

На правах рукописи

Меликян Люся Петросовна

**ПОЛИМОРФИЗМ САG-ПОВТОРОВ
ГЕНА АНДРОГЕННОГО РЕЦЕПТОРА
ПРИ ПАТОЗОСПЕРМИИ И МУЖСКОМ БЕСПЛОДИИ**

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

Научный руководитель:

Черных Вячеслав Борисович, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Полоников Алексей Валерьевич, доктор медицинских наук, профессор, директор Научного исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий лабораторией статистической генетики и биоинформатики

Чурносов Михаил Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ, г. Томск)

Защита диссертации состоится 18 декабря 2024 года в 15.00 на заседании диссертационного совета ПДС 0300.005 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6 и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-0300005>

Автореферат разослан «_____» _____ 2024 года

Ученый секретарь
диссертационного совета ПДС 0300.005
кандидат биологических наук, доцент

Гигани Ольга Олеговна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Бесплодие в настоящее время является одной из наиболее социально значимых и медико-социальных проблем. Согласно определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) бесплодие определяют как неспособность супружеской пары к зачатию в течение одного календарного года при регулярном половом акте без использования противозачаточных средств [Руководство ВОЗ, 2012]. По литературным данным распространенность бесплодия в браке наблюдается в среднем у 15% супружеских пар [Krausz C. et al., 2018]. Нарушение фертильности у мужчин и женщин встречается примерно с равной частотой, при этом в 30% случаев бесплодия в браке его отмечают у обоих партнеров, и примерно в 50% случаев бесплодия причину нарушения фертильности не удается установить [Tahmasbpour E. et al., 2014].

По данным современных исследований у 40-50% супружеских пар с нарушением фертильности отмечают мужской фактор бесплодия, а нарушение фертильности отмечают у 7% мужчин из общей популяции [Babakhanzadeh E. et al., 2020]. Нарушение репродуктивной функции у мужчин может быть обусловлено множеством причин и патогенных факторов, которые включают нарушения формирования пола (НФП) и аномалии развития органов половой системы (крипторхизм, гипоспадия, монорхизм и др.), различные генетические и эпигенетические факторы, гормональные нарушения (гипогонадизм, гиперпролактинемия и др.), инфекционные заболевания, травмы, облучение, интоксикация и токсические поражения, неблагоприятный образ жизни (неправильное питание, профессиональные вредности, вредные привычки), психо-сексуальные проблемы [Babakhanzadeh E. et al., 2020].

В последние годы многими исследованиями показана высокая значимость генетических факторов для развития и функции репродуктивной системы и фертильности [Yong E. L. et al., 2003]. Генетические факторы, связанные с мужским бесплодием и другими формами нарушения фертильности у мужчин, включают хромосомные аномалии, вариации числа копий (CNV – copy number variation), наиболее частыми из которых являются микроделеции Y-хромосомы, различные варианты нуклеотидной последовательности в генах, контролирующей формирование пола, развитие мужских половых органов, сперматогенез, секрецию и действие релизинг-гормона, гонадотропных и половых гормонов, а также других процессов, вовлеченных в репродукцию [Yong E. L. et al., 2003]. К часто исследуемым генным вариантам, которые могут негативно влиять на репродуктивную функцию у мужчин, относят патогенные (мутации) и полиморфные варианты в генах муковисцидоза (CFTR) и андрогенного рецептора (*AR/HUMARA*) [Черных В.Б. и др., 2015].

Одним из наиболее изученных генетических факторов мужского бесплодия являются микроделеции в локусе AZF (Azoospermia factor, фактор азооспермии), располагающемся в длинном плече Y-хромосомы, локус Yq11.2 [Navarro-Costa P. et al., 2010]. AZF делеции могут быть «полными», т.е. целиком удаляющими один или более регион локуса AZF (AZFa, AZFb или AZFc) и «частичными» (например, b2/b3, gr/gr и sY1197), т.е. частично или не полностью захватывающими какой-либо из AZF-регионов. Почти все полные AZF делеции являются патогенными делеционными вариантами хромосомы Y, возникающими de novo, и приводят к

тяжелому нарушению сперматогенеза (необструктивной азооспермии и олигозооспермии тяжелой степени). Частичные AZF делеции характеризуются различной степенью влияния на сперматогенез и мужскую фертильность, варьируя от негативного до нейтрального. Влияние частичных делеций, возможно, связано с локализацией и размером потерянного участка, определяющих состав утраченных генов. В целом для делеций AZF локуса характерна гено-фенотипическая зависимость: чем больше размер делеции хромосомы Y, тем более тяжелая степень нарушения сперматогенеза [Navarro-Costa P. et al., 2010].

Эндокринные факторы играют значимую роль в регуляции развития и функций органов репродуктивной системы. Нарушение гормональной регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси является распространенной причиной нарушений формирования пола, полового созревания и/или гипогонадизма, нарушения гаметогенеза, женского и мужского бесплодия [Salonia A. et al., 2019]. Достаточный уровень андрогенов в мужском организме необходим для формирования органов репродуктивной системы по мужскому типу, развитие вторичных мужских половых признаков, процессов, необходимых для нормального сперматогенеза и мужской фертильности, он также регулирует функции гонад, предстательной железы, клеточную пролиферацию и и другие андроген-зависимые процессы [Salonia A. et al., 2019]. Снижение продукции или нарушение метаболизма стероидных гормонов или чувствительности к андрогенам приводит к аномалиям формирования и развития половой системы по мужскому типу, гипогонадизму, нарушению сперматогенеза и снижению качества эякулята, бесплодию или снижению фертильности у мужчин [Черных В.Б. и др., 2015]. Ведущую роль в гормональной регуляции мужской репродуктивной системы играют андрогены: тестостерон и дигидротестостерон [Salonia A. et al., 2019]. Действие мужских половых гормонов реализуется через их взаимодействие с андрогеновым рецептором (AR).

Андрогеновый рецептор (AR) является важнейшей составляющей гормональной регуляции экспрессии генов в органах и тканях-мишенях. Его дефекты могут быть вызваны патогенными вариантами (мутациями) или полиморфизмами гена *AR/HUMARA* (Androgen receptor; OMIM 312700; локус Xq12), приводят к различными андроген-зависимыми заболеваниями и нарушениям. Варианты нуклеотидной последовательности, которые нарушают функцию AR, вызывают широкий спектр фенотипов: НФП и аномалии полового развития и нормогонадотропный гипогонадизм, обусловленные полной и неполной нечувствительностью к андрогенам, бесплодие или снижение фертильности у мужчин вследствие нарушения сперматогенеза, развитие спинальной-бульбарной мышечной атрофии (СБМА) и других андроген-зависимых заболеваний [La Spada A. R. et al., 1991; Davis-Dao C. A. et al., 2007]. Повышенное (более 40) количество CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR* приводит к развитию СБМА (болезни Кеннеди; OMIM 313200), сопровождающейся эндокринными нарушениями, атрофией тестикул, гипогонадизмом, гинекомастией, олигозооспермией или азооспермией, или снижением мужской фертильности [La Spada A. R. et al., 1991; Davis-Dao C. A. et al., 2007].

В ряде исследований показано, что не только патогенные, но и некоторые полиморфные варианты гена андрогенного рецептора связаны с нарушением сперматогенеза и «идиопатическим» мужским бесплодием [Yong E. L. et al., 2003; Davis-Dao C. A. et al., 2007]. У фертильных мужчин и пациентов с нарушением

фертильности, связанных с различными формами патозооспермии, обнаруживают различные аллельные варианты CAGn-полиморфного локуса в экзоне 1 гена *AR*, при этом отмечаются межгрупповые и межпопуляционные различия по количеству тринуклеотидных повторов. Вероятно, что мужчины с «длинным» и «коротким» полиглутаминовым трактом в белке AP имеют повышенный риск нарушения сперматогенеза и репродуктивной функции [Черных В.Б. и др., 2015]. Однако влияние CAG-повторов на функцию гена *AR*, в том числе в зависимости от других генетических факторов (генетического фона), на сперматогенез, сперматологические параметры и мужскую фертильность, этнические особенности CAGn-полиморфного локуса в гене *AR* изучены недостаточно.

Степень разработанности темы исследования. Рядом авторов обнаружена ассоциация полиморфного локуса CAGn в экзоне 1 гена *AR* с нарушением сперматогенеза и репродуктивной функции у мужчин в различных популяциях. У мужчин-носителей «длинных» CAG-аллелей гена *AR* чаще встречается бесплодие и патозооспермия [La Spada A. R. et al., 1991; Komri S. et al., 1999; Mifsud A. et al., 2001; Plaseski T. et al., 2007; Giagulli V.A. et al., 2014; al Zoubi M.S. et al., 2020]. В некоторых работах сообщали о взаимосвязи нарушения фертильности у мужчин с «короткими» вариантами CAG-повторов [Komri S. et al., 1999; Lazaros L. et al., 2008]. Результаты являлись неоднозначными, что многие авторы объясняли особенностями исследованных выборок. Следует отметить, что многие работы, в которых исследовали взаимосвязь нарушения мужской фертильности и сперматогенеза и количества CAG-повторов, выполнены на небольших выборках пациентов с различными критериями отбора. Кроме того, не установлено влияние количества CAG-повторов в гене *AR* на нарушения показателей эякулята и патозооспермии в зависимости от других генетических факторов, в частности от наличия или отсутствия в геноме микроделеций хромосомы Y.

Отсутствуют практические рекомендации по медико-генетическому исследованию CAGn-полиморфизма в гене *AR* и консультированию пациентов с нарушением фертильности, которым выполнено данное тестирование.

Цель работы. Изучить влияние полиморфного локуса CAGn гена *AR* на фертильность и сперматологические показатели у российских мужчин с нарушением фертильности.

Задачи исследования

1. Сформировать выборку российских мужчин с нарушением фертильности неясного генеза, а также две группы сравнения (контроль): фертильные мужчины (с доказанным отцовством) и мужчины с нормозооспермией.

2. Оценить количество CAG повторов в экзоне 1 гена *AR* и распределение различных аллелей по данному локусу у мужчин отобранной выборки и групп сравнения.

3. Исследовать сперматологические показатели у пациентов с различными вариантами полиморфизма CAGn гена *AR*.

4. Провести сравнительный анализ количества CAG-повторов и сперматологических показателей у мужчин с патозооспермией без частичных делеций в регионе AZFc хромосомы Y.

Научная новизна работы. Впервые на репрезентативной выборке исследован полиморфный CAGn локус в экзоне 1 гена *AR* у российских мужчин с различным статусом фертильности и сперматологическими диагнозами (мужчин с нормозооспермией, пациентов с бесплодием, связанным с патозооспермией неясного

гене́за). Исследована связь различных аллельных вариантов гена андрогенного рецептора с формами патозооспермии и их возможная корреляция со сперматологическими показателями, в том числе у мужчин, имеющих различный генотип (по наличию/отсутствию частичных делеций AZFc региона хромосомы Y).

Теоретическая и практическая значимость работы. Оценено влияние полиморфизма CAG-повторов в экзоне 1 гена андрогенного рецептора (AR) на сперматогенез и мужскую фертильность, развитие их нарушений у российских мужчин с различным статусом фертильности и сперматологическими диагнозами. Исследованы формы патозооспермии и сперматологические показатели у мужчин с патозооспермией и нормозооспермией с различным количеством CAG-повторов, их возможная связь с различными аллельными вариантами гена AR, в том числе учитывая генотип по хромосоме Y. Наличие взаимосвязи генотип-фенотип, например, при обнаружении повторов $CAGn \leq 18$, позволит установить диагноз нарушение фертильности или бесплодие мужской фактор в супружеской паре и начать раньше оказание помощи в рамках вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ, ЭКО/ИКСИ), у которых ранее было установлено бесплодие неясного генеза. Разработаны практические рекомендации по медико-генетическому исследованию CAGn-полиморфизма гена андрогенного рецептора (AR) у мужчин с нарушением фертильности, консультирования пациентов с бесплодием, связанным с нарушением сперматогенеза и мужской фертильности.

Методология и методы диссертационного исследования. Методологической и теоретической основой диссертационного исследования явились научные работы отечественных и зарубежных исследователей в области изучения андрогенного рецептора (AR) и его CAG-полиморфного локуса, микроделеций Y-хромосомы, влияния данных генетических факторов на сперматогенез и мужскую фертильность, а также молекулярно-генетических подходов к диагностике мужского бесплодия.

В работе использованы следующие методы: клинические методы обследования, выделение геномной ДНК, метод полимеразной цепной реакции, электрофорез ДНК в полиакриламидном геле, стандартное сперматологическое исследование, методы статистической обработки данных.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. У российских мужчин (CAG)n-полиморфный локус в экзоне 1 гена андрогенового рецептора (AR) ассоциирован с нарушением фертильности, связанным с патозооспермией. Носительство вариантов гена андрогенного рецептора (AR) с 18 и менее CAG-повторами связано с повышенным риском развития нарушения сперматогенеза, приводящего к олигозооспермии умеренной или тяжелой степени (ОШ=12,3 и ОШ=9,5, соответственно).

2. У мужчин с нарушением фертильности не выявлено статистически значимой зависимости основных сперматологических параметров (концентрации и общего количества сперматозоидов в эякуляте; количества (%) живых, прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов) от количества CAG-повторов в полиморфном локусе экзона 1 гена AR.

Степень достоверности результатов. Работа выполнена на репрезентативной по объему выборке – 1378 индивидуумов, в том числе 994 мужчин с нарушением фертильности и 387 мужчин с нормозооспермией или фертильные мужчины (с доказанным отцовством). Исследование выполнено с использованием общепринятых клинических и лабораторных методов (спермиологическое исследование), современных молекулярно-генетических методов диагностики и

адекватных методов статистической обработки данных анализа. Для теоретического обоснования и сравнительного анализа проанализировано большое количество источников отечественной и зарубежной литературы. Результаты, полученные автором, свидетельствуют о выполнении поставленных задач, выводы и умозаключения подкреплены убедительными экспериментальными данными и полностью отражают результаты проведенного исследования.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на III Всероссийской конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин», Москва, 2018 г.; Конференции молодых ученых ФГБНУ «МГНЦ», Москва, 2018 г.; VI Всероссийской конференции с международным участием «Репродуктивное здоровье женщин и мужчин», Москва, 2019 г.; 12-ой Встрече молодых ученых в андрологии «The 12th Meeting Of The Network For Young Researchers In Andrology (NYRA)», г. Гиссен, Германия, 2019 г.

Работа одобрена этическим комитетом, прошла экспертную комиссию, рекомендована к защите на заседании Диссертационного совета ФГБНУ «МГНЦ».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.7. Генетика, а именно п. 19 (Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Медико-генетическое консультирование. Болезни с наследственной предрасположенностью. Генетика старения. Иммуногенетика. Онкогенетика. Генетика поведения. Молекулярно-генетическая/биохимическая диагностика заболеваний человека. Фармакогенетика. Генотоксикология. Генетическая терапия). Работа включает в себя обсуждение наследственных болезней, медицинской генетики, генетики человека, генетику нарушений репродукции.

Личный вклад автора в проведение исследования. Автор непосредственно участвовал в разработке схемы эксперимента, постановке целей и задач, выборе методов исследования, проведении всех этапов эксперимента. При участии автора сформированы выборки пациентов с нарушением фертильности и группы сравнения, проведено молекулярно-генетическое исследование, оценены его результаты. Автором проанализирована литература по теме диссертации, обработаны и проанализированы полученные результаты, проведен математический и статистический анализ данных, сформулированы основные результаты и выводы и написана рукопись. Результаты настоящего исследования опубликованы в рецензируемых журналах, а также представлены на российских и зарубежных научных конференциях лично автором.

Публикации результатов исследования. Материалы диссертации представлены в 7 печатных работах соискателя, в том числе 4 статья в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук (3 из них в Web of Science и/или Scopus). В опубликованных научных работах и автореферате полностью отражены основные результаты диссертации, положения и выводы.

Структура и объем диссертации. Диссертация имеет следующую структуру: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы, приложения. Работа представлена на 121 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц, 10 рисунков и 9 приложений. Библиографический указатель включает 126 наименования, из них 18 отечественных и 108 иностранных источников, а также 2 интернет-ресурса.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Материалы исследования

В период с 2017г. по 2021г. обследованы российские мужчины с нарушением фертильности без микроделечий хромосомы Y (n=597) и на основании архивных данных сформирована группа мужчин с патозооспермией и микроделечиями хромосомы Y (n=397). Группы сравнения были сформированы из пациентов с нормозооспермией (n=101) и фертильных мужчин с доказанным отцовством (n=286). Возраст обследованных пациентов составлял от 18 до 60 лет (средний возраст 33,2±5,5 лет). Группа с патозооспермией и без выявленных микроделечий хромосомы Y (n=597) разделена на четыре подгруппы по форме патозооспермии: азооспермия (n=105); олигозооспермия тяжелой степени (n=160); олигозооспермия умеренной степени (n=82); астено-/тератозооспермия (n=250). Группа мужчин с патозооспермией и непатогенными микроделечиями хромосомы Y (n=397) разделена на три подгруппы в зависимости от типа частичной делеции региона AZFc: делеция b2/b3 (sY1192)(n=276); делеция gr/gr (sY1291)(n=111); делеция палиндрома P3 (sY1197)(n=10).

Материалом для исследования являлись венозная кровь и семенная жидкость (нативный и замороженный эякулят).

Методы исследования

Клинико-генетический анализ. На каждого пациента заполняли медицинскую карту, которая включала в данные анамнеза и осмотра, генеалогический анализ, оценивали результаты ранее проведенных клинических и спермиологических исследований.

Стандартное спермиологическое исследование выполняли согласно рекомендациям ВОЗ (2010 г.). Согласно сперматологическим параметрам, определяли срок полового воздержания, объем, цвет, вязкость и pH эякулята, количество сперматозоидов в 1 мл спермы, степень их подвижности по категориям (в процентах, %), соотношение живых и мертвых сперматозоидов (%), нормальных и патологических (морфологически аномальных) форм (%). Количественный анализ патологических форм сперматозоидов проводили по методу, предложенному Крюгером и соавторами (Kruger T.F. et al., 1986).

Выделение ДНК выполнено на геномной ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови и эякулята. Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови и эякулята выполняли с помощью сорбента NucleoS, набором "Diatom DNA" (DIAtom, Россия) по протоколу производителя.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на программируемом термоциклере MC2 «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Определения количества CAG-повторов в экзоне 1 гена AR и детекцию микроделечий Y-хромосомы выполняли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Электрофорез амплифицированных фрагментов ДНК выполняли в 8%-ном (сток-раствор АА/БА 29:1,3) полиакриламидном геле (ПААГ) в камере 20x20 см, толщиной 1 мм., при напряженности поля 16 В/см.

Статистический анализ результатов выполняли с использованием программы StatSoft STATISTICA, версия 10 (Dell Technologies, США) и GraphPad Prism, версия 7 (GraphPad Software Inc., США). Анализ данных выполнен с помощью: *U*-критерия Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова, Фишера, Спирмена, статистического показателя отношения шансов (ОШ), поправки на множественное сравнение Бенджамини-Хохберга (FDR) и поправки Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группе мужчин с патозооспермией без частичных делеций в локусе AZFc (n=597) количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 7 до 37. Выявлено 23 аллельных варианта CAGn полиморфизма, при этом чаще встречались аллели с количеством повторов от 19 до 25 (79,3%). Другие аллели суммарно составили 20,7% от всех выявленных аллельных вариантов CAGn полиморфного локуса гена *AR*. В группе мужчин с патозооспермией и частичными делециями в локусе AZFc (n=397) количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 14 до 32. Выявлено 18 аллельных вариантов полиморфизма CAG, чаще всего встречали аллели с 20 по 25 (74,8%). Другие аллели встречались суммарно у 25,2% пациентов данной группы. В группе мужчин с нормозооспермией (n=101) количество CAG-повторов в гене *AR* варьировало от 18 до 30. Выявлено 13 аллельных вариантов CAGn полиморфизма, при этом чаще встречались аллели с количеством повторов от 20 до 25 (76,6%). Другие аллели суммарно встречались у 23,4% пациентов данной группы. В группе сравнения, у фертильных мужчин (n=286), количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 13 до 31. Среди пациентов выявлено 17 аллельных вариантов полиморфизма CAG, чаще всего встречались аллели с 19 по 25 (86,2%). Другие аллели отмечены у 13,4% пациентов данной группы. Во всех группах наиболее частым являлся аллель с количеством CAG-повторов равным 21. Его частота в группах составляла от 16,6% до 22,7%, меньший процент встречаемости был у пациентов с патозооспермией и частичными делециями в локусе AZFc – 16,6%, а больший – 22,7% у мужчин с доказанным отцовством (таблица 1 и рисунок 1).

В исследованной выборке мужчин с патозооспермией, которая состояла из пациентов с нарушением фертильности без микроделеций хромосомы Y (n=597) и с микроделециями хромосомы Y (n=397) наиболее частым являлся аллель с 22 (от 7 до 37) CAG-повторами в подгруппе пациентов с патозооспермией без частичных делеций региона AZFc и 22 (от 14 до 32) CAG-повторами в подгруппе пациентов с частичными делециями региона AZFc (таблица 1 и рисунок 2).

В группе сравнения среди мужчин подгруппы с нормозооспермией (n=101) наиболее частым являлся аллель с 22 (от 18 до 30) CAG-повторами, в подгруппе мужчин с доказанным отцовством (n=286) – 21 (от 13 до 31) CAG-повторами.

Таблица 1. Количество CAG-повторов в разных группах.

| Спермиологический диагноз, n | Количество CAG-повторов, n | |
|--|----------------------------|----------------------|
| | min-max | Me, Квантили 25%-75% |
| Нормозооспермия (n=101) | 18-30 | 22 (21-25) |
| Фертильные мужчины (n=286) | 13-31 | 21 (20-24) |
| Пациенты с патозооспермией без частичных делеций региона AZFc (n=597) | 7-37 | 22 (20-24) |
| Пациенты с патозооспермией с частичными делециями региона AZFc (n=397) | 14-32 | 22 (20-24) |

Среди обследованных групп и подгрупп мужчин наибольшее количество аллельных вариантов гена *AR* по числу CAG-повторов (n=37) обнаружено в группе пациентов с патозооспермией без частичных делеций региона AZFc. Выявлено 23 аллельных варианта CAGn полиморфизма, при этом чаще встречали аллели с количеством повторов от 19 до 25 (79,3%). Другие аллели составили 20,7% от всех выявленных аллельных вариантов CAGn полиморфного локуса гена *AR*. Меньший процент встречаемости аллельных вариантов CAGn (16,6%) отмечен у пациентов с патозооспермией и частичными делециями в локусе AZFc.

Среди пациентов с доказанным отцовством выявлено 17 аллельных вариантов полиморфизма CAG, где чаще всего встречались аллели с количеством повторов от 19 до 25 (86,2%). Другие аллели выявлены у 13,4% пациентов данной группы.

В группе мужчин с патозооспермией без частичных делеций в локусе AZFc по результатам спермиологического исследования выявлена следующая структура сперматологических диагнозов (рисунок 1): азооспермия (17%), олигозооспермия тяжелой степени (27%), олигозооспермия умеренной степени (14%) и астено-/тератозооспермия (42%).



Рисунок 1. Частота различных форм патозооспермии в группе мужчин с нарушением фертильности без частичных делеций в локусе AZFc (n=597).

В подгруппе мужчин с азооспермией количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 15 до 31 (таблица 2 и рисунок 3). Выявлено 14 аллельных вариантов полиморфизма CAG, в 80% случаев встречались аллели с числом повторов от 19 до 25.

В литературных источниках в группах мужчин с диагнозом азооспермия минимальное значение полиморфизма CAG-повторов в среднем составляет 14, а максимальное значение CAG-повторов – 30. 64,8% всех аллелей – это аллели с 20 по 26 повторов [Plaseski T. et al., 2007; al Zoubi M.S. et al., 2020; Mifsud A. et al., 2001; Tse J.Y.M. et al., 2003]. В некоторых других исследованиях, например, среди мужчин из Америки, повторы 23 и 26 не встречались, при этом в группе нормозооспермии доля 23 аллеля составляла менее 5%, а 26 аллеля более 10% [Mifsud A. et al., 2001].

В исследованной нами подгруппе мужчин с азооспермией доля повторов 23 и 26 составляла 14% и 5% соответственно, а в группе нормозооспермии – 5,9% и 7,9% соответственно. Отсутствие определенных аллельных вариантов в различных популяциях среди мужчин с азооспермией может быть этническими особенностями или особенностями небольших выборок, что объясняло бы наличие этих аллелей среди пробандов в подгруппе исследования.

В подгруппе мужчин с олигозооспермией тяжелой степени (ОТС) количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 12 до 33 (таблица 2 и рисунок 3). Выявлено 20 аллельных вариантов полиморфизма CAG, большинство (78,1%) аллелей содержало от 19 по 24 повторов. В литературе минимальное значение CAG-повторов в группе с олигозооспермией тяжелой степени без частичных делеций в локусе *AZFc* равнялось в среднем 14, в свою очередь максимальная длина CAG-аллелей в этой группе составляла в среднем 29 повторов. Около 70% пациентов из различных популяций имели аллели с количеством повторов от 19 до 25 [Plaseski T. et al., 2007; al Zoubi M.S. et al., 2020; Mifsud A. et al., 2001; Tse J.Y.M. et al., 2003].

Среди отсутствующих вариантов CAGn полиморфизма гена *AR* отмечены аллели, содержащие менее 18 и более 28 повторов [Plaseski T. et al., 2007; al Zoubi M.S. et al., 2020; Tse J.Y.M. et al., 2003], в исследованной подгруппе мужчин с олигозооспермией тяжелой степени данные варианты тринуклеотидных повторов встречались у 9,3% (аллели $n \leq 18$) и 5,1% (аллели $n \geq 28$) мужчин.

В группе мужчин с олигозооспермией умеренной степени (ОУС) без микроделеций локуса *AZFc* количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 13 до 29 (таблица 2 и рисунок 3). Выявлено 14 аллельных вариантов полиморфизма CAG, в 79,3% случаев встречались аллели с количеством повторов от 19 до 25.

В исследовании Plaseski T. et al. (2007) среди пациентов с олигозооспермией умеренной степени (ОУС) минимальное и максимальное значение полиморфизма CAG составляло 13 и 34 повторов соответственно. Аллели с числом повторов 20-22 встречались в 45% случаев. Однако, такие аллели как 12, 14-16, 18, 31-33 в группе ОУС не регистрировались.

У мужчин с астено-/тератозооспермией количество CAG-повторов гена *AR* варьировало от 7 до 37 (таблица 2 и рисунок 3). Выявлено 19 аллельных вариантов CAGn полиморфизма, у 85,6% индивидуумов обнаружены аллели с 19 по 26 повторами.

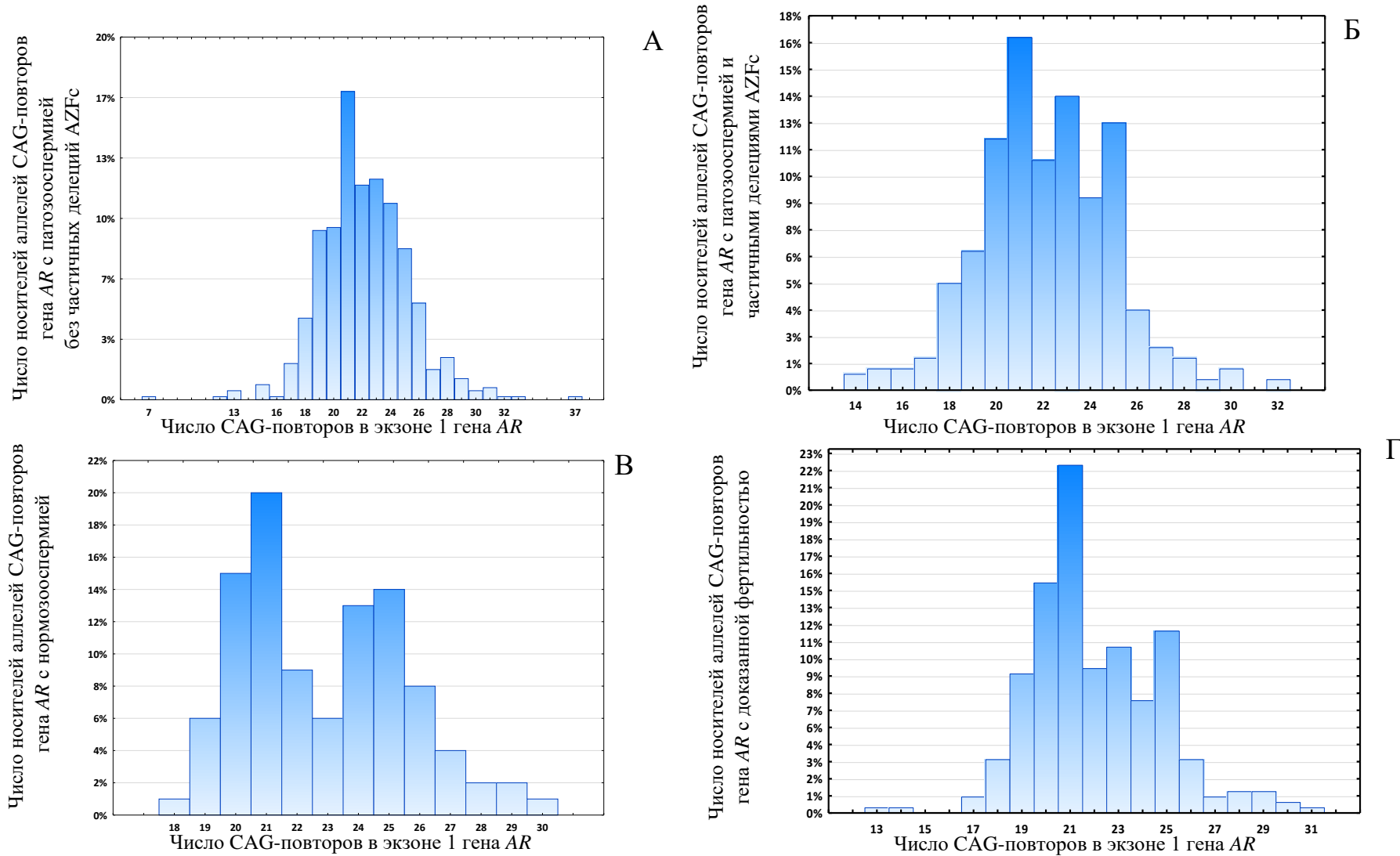


Рисунок 2. Распределение САG-аллелей в экзоне 1 гена андрогенового рецептора (*AR*) по частоте встречаемости у российских мужчин: А – с патозооспермией без частичных делеций в локусе AZFc (n=597); Б – с патозооспермией и частичными делециями в локусе AZFc (n=397), В – с нормозооспермией (n=101), Г – с доказанной фертильностью (n=286).

Таблица 2. Количество CAG-повторов у мужчин с различными формами патозооспермии без делеций в локусе AZFc.

| Спермиологический диагноз (количество пациентов, n) | Количество CAG-повторов, n | | |
|--|----------------------------|---------------------------|-----------|
| | min-max | Me, Квантили (25%-95%) | Mo |
| Азооспермия (n=105) | 15-31 | 23 (20-25) | 25 |
| Олигозооспермия тяжелой степени (n=160) | 12-33 | 22 (20-24) | 21 |
| Олигозооспермия умеренной степени (n=82) | 13-29 | 21 (20-24) | 21 |
| Астено-/тератозооспермия (n=250) | 7-37 | 22 (21-24) | 21 |

В исследовании al Zoubi M.S. et al. (2020) количество CAG-повторов у мужчин с астено-/тератозооспермией составляло от 18 до 28, чаще всего встречались полиморфизмы 19, 21 и 23-25 (71,4%). Аллели CAG $n \leq 18$ и $n \geq 28$ повторов не обнаружены. В нашем исследовании у мужчин с астено-/тератозооспермией среди повторов CAG $n \leq 17$ встречали аллели с числом повторов 13 и 15, а среди аллелей CAG $n \geq 29$ – с количеством CAG-повторов равным 30.

В описанной al Zoubi M.S. и соавторами группе мужчин с астено-/тератозооспермией, вариабельность числа CAG-повторов была очень низкой по сравнению с таковой в исследованной нами группе мужчин с астено-/тератозооспермией [Al Zoubi M.S. et al., 2020]. Вероятно, это обусловлено существенно большей по размеру выборкой пациентов, которая позволяет выявлять большее количество редких аллелей.

Следует отметить отсутствие статистически значимой зависимости тяжести нарушения фертильности и сперматогенеза, наличие и тяжесть/форма патозооспермии, а также сперматологических показателей (концентрация сперматозоидов, общее количество сперматозоидов в эякуляте, живые сперматозоиды, прогрессивно подвижные (PR) сперматозоиды, морфологически нормальные сперматозоиды) от количества CAG-повторов в экзоне 1 гена AR.

В группе мужчин с нарушением фертильности и с наличием частичных делеций в локусе AZFc встречали следующие делеции – b2/b3 (70%), gr/gr (28%) и sY1197 или делеция в палиндроме P3 (2%). Значение CAGn между подгруппами с делециями b2/b3 и gr/gr совпадали между собой ($Me=22$) и отличались от подгруппы мужчин с делецией sY1197 ($Me=23$). Значимого различия по значению Me и отсутствия самого частого аллеля (Mo) у пациентов с делецией sY1197 не выявлено, очевидно в связи с небольшим размером последней подгруппы.

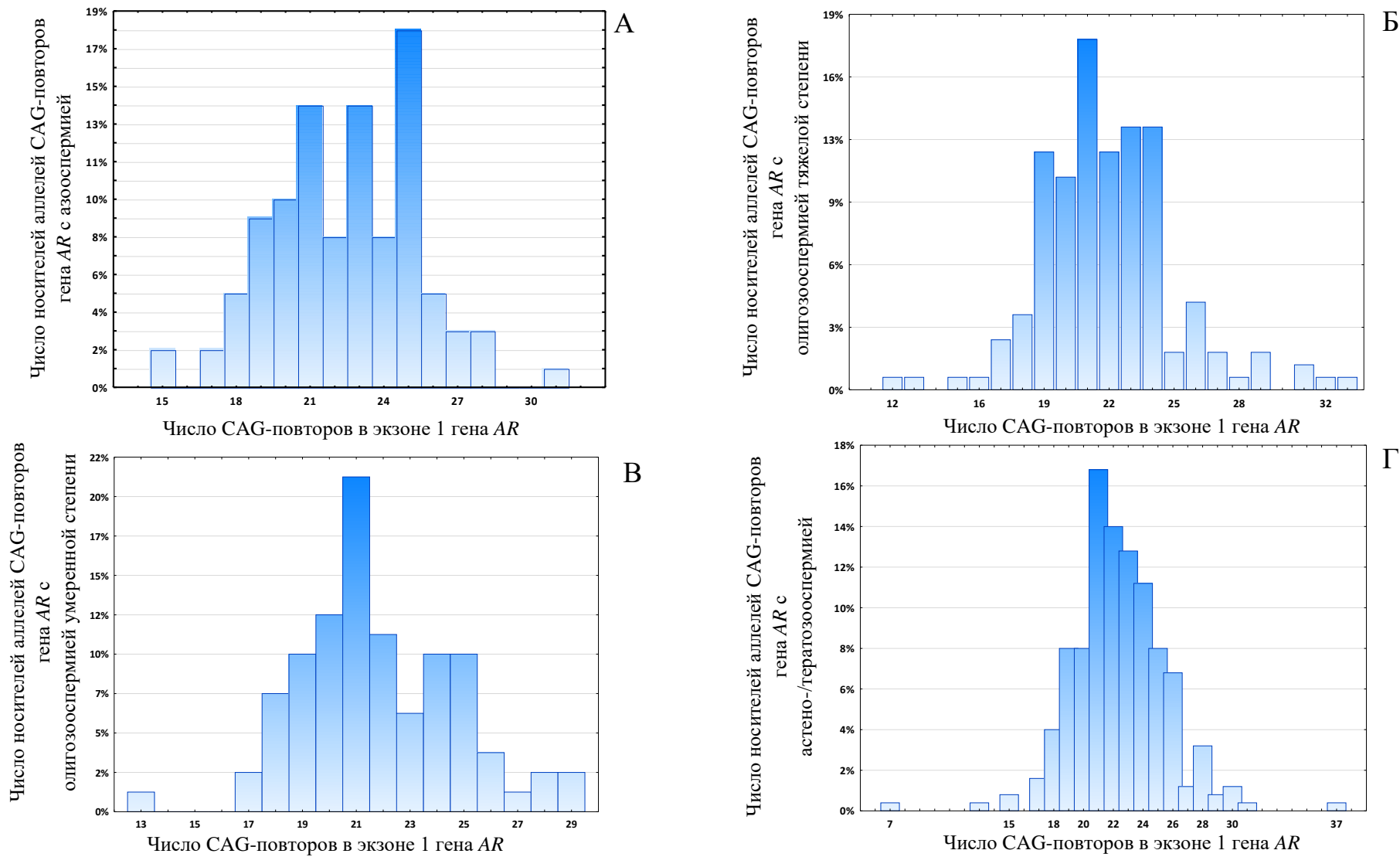


Рисунок 3. Распределение САG-аллелей гена андрогенного рецептора (*AR*) по частоте встречаемости у российских мужчин с нарушением фертильности без частичных делеций в локусе *AZFc*: А – азооспермией (n=105); Б – олигозооспермией тяжелой степени (n=192); В – олигозооспермией умеренной степени (n=136); Г – астено-/тератозооспермией (n=158).

У пациентов с делецией b2/b3 наиболее частым вариантом гена *AR* по САGn полиморфному локусу являлся аллель с количеством повторов 21 (как во всех подгруппах мужчин с патозооспермией), а у мужчин с делецией gr/gr, как и у мужчин с азооспермией без делеций в локусе AZFc, наиболее частым аллелем являлся вариант с 25 повторами (таблица 3).

Таблица 3. Количество САG-повторов у мужчин с патозооспермией и частичными делециями в локусе AZFc.

| Группы пациентов | Количество САG-повторов, n | | |
|---|----------------------------|------------------------------------|-----------|
| | min-max | <i>Me</i> Квантили (25%-95%) | <i>Mo</i> |
| Пациенты с патозооспермией и делецией b2/b3 (n=276) | 14-32 | 22 (20-24) | 21 |
| Пациенты с патозооспермией и делецией gr/gr (n=111) | 15-32 | 22 (20-25) | 25 |
| Пациенты с патозооспермией и делецией sY1197 (n=10) | 16-26 | 23 (21-25) | - |

Среди мужчин со спермиологическим диагнозом «нормозооспермия» выявлено следующее распределение частичных делеций в локусе AZFc: 10 пациентов с делецией b2/b3, 7 пациентов с делецией gr/gr и 1 пациент с делецией sY1197. Среди мужчин с нормозооспермией и частичными делециями в локусе AZFc количество САG-повторов в экзоне 1 гена *AR* варьировало от 19 до 27.

В подгруппе мужчин с патозооспермией и делецией b2/b3 выявлено 18 аллельных вариантов. Количество САG-повторов варьировало от 14 до 32 (таблица 3 и рисунок 4). В 83,7% случаев встречались аллели с количеством тринуклеотидных повторов от 19 до 25. У 16,4% пациентов отмечены аллели с другим числом САG-повторов. Среди мужчин с патозооспермией и делецией gr/gr выявлено 16 аллельных вариантов от 15 до 32 (таблица 3 и рисунок 4).

В группе мужчин с делецией gr/gr в 77,4% случаев выявлены аллели с количеством повторов от 20 до 26, остальные аллели регистрировали в 22,5% случаев. В группе мужчин с патозооспермией и делецией sY1197 выявлено 6 аллельных вариантов, которые варьировали от 16 до 26 повтора (таблица 3 и рисунок 4), при этом среди них отсутствовали аллели с САG-повторами 19, 20 и 22, что обусловлено небольшим размером данной подгруппы. САG-повторы с числом повторов 21 и 23-25 выявлены у 8 из 10 пациентов этой подгруппы, у остальных двух мужчин данной подгруппы выявлены аллели с САG-повторами 16 и 26.

Аллельный вариант гена *AR* с 25 САG-повторами у мужчин с патозооспермией и делецией gr/gr регистрировали у 16% пациентов, что выше, чем у пациентов с делецией b2/b3 (11%). Данный аллель также выявлен у 2 из 10 пациентов с делецией sY1197, однако учитывая немногочисленность данной подгруппы (n=10) и то, что этот САG-повтор является одним из частых, нельзя точно судить о частоте разных аллелей гена *AR* в анализируемой подгруппе мужчин. Делеция локуса sY1197,

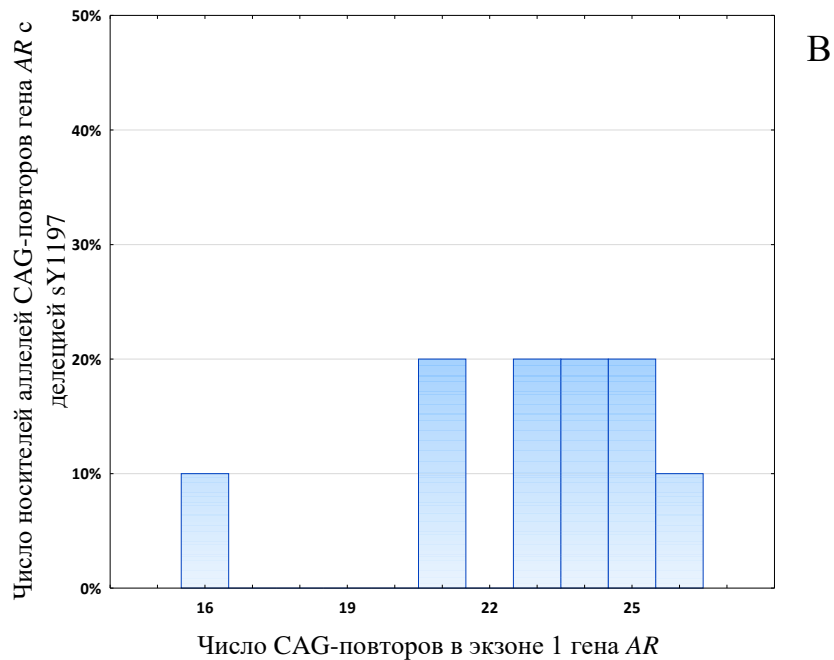
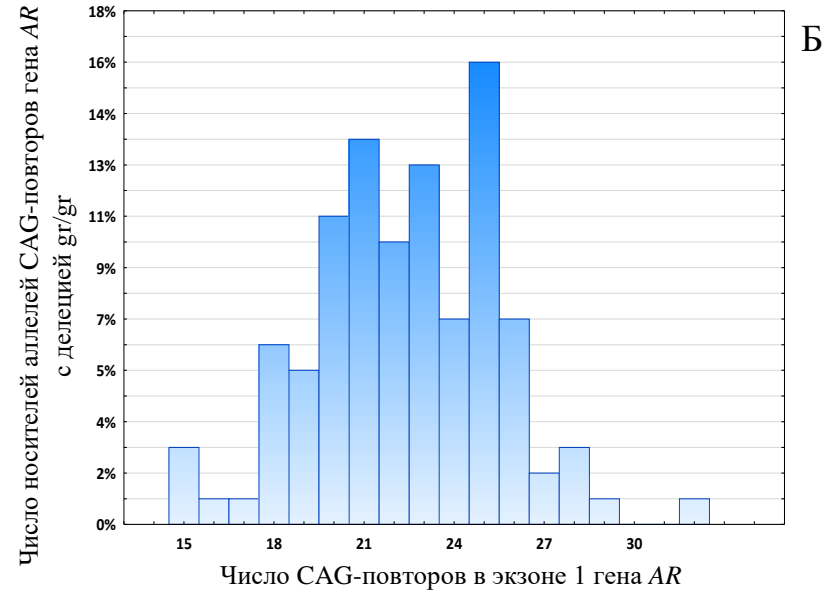
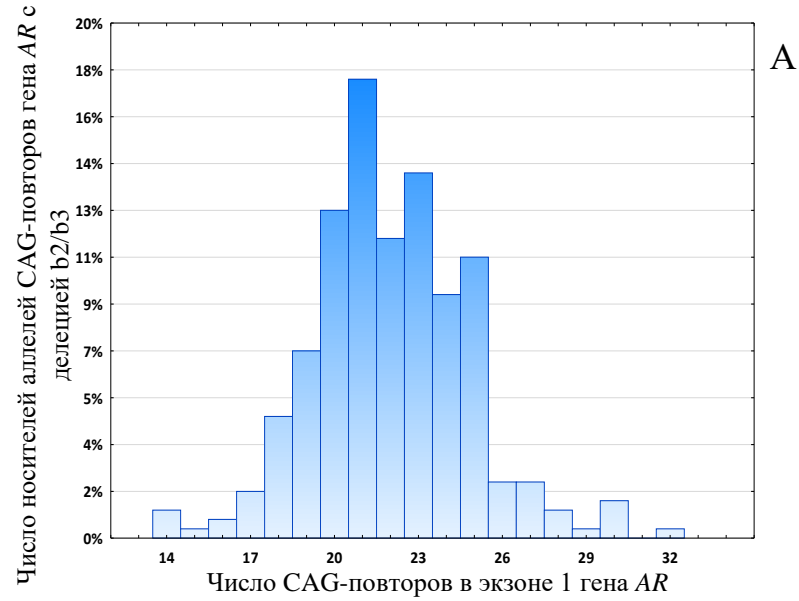


Рисунок 4. Распределение CAG-аллелей андрогенного рецептора (*AR*) по частоте встречаемости у российских мужчин с патозооспермией, имеющих различные частичные делеции в локусе *AZFc*: А – с делецией b2/b3 (n=276), Б – с делецией gr/gr (n=111), В – с делецией sY1197 (n=10).

располагающегося в палиндроме P3 (проксимальная граница региона AZFc), встречается крайне редко у мужчин из различных популяций, в том числе у мужчин из России [Черных и др., 2022]. Ее влияние на сперматогенез и мужскую фертильность в связи с низкой встречаемостью недостаточно исследовано.

Среди мужчин с нормозооспермией частота делеций b2/b3 составила 55,5%, gr/gr – 38,9% и sY1197 – 5,5%, в группе патозооспермии с частичными делециями в локусе AZFc доля делеций b2/b3, gr/gr и sY1197 составила – 69,5%, 27,9% и 2,6% соответственно. Необходимо учесть, что группа состояла пациентов с микроделециями AZFc состояла исключительно из мужчин с патозооспермией и делеций b2/b3, gr/gr, sY1197, данные частичные делеции локуса AZFc (b2/b3, gr/gr и sY1197). Частичные делеции региона AZFc отмечены и в группе мужчин с нормозооспермией (n=18). Доля встречаемости микроделеций хромосомы Y при сравнении между подгруппами значимо не различалась, что свидетельствует об отсутствии влияния делеций b2/b3, gr/gr и sY1197 на нарушение мужской фертильности.

В литературных источниках не обнаружено работ, в которых исследован CAGn полиморфный локус гена AR в зависимости от генотипа по хромосоме Y, в частности у мужчин с частичными делециями локуса AZFc. Учитывая, что некоторые варианты по данным локусам могут являться факторами нарушения сперматогенеза, их одновременное наличие в геноме может иметь аддитивный эффект. В связи с чем необходимым является проведение дальнейших исследований на более крупных выборках мужчин с различными типами частичных делеций региона AZFc.

Исследование общей выборки мужчин с бесплодием, связанным с патозооспермией, не выявило зависимости нарушения фертильности от количества тринуклеотидных CAGn повторов. После этого все выявленные аллельные варианты CAG-полиморфизма гена AR были разделены по числу повторов на «короткие» ($n \leq 18$), «средние» ($n=19-25$) и «длинные» ($n \geq 26$) аллели. Частоты «коротких», «средних» и «длинных» CAG-повторов гена AR в группах у мужчин с бесплодием, мужчин с нормозооспермией и с доказанной фертильностью приведены в таблице 4, и на рисунке 5.

Частота «коротких» ($n \leq 18$) аллелей гена AR у пациентов с азооспермией, олигозооспермией тяжелой и умеренной степени составила – 8,6%, 9,4% и 9,5% соответственно, у мужчин с астено-/тератозооспермией, с нормозооспермией и доказанным отцовством – 6,3%, 1,0% и 5,2% соответственно.

При сравнительном анализе данных литературы и полученных нами результатов выявлено отличие по частоте «коротких» CAG-повторов у мужчин с нарушением фертильности, что может быть связано с особенностями выборок, клиническими критериями отбора пациентов с определенным спермиологическим диагнозом, а также с малым количеством пробандов в группах исследования, описанных в литературных источниках [Plaseski T. et al., 2007; Mifsud A. et al., 2001; al Zoubi M.S. et al., 2020; Komri S. et al., 1999; Giagulli V.A. et al., 2014].



Рисунок 5. Частота «коротких» (CAGn, n≤18), «средних» (CAGn, n=19-25) и «длинных» (CAGn, n≥26) CAG-аллелей в группе мужчин с: 1 – азооспермией; 2 – олигозооспермией тяжелой степени; 3 – олигозооспермией умеренной степени; 4 – астено-/тератозооспермией; 5 – нормозооспермией; 6 – фертильные мужчины; 7 – с патозооспермией делецией sY1197; 8 – с патозооспермией делецией b2/b3; 9 – с патозооспермией делецией gr/gr.

Таблица 4. Частота «коротких», «средних», «длинных» аллелей в экзоне 1 гена рецептора андрогенов (*AR*) у российских мужчин с различными формами нарушения фертильности и группах сравнения

| Группа/подгруппа (n) | Частота САG-аллелей гена <i>AR</i> , n(%) | | | | | |
|--|---|------|--------------------------|------|----------------------|------|
| | «короткие» (n <18) | | «средние» (n = 19-25) | | «длинные» (n >26) | |
| | абс | % | абс | % | абс | % |
| Нормозооспермия (n= 101) | 1 | 1,0 | 83 | 82,2 | 17 | 16,8 |
| Доказанное отцовство (n =286) | 15 | 5,2 | 247 | 86,4 | 24 | 8,4 |
| Пациенты с патозооспермией без частичных делеций локуса AZFc (n =597) | 50 | 8,4 | 474 | 79,4 | 73 | 12,2 |
| Азооспермия (n =105) | 9 | 8,6 | 84 | 80,0 | 12 | 11,4 |
| Олигозооспермия тяжелой степени (n = 160) | 14 | 8,7 | 128 | 80,0 | 18 | 11,2 |
| Олигозооспермия умеренной степени (n =82) | 9 | 10,9 | 65 | 79,3 | 8 | 9,7 |
| Астено-/гератозооспермия (n =250) | 18 | 7,2 | 197 | 78,8 | 35 | 14,0 |
| Пациенты с патозооспермией и частичными делениями локуса AZFc (n =397) | 37 | 9,3 | 323 | 81,4 | 37 | 9,3 |
| С патозооспермией и делецией b2/b3 (n =276) | 24 | 8,7 | 231 | 83,7 | 21 | 7,6 |
| С патозооспермией и делецией gr/gr (n =111) | 12 | 10,8 | 84 | 75,7 | 15 | 13,5 |
| С патозооспермией и делецией sY1197 (n =10) | 1 | 10,0 | 8 | 80,0 | 1 | 10,0 |

Частота «средних» (n=19-25) повторов, более частых САG-аллелей варьировала от 77,2% до 86,4% и существенно не различалась в анализируемых группах. По данным литературы доля «средних» САG-повторов варьирует от 27,7% до 83,9% [Plaseski T. et al., 2007; Mifsud A. et al., 2001; al Zoubi M.S. et al., 2020; Komri S. et al., 1999; Giagulli V.A. et al., 2014]. Таким образом доля «средних» аллелей гена *AR* по количеству САG-повторов в исследованиях, опубликованных более ранних источниках литературы, существенно не отличалась от полученных нами результатов. У мужчин с олигозооспермией умеренной степени выявлено наибольшее количество вариантов САGn-повторов, чем у мужчин с данной формой патозооспермии из других популяций, и мужчин с другими сперматологическими диагнозами что, вероятно, связано с большим количеством обследованных в нашей выборке.

В исследованных нами группах пациентов с патозооспермией без частичных делеций в локусе AZFc и у мужчин с нормозооспермией доля «длинных» ($n \geq 26$) вариантов CAGn полиморфизма составила 12,2% и 16,8% соответственно. 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%.

При сравнении литературных данных с собственными результатами значимых различий по частоте «длинных» аллелей не выявлено. В некоторых группах, ранее описанных в литературе [Меликян Л.П. и др., 2020; Batiha O. et al., 2018; 28. Nenonen H.A. et al. 2011; Pan B. et al., 2016], доля «длинных» аллелей была выше, чем в исследованной нами выборке, что может быть связано с ее более крупным размером и малыми размерами других выборок, исследованных ранее. По результатам нашего исследования не выявлена статистически значимая корреляция показателей спермограммы (концентрации и общего количества сперматозоидов в эякуляте, подвижности и количества морфологически нормальных форм сперматозоидов) от количества CAG-повторов гена AR.

Исследование показало некоторые различия по частоте «коротких», «средних» и «длинных» вариантов CAGn-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 < 15 млн/мл и менее 39 млн соответственно). В группе «коротких» медиана по числу CAG-повторов равнялась 18, а показатели спермограммы соответствовали критериям диагноза олигозооспермия (концентрация и общее количество сперматозоидов в эякуляте составили < 15 млн/мл и менее 39 млн 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 (ОШ) 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» ($n \leq 18$, $p < 0,01$) аллелей: $p = 0,006$ и $p = 0,01$ соответственно (таблица 5).

У мужчин-носителей «коротких» аллелей при расчете ОШ отмечена зависимость наличия олигозооспермии от носительства аллелей с количеством CAG-повторов менее 18; ОШ=9,5; ОШ=12,3 раз выше, чем у носителей «средних» и «длинных» повторов. Учитывая, что в группе мужчин с нормозооспермией ($n=101$) только у одного выявлен короткий (CAGn=18) вариант.

В подгруппе пациентов-носителей «коротких» CAG-повторов, имеющих азооспермию ОШ= 9,38, хотя $p=0,0187$ превышало статистическую достоверность. Вероятно, необходима большая выборка для выявления связи «коротких» повторов с отдельными формами патозооспермии и тяжестью нарушения сперматогенеза.

Таблица 5. Значения отношения шансов (ОШ) при сравнении группы мужчин с нормозооспермией и пациентов с различными формами патозооспермии без частичных делеций в локусе AZFc

| Спермиологический диагноз | | Отношение шансов, ОШ | | |
|---------------------------|---|----------------------|---------------------|------------------|
| | | (CAG)n, n<18 | (CAG)n, n= 19-25 | (CAG)n, n>26 |
| Нормозооспермия (n= 101) | Олигозооспермия умеренной степени (n =82) | 12,3 (p=0,006) | 0,8 (p =0,71) | 0,5 (p =0,19) |
| | Олигозооспермия тяжелой степени (n = 160) | 9,5 (p =0,01) | 0,8 (p =0,74) | 0,6 (p =0,26) |
| | Астено-/тератозооспермия (n =250) | 7,7 (p =0,0180) | 0,8 (p =0,5) | 0,8 (p =0,51) |
| | Азооспермия (n =105) | 9,38 (p =0,0187) | 0,8 (p =0,72) | 0,6 (p=0,32) |

Полученные нами данные свидетельствуют, что аллельные варианты с количеством CAG–повторов 18 и менее являются фактором, предрасполагающим к нарушению сперматогенеза и патозооспермии, характеризующихся сниженным количеством сперматозоидов в эякуляте - олигозооспермией.

Основываясь на полученных данных нашего исследования и их сравнения с результатами данных литературных источников, можно заключить, что олигозооспермия тяжелой степени и олигозооспермия умеренной степени ассоциированы с «короткими» CAG-полиморфными вариантами гена андрогенного рецептора в определенных выборках и популяциях.

ВЫВОДЫ

1. В выборке российских мужчин с нарушением фертильности, связанным с патозооспермией неясного генеза (n=994), количество CAG–повторов в экзоне 1 гена *AR* варьировало от 7 до 37 (медиана – 22, квантили 25%-75% – 20-24), у мужчин с нормозооспермией (n=101) – от 18 до 30 (медиана – 22, квантили 25%-75% – 21-25), у фертильных мужчин (n=286) – от 13 до 31 (медиана – 21, квантили 25%-75% – 20-24). Статистически значимых различий по количеству CAG–повторов между группами не выявлено.
2. Частоты аллелей гена *AR* с «короткими» (n≤18), «средними» (n=19-25) и «длинными» (n≥26) CAG–аллелями между группами мужчин с патозооспермией с наличием и без частичных делеций региона AZFc хромосомы Y статистически значимо не различались. В группах мужчин с патозооспермией с наличием и без частичных AZFc делеций хромосомы Y «короткие» CAG–повторы отмечены чаще по сравнению с нормозооспермией (10 раз) и фертильными мужчинами (2 раза), но без статистически значимого различия.
3. В группе мужчин с нарушением фертильности, не имеющих частичных AZFc делеций хромосомы Y, не выявлено статистически значимой зависимости

основных сперматологических параметров (концентрации и общего количества сперматозоидов в эякуляте; количества (%) живых, прогрессивно подвижных (PR) и морфологически нормальных сперматозоидов) от количества CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR*.

4. Выявлены статистически значимые различия по частоте аллелей гена *AR*, содержащих ≤ 18 CAG-повторов, между группами пациентов, не имеющих частичных AZFc делеций хромосомы Y, с олигозооспермией умеренной и тяжелой степени и мужчин с нормозооспермией ($p=0,006$ и $p=0,01$, соответственно). У мужчин с «короткими» CAG-повторами шанс развития патозооспермии выше, чем у носителей «средних» и «длинных» CAG-повторов (ОШ=12,3 и ОШ=9,5, соответственно). Аллели гена *AR*, содержащие ≤ 18 CAG-повторов, являются фактором, предрасполагающим к нарушениям мужской фертильности и сперматогенеза, характеризующимся сниженным количеством сперматозоидов в эякуляте.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Анализ количества CAG-повторов в экзоне 1 гена андрогенного рецептора (*AR/HUMARA*) может быть рекомендован в качестве дополнительного молекулярно-генетического исследования у мужчин с нарушением фертильности, связанной с патозооспермией неясного генеза, при наличии спермиологического диагноза олигозооспермия и азооспермия.
2. Мужчинам носителям «полных» мутаций ($n \geq 41$) и «коротких» ($n \leq 18$) аллельных вариантов CAGn полиморфного локуса гена *AR*, рекомендуется динамическое наблюдение у уролога или андролога.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Проведение дальнейших молекулярно-генетических исследований с целью выявления иных генетических факторов, влияющих на нарушение фертильности.
2. Изучение механизма AP при патогенезе, в частности, выявление нарушения в звеньях каскада сигнального пути.
3. Исследование концентрации гормонов, влияющих на сперматогенез в комплексе с генетическими факторами в динамике.

Список сокращений

AP – андрогеновый рецептор
 НФП – нарушение формирования пола
 ПААГ – полиакриламидный гель
 ОТС – олигозооспермия тяжелой степени
 ОУС – олигозооспермия умеренной степени
 ОШ – отношение шансов
 СБМА – спинально-бульбарная мышечная атрофия
AR/HUMARA – ген андрогенного рецептора
 AZF – Azoospermia factor, фактор азооспермии

CAG – тринуклеотидный повтор, состоящий из нуклеотидов: цитозин-аденин-гуанин,

CNV – copy number variation – вариация числа копий

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Меликян Л.П., Черных В.Б. Полиморфизм CAG-повторов гена рецептора андрогенов, болезнь Кеннеди и мужское бесплодие. Андрология и генитальная хирургия. 2019, Том 20, № 2, С. 35-39 (Scopus, Web of Science).

2. Меликян Л.П., Блинец Е.А., Поляков А.В., Миронович О.Л., Кузнецова И.А., Сорокина Т.М., Штаут М.И., Седова А.О., Курило Л.Ф., Соловова О.А., Черных В.Б. Полиморфизм CAG-повторов в экзоне 1 гена андрогенового рецептора у российских мужчин с нормозооспермией и патозооспермией. Генетика. 2020, Том 56, № 8, С. 1-7. [Melikyan L.P., Bliznetz E.A., Polyakov A.V., Mironovich O.L., Kuznetsova I.A., Sorokina T.M., Shtaut M.I., Sedova A.O., Kurilo L.F., Solovova O.A., Chernykh V.B. Polymorphism of CAG repeats in exon 1 of the androgen receptor gene in russian men with various forms of pathozoospermia. Russian Journal of Genetics. 2020, Vol. 56, No. 8, pp. 1000–1005.] (Scopus).

3. Меликян Л.П., Блинец Е.А., Штаут М.И., Седова А.О., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Поляков А.В., Черных В.Б. Исследование влияния CAG-полиморфизма гена андрогенового рецептора (AR) на сперматологические показатели у российских мужчин. Медицинская генетика. 2020, Том 19, № 10, С. 19-31 (ВАК).

4. Меликян Л.П., Блинец Е.А., Штаут М.И., Седова А.О., Сорокина Т.М., Курило Л.Ф., Поляков А.В., Черных В.Б. CAG-полиморфизм гена андрогенового рецептора и сперматологические показатели у мужчин с нормозооспермией и патозооспермией, имеющих и не имеющих микроделеции Y-хромосомы. Андрология и генитальная хирургия. 2021, Том 20, № 2, С. 66-77 (Scopus).

РЕЗЮМЕ

кандидатской диссертации Меликян Люси Петросовны (Российская Федерация) «Полиморфизм CAG-повторов гена андрогенного рецептора при патозооспермии и мужском бесплодии»

Представленная работа направлена на изучение влияния полиморфного локуса CAGn гена AR на фертильность и сперматологические показатели у российских мужчин с нарушением фертильности. Полиморфизм CAG-повторов в экзоне 1 гена андрогенового рецептора (AR/HUMARA) ассоциирован с патозооспермией и нарушением мужской фертильности, однако его влияние на сперматогенез и показатели семенной жидкости недостаточно изучено. В исследование были включены 994 неродственных российских пациента с патозооспермией, из них 597 пациентов без микроделеций Y-хромосомы и 397 пациентов с частичными делециями региона AZFc Y-хромосомы. Контрольную группу составил 101 мужчина

с нормозооспермией и 286 мужчин с доказанным отцовством. По числу тринуклеотидных повторов гена *AR* все пациенты были разделены на подгруппы: носители коротких ((CAG) $n \leq 18$), средних ((CAG) $n = 19-25$) и длинных ((CAG) $n \geq 26$) аллелей. В результате обнаружена зависимость нарушения фертильности от «коротких» аллелей. В частности, у мужчин-носителей «коротких» повторов в 9 и 12 раз выше шанс развития патозооспермии характеризующейся сниженным количеством сперматозоидов в эякуляте. На основе полученных данных разработаны практические рекомендации.

SUMMARY

of the dissertation « CAG-Repeats Polymorphism in the Androgen Receptor Gene in pathozoospermia and male infertility » by Melikian Liusia Petrosovna (Russian Federation)

The presented work is aimed at studying the effect of the CAG n polymorphic locus of the *AR* gene on fertility and spermatological indicators in Russian men with impaired fertility. Polymorphism of CAG repeats in exon 1 of the androgen receptor gene (*AR/HUMARA*) is associated with pathozoospermia and male sub-/infertility, but its effect on spermatogenesis and seminal fluid parameters is under evaluated. The study included 994 unrelated Russian patients with pathozoospermia, including 597 patients without Y chromosome microdeletions and 397 patients with partial deletions of the AZFc region of the Y chromosome. The control group consisted of 101 normozoospermic men and 286 fertile men. According to the number of trinucleotide repeats of the *AR* gene, all patients were divided into subgroups: carriers of short ((GAG) $n \leq 18$), medium ((GAG) $n = 19-25$) and long ((GAG) $n \geq 26$) alleles. As a result, the dependence of fertility disorders on "short" alleles was found. In particular, male carriers of "short" repeats are 9 and 12 times higher than the chance of developing pathozoospermia characterized by a reduced number of sperm in the ejaculate. Based on the data obtained, practical recommendations have been developed.