкая их доля выявлена в группе с патозооспермией и делецией b2/b3 – 7,6%. Исследование показало некоторые различия по частоте «коротких», «средних» и «длинных» вариантов (CAG) $n$ -полиморфизма гена *AR* в исследуемых группах. В группе «коротких» аллелей гена *AR* медиана по числу повторов равнялась 18, а показатели спермограммы соответствовали критериям диагноза олигозооспермия (концентрация и общее количество сперматозоидов в эякуляте составили менее 15 млн./мл и менее 39 млн./мл, соответственно). Полученные данные указывают на возможную связь «коротких» (CAG) $n \leq 18$  повторов с нарушением фертильности, а именно с низкой концентрацией сперматозоидов в эякуляте (олигозооспермия). Связи нарушения сперматогенеза с «длинными» CAG-аллелями гена *AR* в обследованной выборке мужчин не выявлено. При оценке отношения шансов различных CAG-повторов гена *AR* у пациентов с различными формами патозооспермии без AZFc делеций и мужчин с нормозооспермией выявлены статистически значимые различия между пациентами с олигозооспермией умеренной степени, олигозооспермией тяжелой степени и нормозооспермией по частоте «коротких» ( $n \leq 18$ ) аллелей ( $p = 0,006$  и  $p = 0,01$ , соответственно).

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Полученные в диссертационном исследовании результаты могут быть использованы в качестве дополнительного молекулярно-генетического обследования у мужчин с нарушением фертильности, связанной с патозооспермией неясного генеза, при наличии спермиологического диагноза олигозооспермия и азооспермия. Мужчинам носителям «длинных» ( $n \geq 41$ ) и «коротких» ( $n \leq 18$ ) аллельных вариантов (CAG) $n$  полиморфного локуса гена *AR* рекомендуется динамическое наблюдение у уролога или андролога.

Автореферат в целом соответствует диссертации и отражает основные этапы работы, выводы и результаты. Полученные результаты наглядно оформлены в виде графиков и таблиц.

По теме диссертации опубликовано 7 работы в журналах, реферируемых в базах Scopus и Web of Science и рекомендованных ВАК МОН РФ. Промежуточные этапы обсуждались на научных конференциях. Диссертационная работа соответствует специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

### **Замечания по работе**

1. В обсуждении автор сравнивает свои результаты с многочисленными данными отдельных исследований. Было бы целесообразнее провести мета-анализ всех данных литературы о связи длины CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR* с мужским бесплодием, вместо того чтобы обсуждать результаты отдельных многочисленных исследований, тем более что с момента публикации последнего мета-анализа по исследуемому вопросу (2016 г.) прошло уже много лет и с тех пор накопилось еще какое-то количество фактических данных.
2. В целом по тексту есть стилистические неточности, особенно это касается применения терминов. Термин «русские мужчины» не отражает структуры выборки. Непонятно к каким национальностям принадлежат эти мужчины. Между тем в результатах предыдущего мета-анализа показано, что есть различная связь длины CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR* с мужским бесплодием в популяциях европеоидного и азиатского происхождения (Xiao et al., 2016). Словосочетание «длина полиморфизма CAG» больше напоминает жаргонизм. Это не приемлемо в тексте диссертации, тем более в тексте основного положения, выносимого на защиту.

Сформулированные замечания не снижают научно-практическую ценность диссертации.

### **Заключение**

Диссертационное исследование Меликян Л.П. на тему «Полиморфизм CAG-повторов гена андрогенового рецептора при патозооспермии и мужском бесплодии» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под научным руководством Черных Вячеслава Борисовича, содержит решение актуальной научной задачи – изучению влияния полиморфного повтора (CAG)<sub>n</sub> гена *AR* на фертильность и сперматологические показатели у российских мужчин с нарушением фертильности., имеющей существенное значение для генетики и медицинской генетики.

Работа соответствует требованиям требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а её автор, Меликян Люся Петросовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. - генетика.

Отзыв подготовлен научным сотрудником лаборатории инструментальной геномики Научно-исследовательского института медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», кандидатом биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика (1.5.7. Генетика) Толмачевой Екатериной Николаевной.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании лаборатории инструментальной геномики 14 ноября 2024 г., протокол № 1.

Председательствующий на заседании:

руководитель лаборатории инструментальной геномики  
Научно-исследовательского института медицинской  
генетики  
Федерального государственного бюджетного научного  
учреждения  
«Томский национальный исследовательский медицинский  
центр Российской академии наук»,  
доктор биологических наук по специальности 03.02.07 –  
генетика (1.5.7. Генетика)

  
Васильев Станислав Анатольевич

Личную подпись доктора биологических наук Васильева  
Станислава Анатольевича заверяю  
Ученый секретарь Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения «Томский  
национальный исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук», кандидат биологических наук

  
Хитринская Ирина Юрьевна

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (634050, Россия, г. Томск, Набережная реки Ушайки, дом 10).  
Телефон: +7 (3822) 51-22-28; Сайт: [www.medgenetics.ru](http://www.medgenetics.ru), e-mail: [genetics@tnimc.ru](mailto:genetics@tnimc.ru)