

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.04/30.12.2019.Tib.30.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**РЕСПУБЛИКА ИХТИСОСЛАШТИРИЛГАН ГЕМАТОЛОГИЯ
ИЛМИЙ-АМАЛИЙ ТИББИЁТ МАРКАЗИ**

ИРГАШЕВ ДИЛМУРАД СААТОВИЧ

**ЭРКАКЛАРДА ЖИНСИЙ ДИФФЕРЕНЦИЯЛАНИШ ВА
РЕПРОДУКТИВ ФУНКЦИЯСИ БУЗИЛИШИЛАРИНИНГ КЛИНИК-
ГОРМОНАЛ ВА МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК АСПЕКТЛАРИ**

14.00.16–Нормал ва патологик физиология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

ТОШКЕНТ–2023

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)

Contents of dissertation abstract of doctor of sciences (DSc)

Иргашев Дилмурад Саатович

Эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив функцияси бузилишиларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектлари..... 3

Иргашев Дилмурад Саатович

Клинико-гормональные и молекулярно-генетические аспекты нарушений половой дифференцировки и репродуктивной функции у мужчин..... 27

Irgashev Dilmurad Saatovich

Clinical-hormonal and molecular-genetic metabolic aspects of disorders of sexual differentiation and reproductive functions in men..... 51

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works..... 55

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.04/30.12.2019.Tib.30.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**РЕСПУБЛИКА ИХТИСОСЛАШТИРИЛГАН ГЕМАТОЛОГИЯ
ИЛМИЙ-АМАЛИЙ ТИББИЁТ МАРКАЗИ**

ИРГАШЕВ ДИЛМУРАД СААТОВИЧ

**ЭРКАКЛАРДА ЖИНСИЙ ДИФФЕРЕНЦИЯЛАНИШ ВА
РЕПРОДУКТИВ ФУНКЦИЯСИ БУЗИЛИШИЛАРИНИНГ КЛИНИК-
ГОРМОНАЛ ВА МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК АСПЕКТЛАРИ**

14.00.16–Нормал ва патологик физиология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

ТОШКЕНТ–2023

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Олий таълим, фан ва инновациялар вазирлиги ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2022.4.DSc/Tib759 рақам билан рўйхатга олинган.

Докторлик диссертацияси Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказидабajarилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасига (www.tma.uz) ва «Ziyonet» ахборот таълим порталида (www.ziyonet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:

Каримов Хамид Якубович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Зокиров Ёркин Узуевич
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Ирискулов Бахтияр Уктямович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Щеголев Александр Иванович
тиббиёт фанлари доктори, профессор (Россия Федерацияси)

Етакчи ташкилот

Бухоро давлат тиббиёт институти

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.04/30.12.2019.Tib.30.03 рақамли Илмий кенгашнинг 2023 йил «_____» _____ соат _____даги мажлисида бўлиб ўтади(Манзил: 100109, Тошкент шаҳри, Фаробий кўчаси, 2-уй, собиқ Олмазор тиббиёт коллежи, 1-қават. Тел./факс: (99878) 150-78-25, e-mail: info@tma.uz).

Диссертация билан Тошкент тиббиёт академиясининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100109, Тошкент шаҳри, Фаробий кўчаси 2 уй, Тошкент тиббиёт академияси, 2-ўқув бинонинг “Б” корпуси, 1-қават, 7-хона.Тел./факс: (99878) 150-78-14).

Диссертация автореферати 2023 йил «_____» _____куни тарқатилди.

(2023 йил «_____» _____даги _____ рақамли реестр баённомаси).

Г.И.Шайхова

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси,
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Д.Ш.Алимухамедов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий
котиби, тиббиёт фанлари доктори, доцент

Р.Дж.Усманов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси, тиббиёт
фанлари доктори, доцент

Кириш (фан доктори (DSc) диссертациясининг аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда бепуштлик кенг тарқалган, кўп омилли патологик ҳолат бўлиб, эркакларнинг 7% ушбу патологиядан азият чекишади. Турли муаллифлар маълумотларига кўра «...бепушт эр-хотин структурасида эркак улуши 30 дан 50% гачани ташкил қилади, шулардан 30% - фақат эркак, 20% - қўшма бепуштликка эга жуфтлардир...»¹. Эркак бепуштлиги (ЭБ)нинг энг аҳамиятли этиологик сабаби бўлиб қуйидагилар ҳисобланади: мояк олди (гипоталамус-гипофиз-мояклар марказ дисфункцияси, гонадотропинларнинг ва лютеинловчи гормоннинг алоҳидаланган етишмаслиги, туғма гипогонадотроп синдром, гиперпролактинемия, гемохроматоз ва б.); моякка оид (Клайнфельтер синдроми, Y-хромосоманинг микроделециялари, андрогенларга сезувчанлик йўқлиги синдромлари, мояклар йўқлиги синдроми, криптархизм, варикоцеле ва б.); мояк орти (уруғ чиқарувчи йўлларнинг ўказувчанлиги бузилиши ёки дисфункцияси). Жинсий гормон ишлаб чиқарилишининг орттирилган етишмаслиги сабаблари бўлиб моякни хирргик йўл билан олиб ташлаш, моякларнинг радиация таъсирида бўлганлиги, бошдан ўтказилган эпидемик паротит ва бошқалар хизмат қилади. Кўпчилик беморларда ЭБ патогенези негизида сперматозоидлар йўқлиги ёки улар миқдорининг камайиши (азооспермия ёки олигоспермия), ёки морфологик аномал бўлган сперматозоидлар улушининг ошиши (тератозооспермия) ётади. Эркаклар фертиллигини текшириш бўйича жаҳоннинг етакчи давлатларининг илмий лойиҳалари тажрибаси шуни кўрсатмоқдаки, фақатгина клиник-гормонал ва молекуляр-генетик тадқиқотларнинг натижаларини ягона миллий дастурга бирлаштириш бепуштлиги бор эркакларнинг табиий фертиллигини самарали тарзда тиклаш имконини яратиш бугунги кунда ҳал қилиниш зарур долзарб муаммолардан биридир.

Жаҳонда эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектларитақомиллаштириш мақсадида қатор илмий тадқиқотлар амалга оширилмоқда. Бу борада эркаклардаги турли репродуктив дисфункцияларда ҳар хил хромосомали ўзгаришлар ва Y-хромосоманинг AZF гени микроделециясини, гонадотропин-релизинг гормон рецептори гени (GNRHR) ва унинг турли генотипик вариантларининг эркак бепуштлиги шаклланишидаги ўрни, фолликула кучайтирувчи гормонни бошқарувчи гени (FSHB) ва гонадотроп гормон бошқарувчиси – фолликула кучайтирувчи гормон рецептори гени (FSHR) полиморфизмларининг эркак фертиллиги бузилиши ривожланишидаги ҳиссасини, бепушт эркак беморлар орасида LHB лютеинловчи гормон β-занжири гени Gly102Ser миссенс-мутацияси тақсимланиши ва популяция хусусиятларини баҳолашга қаратилган

¹Butz H, Nyiró G, Kurucz PA, et al. Molecular genetic diagnostics of hypogonadotropic hypogonadism: from panel design towards result interpretation in clinical practice. Hum Genet. 2021;140(1):113-134.

ижтимоий-гигиеник чора-тадбирларни ишлаб чиқишга қаратилган тадқиқотлар алоҳида илмий ва амалий аҳамият касб этади.

Мамлакатимизда тиббиёт соҳасини ривожлантириш, тизимни жаҳон андозалари талабларига мослаштириш, жумладан, турли соматик касалликларни ташхислаш, даволаш ва олдини олиш сифатини оширишга қаратилган кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда. Бу борада 2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегиясининг еттита устувор йўналишига мувофиқ аҳолига тиббий хизмат кўрсатиш даражасини янги босқичга кўтаришда «...бирламчи тиббий-санитария хизматида аҳолига малакали хизмат кўрсатиш сифатини яхшилаш...»² каби вазифалар кўйилган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда, жумладан, эркакларда жинсий дифференциаланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти тақомиллаштириш юзасидан тадқиқотларни амалга ошириш мақсадга мувофиқ.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ–60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида», 2017 йил 16 мартдаги ПФ–4985 «Шошилич тиббий ёрдамни келгусида тақомиллаштириш бўйича чора-тадбирлар тўғрисида», 2018 йил 7 декабрдаги ПФ-5590-сон «Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан тақомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлари тўғрисида»ги фармонлари, 2017 йил 20 июндаги ПҚ-3071-сон «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига 2017-2021 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида», 2019 йил 19 апрелдаги ПҚ-4295-сон «2019 - 2021 йилларда республика аҳолисига эндокринология ёрдами кўрсатишни тақомиллаштириш бўйича Миллий дастурни тасдиқлаш тўғрисида», 2022 йил 26 январдаги ПҚ-102-сон «Эндокринология хизматини тақомиллаштириш ва кўламини кенгайтириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий тадқиқотлар шарҳи³. Эркакларда жинсий дифференциаланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти

²Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ–60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

³Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи www.washington.edu, www.ku.edu, www.atlantaoralpathology.com, www.unisr.it, www.unipv.it, www.uksh.de, www.keio.ac.jp, www.ico.gencat.cat, www.uoa.gr, www.ufsc.br, www.yonsei.ac.kr, www.sydney.edu.au, www.jazanu.edu.sa, www.rims.edu.in, www.mioi.ru, www.cancercenter.uz, www.toshvilonko.uz сайтлар асосида ишлаб чиқилган.

такомиллаштиришга қаратилган илмий тадқиқотларга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг қатор илмий марказлари ва олий таълим муассасаларида, жумладан: University of Washington, University of California, Children's National Health System, Mayo Clinic, Lincoln Medical Center, Ohio State University, University of Miami (АҚШ), Midwestern University (Исландия); University of Helsinki (Финландия); Turku University, Eskisehir City Hospital (Туркия); University Medical Center Utrecht (Голландия); Medical University of Bialystok (Польша); Haramaya University (Эфиопия) University of Inje (Жанубий Корея), University of Oxford (Буюк Британия), University of Kebangsaan (Малайзия), University of Yonsey (Жанубий Корея), Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази (Ўзбекистон) да олиб борилмоқда.

Жаҳонда эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектлари такомиллаштиришга йўналтирилган илмий тадқиқотлар юзасидан қатор илмий-амалий натижалар олинган: жумладан, эркакларда учрайдиган бепуштлиқнинг эрта ташхислаш ва самарали даволаш тартибини амалга ошириш механизми исботланган National health system, Вашингтон (АҚШ); эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал хусусиятларнинг ўрни исботланган исботланган University School of Medicine Krakow (Польша); эркакларнинг репродуктив фаолиятини бузилишларининг молекуляр-генетик аспектлари аҳамияти очиқ берилган исботланган University of King Saud, University of Yong Sey, University of Korea, University of Seoul (Саудия Арабистони) ҳамда эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектлари такомиллаштирилган (Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази, Ўзбекистон).

Дунёда эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектлари такомиллаштиришни илмий асослаш бўйича қуйидаги устувор йўналишларда илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда, жумладан, ксенобиотиклар биотрансформацияси CYP1A1 ва CYP2C19 генларининг генотипик вариантлари тарқалганлигининг хусусиятларини текшириш ва ушбу генларнинг эркак бепуштлиги шаклланишидаги аҳамиятини асослаш; репродуктив дисфункцияга эга эркакларни текшириш баённомасини ишлаб чиқиш ва репродуктив бузилишларни эрта башоратлашга мўлжалланган оқилона ёндашиш алгоритмининг ва ВРТ дастурлари доирасида репродуктив функцияларни тиклашга қаратилган янги ёндашишларни такомиллаштириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Тиббиёт амалиётига молекуляр-генетик ва цитогенетик технологиялар услублари жорий қилиниши билан ИМБда патоспермия этиопатогенезини аниқлаштириш

истикболи очилди ва авлодга нормал генларни ўтказилишини таъминлайдиган замонавий ЁРТ услубларини (преимплантацион ташхисоти) ишлаб чиқиш имконияти пайдо бўлди. Лекин, ЁРТ борасида замонавий репродуктологиянинг анча жиддий муваффақиятларига қарамадан, эр-хотин жуфтларининг деярли 5-8% боласизликдан қийналишади, ЭБ эса ҳанузгача жиддий клиник ва тиббий-ижтимоий муаммолигича қолган (Bieth E, Hamdi SM, Miesusset R., 2021). Шунинг учун эркакларнинг гормонал ва метоболик статуси ва репродуктив фаолиятига таъсир қилувчи функционал генетик ва эпигенетик предикторлар аниқлаш бепуштликни олдини олишга қаратилган истикболли йўналишлардан бири ҳисобланади. Ҳозирги вақтда адабиёт манбаларида бошқарувчи генларнинг полиморф локуслари ассоциацияси ҳақидаги маълумотлар бор: жинсий гормонларнинг (GNRHR, FSHB, FSHR, LHB), идиопатик ЭБ ривожланиш хавфига эга ксенобиотиклар биотрансформацияси ферментлари (CYP1A1, CYP2C19, GSTM1, GSTT1 ва б.) (Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, de Roux N, Dodé C, Dunkel L, Dwyer AA, Giacobini P, Hardelin JP, Juul A, Maghnie M, Pitteloud N, Prevot V, Raivio T, Tena-Sempere M, Quinton R, Young J., 2015; Bøllehuus Hansen L, Lorenzen M, Bentin-Ley U, Nielsen JE, Krog H, Berg AH, Håkansson BS, Pedersen AM, Høst T, Juul A, Blomberg Jensen M., 2019; Bracke A, Peeters K, Punjabi U, Hoogewijs D, Dewilde S. A., 2018; Butz H, Nyírő G, Kurucz PA, et al. 2021; Cai Z, Li H., 2022). ЭБ ландшафтида жинсий хромосомаларнинг қатор структур аномалияларининг генетик ва фенотипик натижалари етарлича ўрганилмаган. Таъкидлаш жоизки, ЭБнинг генли структураси жуда ҳам мураккаб, сабаби сперматогенез бошқарилишига 2000 тадан ортиқ генлар қўшилган (Aliakbari F, Pouresmaeili F, Eshghifar N, Zolghadr Z, Azizi F., 2020; Aloyan K.A., Matveyev A.V., Morev V.V., Korneyev I.A., 2013; Amato LGL, Montenegro LR, Lerario AM, et al. New genetic findings in a large cohort of congenital hypogonadotropic hypogonadism. Eur J Endocrinol, 2019).

Ўзбекистонда турли касалликларни сурнкали шаклиги ўтишни патофизиологик ва молекуляр генетик баҳолаш ва беморларни умр кўриш давомийлигини узайтириш борасида қатор илмий тадқиқотлар олиб борилган (Каримов Х.Я., 2021; 2022; Ирисқулов Б.У., 2022; Утямьшев Р.Р., 2022; Бобоев К.Т., 2022), бироқ, эркакларда жинсий дифференциаланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти тақомиллаштирилмаган.

Республикада ҳанузгача ЭБ структурасида гормонал, хромосомали ва генли бузилишларнинг солиштирма оғирлиги ўрганилмаган. Хусусий текшириш баённомалари ва ушбу муаммони даволаш борасидаги шахсга йўналтирилган ёндашишлар яратилмаган. Эркакларнинг репродуктив фаолиятларини бузилишларини ташхислашда молекуляр-генетик, цитогенетик услубларни қўллаш учун кўрсатмаларни ишлаб чиқиш, табиий фертилликни самарали тиклашга имкон берадиган замонавий ВРТ дастурларини ва клиник амалиётга жорий қилишнинг муҳим заруратини тақозо этади.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муссасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказининг илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ «Ўзбек миллатига мансуб эркаклардаги репродуктив дисфункцияда Y-хромосоманинг сублокусларида (AZFa, AZFb ва AZFc) турли функционал микроделецияларнинг учраш тезлиги, гонадалар ривожланишини назорат қилиш ва гаметогенезда иштирок этадиган гормонал бошқарувнинг тизимли генларини учраш тезлиги ва қийматларини баҳолаш» (2018–2022 йй.) мавзуси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади эркаклардаги репродуктив дисфункцияни эрта ташхислаш, эркаклар бепуштлиги ривожланиш хавфини башоратлашнинг янги самарали усулларини ишлаб чиқиш ва ёрдамчи репродуктив технологияларни қўллаш дастурини танлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

эркаклардаги турли репродуктив дисфункцияларда ҳар хил хромосомали ўзгаришлар ва Y-хромосоманинг AZF гени микроделециясини текшириш;

гонадотропин-релизинг гормон рецептори гени (GNRHR) ва унинг турли генотипик вариантларининг эркаклар бепуштлиги шаклланишидаги ўрнини баҳолаш;

фолликула кучайтирувчи гормонни бошқарувчи гени (FSHB) ва гонадотроп гормон бошқарувчиси – фолликула кучайтирувчи гормон рецептори гени (FSHR) полиморфизмларининг эркак фертиллиги бузилиши ривожланишидаги ҳиссасини баҳолаш;

эркак бепуштлиги бор беморлар орасида LHB лютеинловчи гормон β-занжири гени Gly102Ser миссенс-мутацияси тақсимланишини ва популяцион хусусиятларини баҳолаш;

ксенобиотиклар биотрансформацияси CYP1A1 ва CYP2C19 генларининг генотипик вариантлари тарқалганлигининг хусусиятларини текшириш ва ушбу генларнинг эркак бепуштлиги шаклланишидаги аҳамиятини баҳолаш;

репродуктив дисфункцияга эга эркакларни текшириш баённомасини ишлаб чиқиш ва репродуктив бузилишларни эрта башоратлашга мўлжалланган оқилона ёндашиш алгоритмининг ва ВРТ дастурлари доирасида репродуктив функцияларни тиклашга қаратилган янги ёндашишларни яратиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида 2019-2022 йиллар давомида Тошкент шаҳридаги «Доктор Д» хусусий шифохонасига мурожаат қилган 140 нафар бирламчи бепуштлиқ ташхиси қўйилган беморлар ҳамда назорат гуруҳини ташкил қилган 155 нафар шартли соғлом пациентлар олинган.

Тадқиқотнинг предмети сифатида эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти баҳолашда беморларнинг қоницито- ва молекуляр-генетик тадқиқотлар негизида ўзбек миллатига мансуб эркаклардаги репродуктив дисфункцияда Y-хромосоманинг

сублокусларида (AZFa, AZFb ва AZFc) турли функционал микроделецияларнинг учраш тезлиги, гонадалар ривожланишини назорат қилиш ва гаметогенезда иштирок этадиган гормонал бошқарувнинг тизимли генлари (GNRHR, FSHB, FSHR ва LHB) эркак фертиллиги бузилиши патогенезида ксенобиотиклар биотрансформацияси CYP1A1 и CYP2C19 генларининг энг функционал полиморф локуслари учраш тезлиги ва қийматларини баҳолаш материаллари олинган.

Тадқиқотнинг усуллари. Эркакларда жинсий дифференцияланишва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектларини баҳолашда клиник-лабаратор, инструментал, цитогенетик, молекуляр-генетик ва статистик тадқиқот усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

cito- ва молекуляр-генетик тадқиқотлар негизида ўзбек миллатига мансуб эркаклардаги репродуктив дисфункция патогенезида хромосомали ва генли бузилишлар патофизиологик ўзгаришларга боғлиқлиги исботланган;

Y-хромосоманинг сублокусларида (AZFa, AZFb ва AZFc) турли функционал микроделецияларнинг учраш тезлиги ва репродуктив функция бузилиши бор беморларда энг аҳамиятли хромосомали бузилишлар исботланган;

гонадалар ривожланишини назорат қилиш ва гаметогенезда иштирок этадиган гормонал бошқарувнинг тизимли генлари (GNRHR, FSHB, FSHR ва LHB) учраш тезлиги ва мутация спектрлари ва уларнинг эркаклар бепуштлиги патогенезидаги ўзгаришлар мойиллигини ўрни исботланган;

эркак фертиллиги бузилиши патогенезида ксенобиотиклар биотрансформацияси CYP1A1 и CYP2C19 генларининг энг функционал полиморф локуслари учраш тезлиги ва қийматлари, репродуктив тизим фаолиятини бузилиши шаклланишидаги генетик хусусиятлари исботланган;

гормонал бошқариш тизимли генларининг ва ксенобиотиклар биотрансформацияси номақбул генотипик вариантлари полиморфизмларини ташувчи эркакларда репродуктив фаолиятлари бузилишлари ривожланиши ва ифодаланганлик даражаси орасидаги бевосита боғлиқликлар исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

AZF микроделециясини, гормонал статусни бошқарувчи генлар полиморфизмини ва ксенобиотиклар биотрансформацияси генлар ферментларини цитогенетик ва молекуляр-генетик текшириш борасида олинган натижаларни эрта ташхислаш ва клиник кечишини башоратлаш учун ташхисий, башорат маркерлари танланган;

қўлга киритилган натижаларни беморнинг репродуктив потенциалини баҳолаш ва бепуштлиқни енгиб чиқиш борасида мос келадиган тактикани, шу жумладан ЁРТ дастурини танлаш тартиби баҳоланган;

фертилик бузилишлари ва патоспермиянинг тури шакллари мавжуд эркакларни ВРТ дастурида тайёрлаш алгоритми такомиллаштириш ҳамда генетик тестларни амалга оширишга кўрсатмалар ишлаб чиқилган;

репродуктив марказлари (шифокор-репродуктолог, уролог-андролог, акушер-гинеколог, тиббий генетик, эмбриологлар) мутахассисларига мўлжалланган услубий тавсияномага киритилган;

илк бора цито- ва молекуляр-генетик тадқиқотлар негизида ўзбек имплантига мансуб эркаклардаги репродуктив дисфункция патогенезида хромосомали ва генли бузилишлар ўрни баҳоланган;

беморларни текширишнинг янги диагностик алгоритми, ривожланишни башоратлаш мезонлари ва жинсий хужайралар дифференцировкаси ҳамда эркаклар репродуктив фаолияти бузилиш шакллари ва даражалари ҳисобга олинган ҳолда ва замонавий ЁРТ дастурлари қўлланилиши билан табиий фертиллиكنи тиклашга бўлган дифференциал ёндашиш ишлаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги ишда қўлланилган назарий ёндашув ва усуллар, олиб борилган тадқиқотларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, етарли даражада материал танланганлиги, қўлланилган усулларнинг замонавийлиги, уларнинг бири иккинчисини тўлдирадиган клиник-лаборатор, инструментал, цитогенетик, молекуляр-генетик ва статистик тадқиқот усуллар асосида эркакларда жинсий дифференциацияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектиларининг ўзига хослиги, халқаро ҳамда маҳаллий тажрибалар билан таққосланганлиги, хулоса, олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлаганлиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти клиник-лаборатор ва замонавий молекуляр-биологик технологиялар негизида генлар ва хромосомаларнинг ҳиссаси ҳақидаги янги маълумотлар олинганлиги, улар маҳсулотлари гаметогенезни бошқаришнинг энгмураккаб ички тармоқли ўзаро таъсирларида, эркаклардаги репродуктив дисфункция ривожланиш механизмида бевосита иштирок этиши, эркак бепуштлиги ривожланиши ва клиник шакллари билан ишончли ассоциацияланган хромосомали ўзгаришлар ва генларнинг генотипик вариантлари аниқланганлиги, бу эркаклардаги репродуктив дисфункция этиопатогенезини яхшироқ тўйнишга сабаб бўлиши, бу эса шахсга йўналтирилган тиббиёт томон яна бир қадам ҳисобланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти генетик, гормонал параметрларни қайд қилиш ва патоспермия даражасини баҳолаш орқали амалга оширилган комплекс текширишлар бепуштлик ривожланишини башорат қилиш имконини берганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Эркакларда жинсий дифференциацияланиш ва репродуктив функцияси бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектилари бўйича илмий тадқиқот натижалари асосида:

эркакларда жинсий дифференциацияланиш ва репродуктив функцияси бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектилари бўйича тадқиқотнинг илмий натижалари асосида ишлаб чиқилган

«Репродуктив фаолиятини бузилишини эрта ташхислаш AZF-локусларини микроделециясини таҳлил қилиш усуллари» номли услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2022 йил 19 декабрдаги 8н-з/691-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома эркак фертиллиги бузилиши патогенезида ксенобиотиклар биотрансформацияси CYP1A1 ва CYP2C19 генларининг энг функционал полиморф локуслари учраш тезлиги ва қийматлари белгилаш, уларнинг репродуктив тизим фаолияти бузилиши шаклланишидаги ҳиссасини ишлаб чиқиш имконини берган;

эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив функцияси бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектлари бўйича тадқиқотнинг илмий натижалари асосида ишлаб чиқилган «Эркакларда репродуктив фаолиятини бузилишини эрта ташхислаш GNRHR генининг 3-экзонидаги Arg262Gln полиморфизминини аниқлаш хусусиятларини баҳолаш» номли услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2022 йил 19 декабрдаги 8н-з/691-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома гонадалар ривожланишини назорат қилиш ва гаметогенезда иштирок этадиган гормонал бошқарувнинг тизимли генлари (GNRHR, FSHB, FSHR ва LHB) учраш тезлиги ва мутация спектрлари ва уларнинг эркаклар бепуштлиги патогенезидаги ўзгаришлар мойиллигини ўрнини исботланш имконини берган;

эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив функцияси бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспектларини такомиллаштиришни асослаш бўйича олинган илмий натижалар соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази ҳамда «Consultative Medical group» МЧЖ ҚҚ хусусий шифохонасининг клиник амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2023 йил 3 февралдаги 08-02495-сон маълумотномаси). Олинган натижаларнинг амалиётга тадбиқ этилиши азооспермиясиз эркак бепуштлиги ривожланиш хавфи ва гипогонадотропли гипогонадизм билан ассоциацияланган GNRHR гени Arg262Gln полиморфизми номақбул аллел варианты орасида етарлича ифодаланган ўзаро боғлиқлик ҳамда аллел вариант ташувчанликда эркакларда репродуктив дисфункция ривожланиш хавфи ишонарли тарзда 5 марта ортиши, аксинча, функционал яхши аллел вариант эркак бепуштлиги борасида ҳимоя самараси билан ассоциация қилиши баҳолаш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 4 та илмий-амалий анжуманларда, жумладан, 2 та халқаро ва 2 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 21 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 10 та мақола, жумладан, 6 таси республика ва 4 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, амалий тавсиялар, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертация ҳажми 180 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида бажарилган тадқиқотнинг долзарбилиги ва талаб этилганлиги, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари, тадқиқотнинг Республикасиз фан ва технологиялари устувор йўналишларига мослиги акс эттирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамиятлари, иш натижаларининг амалиётга жорий қилинганлиги, чоп этилган ишлар ҳақидаги маълумотлар ва диссертация структураси ёритилган.

Диссертациянинг **«Эркакларда жинсий дифференциаланиш ва репродуктив функцияси бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти»** номланган биринчи бобида эркак бепуштлиги ҳақидаги умумий маълумотлар, эркак бепуштлиги тарқалганлиги ва сабаблари умумий тавсифи, генетик маркерлар, атроф муҳит токсинларининг эркаклардаги сперматогенезга таъсири келтирилган. Эркаклардаги бепуштлик ривожланишида ксенобиотиклар биотрансформацияси ўрни акс эттирилган.

Диссертациянинг **«Эркакларда жинсий дифференциаланиш ва репродуктив функцияси бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқот объектлари ва услублари ёритилган. Тадқиқотнинг дизайни ва услублари: цитогенетик, молекуляр-генетик, статистик ҳақида батафсил маълумотлар берилган.

Жами 140 нафар беморлар–бепуштлик ташхиси қўйилган эркаклар комплекс текширувдан ўтказилди, шулардан 2 та кичик: азооспермияли ($n=35$) ва азооспермиясиз ($n=105$) гуруҳлар шакллантирилди ва текширилди. Текширилганларнинг барчасида ЖССТ тавсияномаларига (2010) мос ҳолда эякулятни икки марта таҳлили амалга оширилди.

Назорат гуруҳига ўзбек миллатига мансуб, эякулятнинг нормал кўрсаткичлари ва исботланган фертилик бўлган 155 нафар эркаклар киритилди.

Натижаларни статистик қайта ишлаш Version 2.9», «OpenEpi 2009 статистик дастурлар пакети қўлланилган ҳолда амалга оширилди. Статистик аҳамиятли мезон сифатида χ^2 , $p < 0,05$ ва 95% CI (ИИ 95%) ишонарлилик интервали хизмат қилди.

Диссертациянинг **«Репродуктив тизим бузилишларига эга эркакларда микроделецияларни цитологик таҳлил қилиш, молекуляр-генетик тадқиқотлар, ген-номзодлар полиморфизмларининг популяцион хусусиятлари ва тақсимланишини текшириш натижалари»** деб номланган учинчи бобида эркак бепушт беморларда AZF микроделецияларни таҳлил қилинган. Эркакларда репродуктив фаолият бузилишида

кариотипнинг хромосома аномалияларидан (Клайнфельтер синдроми, XX-male, хромосомаларнинг мувозанатланган ва мувозанатланмаган қайта қурилишлари, гоносомли мозаицизм ва ш.к.) ташқари Y-хромосоманинг специфик қисми—AZF-локусидаги генетик мутацияларга муҳим ўрни баҳоланади. AZF генетик локуси Y-хромосоманинг узун елкасида (Yq11.22-23) жойлашади ва сперматозоидлар шаклланиш (сперматогенез) жараёнига жавобгар специфик генларнинг кўп миқдорини сақлайди. Y-хромосоманинг AZF локуси учта субрегионлар: AZFa, AZFb ва AZFc га ажраган ва сперматозоидлар ривожланиши, етилиши ва шаклланишини бошқаришда бевосита иштирок этадиган генларни ўз ичига олади.

AZF локус бўйича генотипирлаш (AZFa, AZFb ва AZFc) RotorGeneQ асбобида НПО Литех (Россия) коммерция тўплами билан ҳақиқий вақтда полимеразали занжирли реакция услуги билан амалга оширилди.

1-жадвал

Эркаклар бепуштлиги ва назорат гуруҳларида AZF микроделециялар учраш тезлигининг қиёсий таҳлили

Делеция	Бепушт беморлар, n=140		Фертил эркаклар, n=155		χ^2	p
	N	%	n	%		
AZFa	1	2.9	0	0.0	1.1	0.3
AZFb	2	5.7	0	0.0	2.2	0.1
AZFc	4	11.4	0	0.0	4.5	0.03
AZFb+a	0	0.0	0	0.0	-	-
AZFb+c	1	2.9	0	0.0	1.1	0.3
Жами	8	5.7	0	0.0	9.1	0.002

1-жадвалдан кўриниб турганидек, текширилган бепушт 140 нафар беморлар орасида ва назорат гуруҳида AZF локуси делецияси 8 (5,7%) беморларда топилди. Фертил эркаклар гуруҳида (назорат гуруҳи) Y-делеция ҳеч бир ҳолатда бўлмади. AZF локуси делецияси учраш тезлиги бўйича гуруҳлар орасидаги фарқ статистик ишонарли ҳолатга етиб келди ($\chi^2=9.1$; $p=0.002$). Беморларнинг асосий гуруҳидаги делециянинг энг баланд учраш тезлиги AZFc ва AZFb сублокуслар учун учради: мос равишда 11,4% ва 5,7%. AZFc локуси делецияси учраш тезлиги бўйича танловлар орасидаги статистик тафовут ҳам статистик ишонарли бўлди ($\chi^2=4,5$; $p=0,03$). Бунда AZFb сублокус делецияси учраш тезлиги бўйича ушбу гуруҳлар орасидаги фарқ статистик ишонарли бўлмади, фақат кучсиз тенденция аниқланди ($\chi^2=2,2$; $p=0,1$). Азооспермияли эркаклар кичик гуруҳида Y-хромосома делециялари 8 (22,9% ҳолат), азооспермиясиз кичик гуруҳда фақат 1 нафар беморда (0,95% ҳолат) аниқланди. AZF локуси бўйича делеция учраш тезлиги бўйича ушбу кичик гуруҳлар ўртасидаги статистик фарқлар

статистик ишонарли бўлди ($\chi^2=22,9$; $p<0,05$). Азооспермиясиз беморлар орасида фақат битта беморда AZFc субрегионда микроделеция аниқланди.

Азооспермияли беморлар кичик гуруҳида Y-хромосома делецияси кўпинча AZFc сублокусида учради ($\chi^2=8,4$; $p=0,004$ бўлганда 0.95% га қарши 11.4%). Учраш тезлиги бўйича AZFb (5.7%; $\chi^2=6,1$; $p=0,01$) ва AZFa ($\chi^2=3,0$; $p=0,08$ бўлганда 2.9%) ва AZFb+c ($\chi^2=3,0$; $p=0,08$ бўлганда Y-хромосома микроделецияси аниқланган барча ҳолатлардан 2.9%) субрегионларини ўз ичига олган делециялар кейинги ўринда бўлди.

2-жадвалда азооспермияли ва азооспермиясиз беморлар кичик гуруҳларидаги хромосомали бузилишларни текшириш маълумотлари келтирилган.

2-жадвал

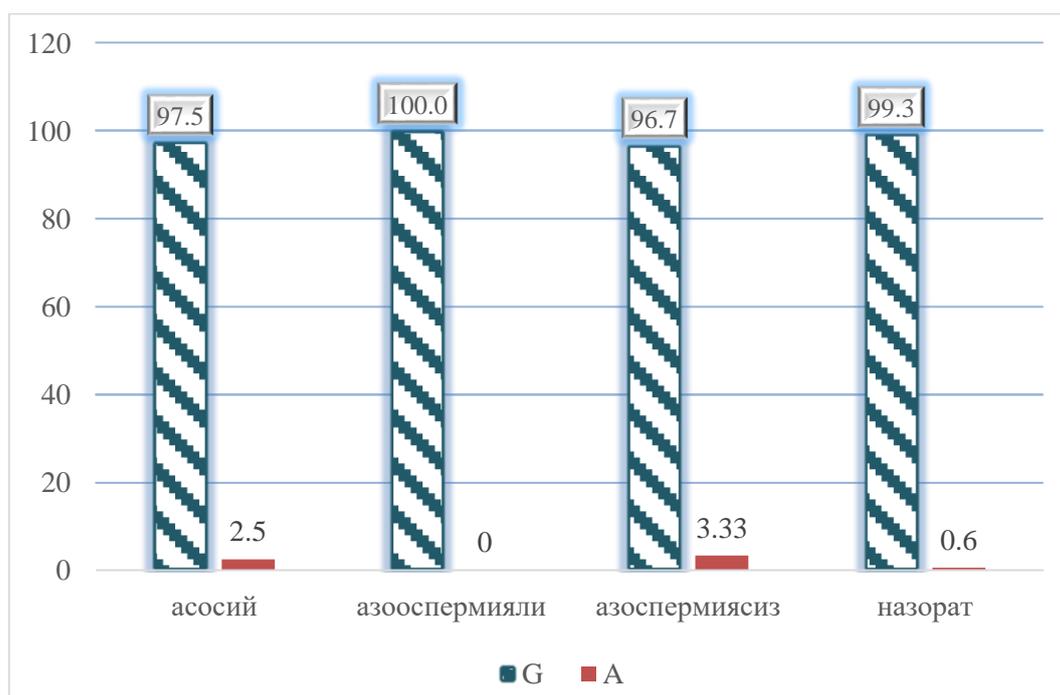
Азооспермияли ва азооспермиясиз беморларнинг кичик гуруҳларидаги хромосомали бузилишлар таҳлили

Хромосомали бузилишлар	Азооспермияли, n=35		Азооспермиясиз, n=105		χ^2	p
	n	%	n	%		
Клайнфельтер синдроми (47,XXY)	4	11.4	1	0.95	8.4	0.004
Деля Шапел синдроми (XX-male синдроми)	2	5.7	0	0.0	6.1	0.01
Турли цитогенетик вариантлар	7	20.0	4	3.8	9.5	0.002
Жами	13	37.1	5	4.8	24.6	<0.05

Текширилган бепушт эркакларнинг азооспермияли 13 нафарида ва азооспермиясиз 5 нафар беморларда кариотиплардаги ҳар хил ўзгаришлар аниқланди (мос равишда 37,1% ва 4,8%; $\chi^2=24,6$; $p<0,05$). ЭБ мавжуд беморлар орасида энг кўп кузатилган цитогенетик ўзгариш 47, XXY кариотипга эга Клайнфельтер синдроми бўлди, у кичик гуруҳда азооспермияли 4 (11,4%) ва азооспермиясиз 1 нафар беморларда (0,95%) аниқланди. Клайнфельтер синдроми учраш тезлиги бўйича танловлар орасидаги фарқ статистик ишонарли бўлиб чиқди ($\chi^2=8,4$; $p=0,002$). Де ля Шапел синдроми (XX-male синдроми) азооспермияли беморларнинг фақат икки нафарида учради ($\chi^2=8,4$; $p=0,002$) ва ушбу синдром учраш тезлиги бўйича бу кичик гуруҳлар орасидаги фарқ статистик ишонарли қийматларга етиб борди ($\chi^2=6,1$; $p=0,01$). Азооспермияли 7 нафар беморда ва азооспермиясиз 4 нафар беморда кариотип аномалияларининг турли вариантлари аниқланди (мос равишда 3,8% га қарши 20,0%). Кариотипнинг йиғинди ўзгаришлари учраш тезлиги бўйича бу кичик гуруҳлар орасидаги фарқ ҳам статистик ишонарли бўлди ($\chi^2=9,5$; $p=0,002$).

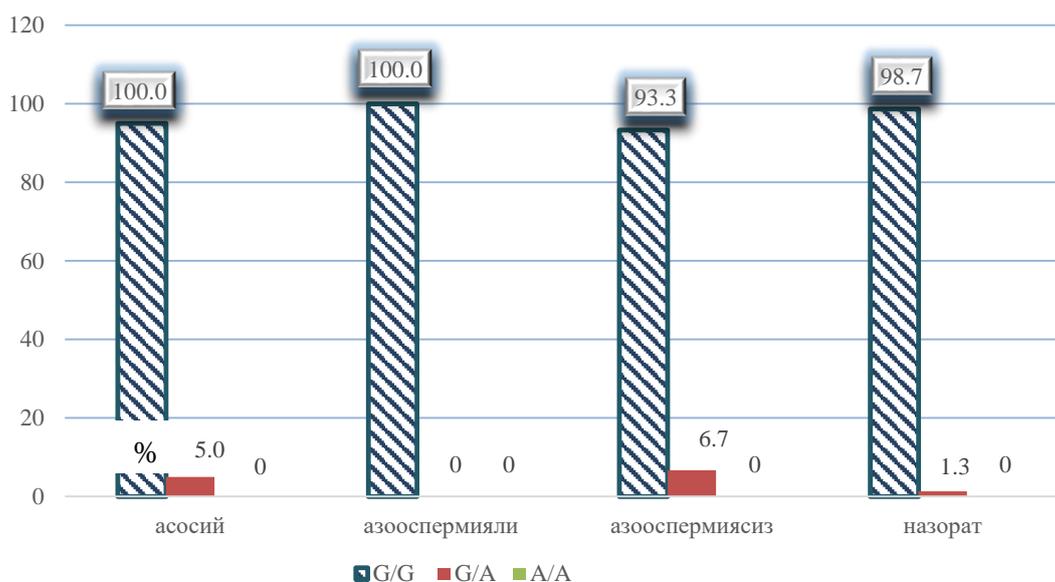
Шундай қилиб, бизлар томонидан олинган натижалар эркеклардаги бепуштлиқ ва репродуктив тизимлар бузилишлари патогенезида генетик омилларнинг аҳамиятли ўрни ҳақида далолат беради.

1-ва-2-расмларда эркек бепуштлиги мавжуд умумий гуруҳда ва шартли-соғлом эркеклар танловларида Харди-Вайнбер мувозанати (ХВМ) бўйича GNRHR гени 785G>A полиморфизми аллел ва генотипларининг тақсимланиши назарий ва эмпирик учраш тезлигини ҳисоблаш натижалари акс эттирилган. GNRHR гени 785G>A мутацияли вариантнинг учраш тезлиги ҳам фертиллиқ бузилишлари бор беморлар ва назорат гуруҳида кутилгандек паст бўлиб чиқди.



1-расм. Беморлар ва назорат гуруҳларида GNRHR гени Arg262Gln полиморфизм аллеларининг учраш тезлиги

Иккала гуруҳда ҳам GNRHR гени 785G>A генотиплари мутацияларининг ҳақиқий-кузатиладиган тақсимланиши назарий-кутилаётган тақсимланишга мос келди ($\chi^2=0,1$; $p=0,7$). Бегона 785G ва мутацияли 785A аллеларининг учраш тезлиги, мос равишда, беморлар гуруҳида 0,98/0,02 ни, назорат гуруҳида 0,99/0,01 ни ташкил қилди. Юқорида айтиб ўтганимиздек, GNRHR ген мутацияси 140 нафар беморлардан 7 тасида аниқланган (5,0%), назорат танловида эса 155 нафар соғлом эркекларнинг 2 тасида (1,3%) ва уларнинг барчаси гетерозиготали вариантда намоён бўлган.



2-расм. Беморлар ва назорат гуруҳларида GNRHR гени Arg262Gln полиморфизми генотипларининг учраш тезлиги

Эркак бепуштлиги бор беморлар орасида эякулятда сперматозоидлар мавжудлигини ва йўқлигини (азооспермия) ҳисобга олган ҳолда GNRHR гени Arg262Gln мутацияларини таҳлил қилиш кўрсатдики, барча аниқланган мутациялар азооспермиясиз беморларда қайд қилинди. Шу билан ушбу геннинг аллелли ва генотипик вариантлари учраш тезлигидаги фарқлар беморларнинг ушбу гуруҳи ва назорат гуруҳи орасида статистик юқори ишончли бўлиб чиқди.

Азооспермиясиз беморлар кичик гуруҳида GNRHR гени аллелари тақсимланиши қиёсий таҳлил қилинганда шартли соғлом эркакларга қараганда 785A мутант аллелнинг учраш тезлиги ошиши қайд қилинди (мос равишда 0,6% га қарши 3,3%). Имкониятлар нисбати коэффицентига мос ҳолда, ушбу аллель вариантни ташувчи эркакларда эркак бепуштлиги ривожланиши хавфи 5 мартадан кўпроқ ($\chi^2=5.4$; $p=0.02$; $OR=5.5$; 95% CI: 1,28 - 21,92).

Бизлар томонидан ФСГ етишмаслиги ва мос ҳолда, эркаклар фертил тизими бузилишлари билан ассоциацияланган FSHB гени 2bp del, rs5030646 генетик мутациялари (делециялари)ни излаш амалга оширилди.

Ушбу мутация натижасида GAGда кейинчалик вақтидан илари стоп-кодон юзага келиши ва олигоазооспермия ривожланиши билан GTG (val)нинг 61 дан бошлаб 86 гача бўлган аминокислоталар кетма-кетлиги ўзгаради.

ЭБ мавжуд бўлган текширилган 140 нафар ва назорат гуруҳидаги 155 нафар соғлом шахслар орасида мутацияли вариант фақат гетрозиготали ҳолатда беморларнинг азооспермияли кичик гуруҳидаги (2,9%) 1 нафар эркакда (0,7%) учради. Бунда таъкидлаш жоизки, беморда AZF генида sY1192 типидagi делеция (AZFc), носпецифик хромосомали ўзгаришлар:

уруғ чиқарув йўлининг обструкцияси ва кучсиз ифодаланган гипогонадизм аниқланди. Бу ҳолатда бепуштлиқ ушбу генетик ўзгаришлар билан боғлиқ бўлиши истисно қилинмайди. Текширилган гуруҳда ва кичик гуруҳларда FSHB гени 2631TGdel, Val61del2bp/87Ter гомозиготали генотиплари аниқланмади.

Шундай қилиб, бизлар томонидан аниқланган FSHB гени p.Val79GlufsTer27 гетерозиготали вариантнинг азооспермия ривожланишига негатив таъсири, 2bp del аллель варианты билан ЭБ ривожланиши орасидаги ассоциатив боғланиш мавжудлигини тасдиқловчи концепция билан мос келади. Ушбу делеция борлигини текшириш, уни аниқлашнинг паст тезлигига қарамасдан, репродуктологиянинг клиник амалиётида, жумладан, азооспермиянинг эрта аниқ диагностикасида, шунингдек даволаш стратегиясини оптималлаштиришда ва ЁРТ дастурини танлашда қўлланилиши мумкин.

FSHR гени A2039G полиморфизмининг эркак бепуштлиги билан ассоциацияси таҳлилида иккита танлов (бемор ва шартли-соғлом шахслар) ёрдамида «case-control» модели бўйича олиб борилди. «Case» танлови бепуштлиқ ташхиси бўлган (азооспермияли ва азооспермиясиз) 140 нафар эркаклардан шакллантирилди. «Control» танлови ўз ичига, ўзбек миллатига мансуб шахсларни, репродуктив аъзоларнинг дисфункциялари ва бошқа касалликлари бўлмаган 155 нафар шартли-соғлом эркакларни олди.

Текширилган танлов беморларда ва назоратда FSHR гени A2039G полиморфизм генотиплари ҳаққий тақсимланиши ХВМ бўйича назарий кутилган маълумотларга мос келади ($p > 0.05$).

Асосий гуруҳ беморларида ва назорат танловида FSHR генидаги A2039G полиморфизмининг A/A, A/G ва G/G генотипик вариантлари тақсимланиш тезлиги, мос равишда, 40.0%, 44.5% ва 15.5% га қарши 27.1% ва 51.4% и 21.4% ни ташкил қилди.

Азооспермияли беморлар ва назорат гуруҳларида FSHR генида A2039G полиморфизми аллеллари тақсимланишининг учраш тезлигини текшириш натижасида аниқландики, A аллель, беморлар гуруҳига солиштирганда назорат гуруҳида 50.0% га қарши 62.3% тезлиги ($\chi^2=3.6$; $p=0.06$; OR=0.6; 95% CI:0.35-1.02) билан устун келди. Бу маълумотлар азооспермия шароитида бепуштлиқ шаклланишига нисбатан ушбу аллель вариантнинг протектив, яъни ҳимоя самараси ҳақида далолат беради.

Азооспермияли ва назорат гуруҳларида FSHR генида A2039G полиморфизмининг A/A, A/G ва G/G генотиплари тақсимланиши учраш тезлиги, мос равишда, 40.0%, 44.5% и 15.5% га қарши 25.7%, 48.6% ва 25.7% ни ташкил қилди.

Шундай қилиб, бизлар томонидан амалга оширилган тадқиқотлар натижасида FSHR гени A2039G полиморфизми маълум бир генотипларининг эркакларда фертилик пасайиши ва бепуштлиқ ривожланиши билан аҳамиятли ассоциацияси қайд қилинди. ФСГ рецепторларининг паст фаоллиги билан ассоциация қиладиган функционал заифлашган G аллель вариантлари азооспермия билан ассоциацияланган паст фертиликка эга

эркаклар учун хос. Номакбул G/G генотиби мавжуд бўлганида азооспермия ривожланиш хавфи ишонарли тарзда 1,6 мартадан кўпроққа ошади ($p < 0.05$).

LNB гени Gly102Ser полиморф локусларини ЭБ ривожланиши билан ассоциацияси таҳлили «case-control» модели қўлланилган ҳолда фақат азооспермиясиз беморлар кичик гуруҳида ва назорат гуруҳида амалга оширилди.

Ўзбекистондаги диагностик самарани аниқлаш мақсадида бизлар азооспермиясиз беморлар кичик гуруҳида ($n=105$) ва назорат танловдаги индивидларда ($n=155$) LNB гени Gly102Ser миссенс-мутацияларининг аллель ва генотипик вариантлари учраш тезлигининг тақсимланиши қиёсий таҳлилини бажардик. Таҳлил натижасида солиштирилаётган беморлар гуруҳлари ва шартли-соғлом донорлар гуруҳи орасида статистик ишонарли фарққа нисбатан мойиллик аниқланди ($\chi^2=3.0$ ва $p=0.08$).

Кутганимиздек, иккла гуруҳда ҳам учраш тезлиги бўйича G1502 аллели устун келди, у беморлар орасида 99.0% ҳолатда ва назорат гуруҳида 100.0% ҳолатда кузатилди. Лютеинловчи гормон экспрессияси пасайиши билан ассоциация қиладиган 1502A номакбул аллели беморлар гуруҳида 1.0% ҳолатда учради ($\chi^2=3.0$; $p=0.08$). LNB генининг Gly102Ser мутацияли гетерозиготали генотиби беморлар гуруҳида 1.9% ҳолатда ($\chi^2=3.0$; $p=0.08$) учради. Назорат гуруҳида бундай вариант аниқланмади. LNB генининг Gly102Ser мутация вариантлари аниқлашнинг ҳисоблаб чиқилган имкониятлар фарқлари, шартли-соғлом эркаклар билан солиштирганда, азооспермиясиз беморлар орасида деярли аҳамиятли бўлди ($\chi^2=3.0$; $p=0.08$). Бу шуни англатадики, генотипида ушбу мутацион генотип бор бўлган эркакларда ЭБ ривожланиш хавфи статистик аҳамиятли тарзда ортади.

Шундай қилиб, LNB гени Gly102Ser маркери бўйича олинган молекуляр-генетик маълумотлар репрезентатив ҳисобланади.

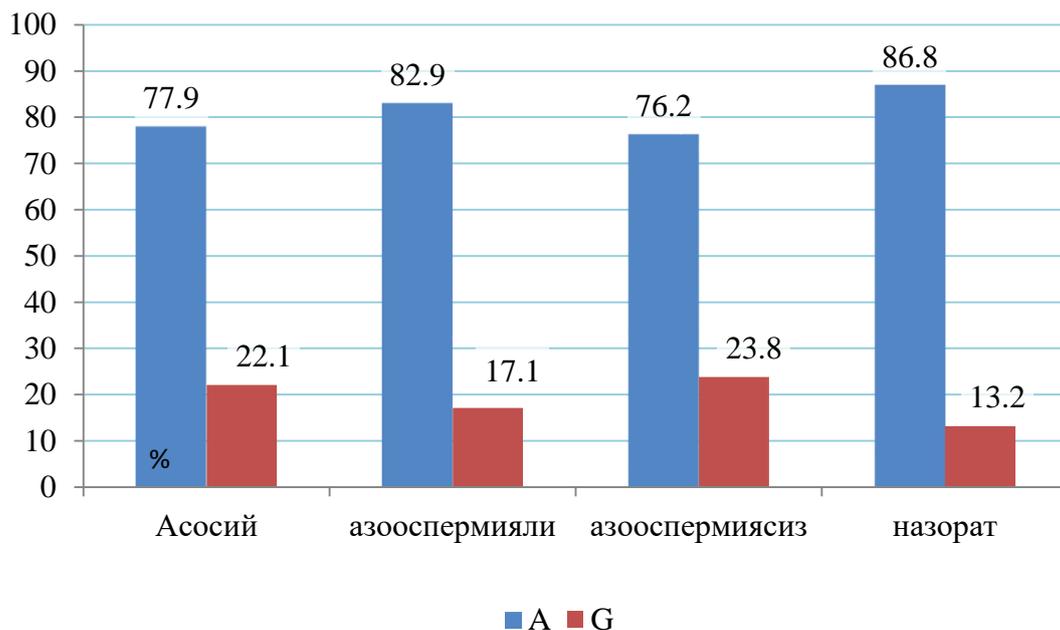
Бизлар томонидан олинган маълумотлар, турли популяциялар ва ирқий давлатлар учун LNB гени Gly102Ser мутацияли вариантлари учраш тезлиги бўйича халқаро маълумотлар базасини (Allele Frequency Database) тўлдирди. Ушбу маркерни Республикамиз клиник амалиётига жорий қилиш ЭБнинг марказий генездаги бепуштлик сабабини аниқлаштиришга имкон беради ва келажакда нафақат диагностик ва даволаш самарадорлигини, балки ВРТ дастурларининг оқибатларини анча аниқ ҳолда башоратлаш имконини яратади.

Диссертациянинг «Бепушт эркакларда ксенобиотиклар детоксикацияси генларининг полиморфизм аллеллари хусусиятлари» деб номланган тўртинчи бобда эркак фертиллиги бузилишлари ривожланиши билан CYP1A1 гени Pe462Val ва C6310T полиморфизмлари, CYP2C19 гени G681A ва G636A полиморфизмлари тарқалганлигини текшириш бўйича амалга оширилган тадқиқотлар натижалари акс эттирилган.

Текширилган гуруҳларда ХВМ бўйича CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизми бўйича генотипларнинг кузатиладиган ва кутилаётган учраш тезлиги мос келиши ҳисобга олинган ҳолда, бизлар томонидан ҳам назорат

гуруҳи шахслари, ҳам бепушт эркаклар орасида ушбу генетик полиморфизмнинг аллели ва генотипик вариантлари учраш тезлигининг ўзига хос хусусиятлари таҳлили амалга оширилди.

Таққосланаётган соғлом назорат гуруҳида (n=155) А ва G аллеларини ташувчилар учраш тезлиги мос равишда 86.8% ва 13.2% ни ташкил қилди. Шу билан бир вақтда, бегона А/А генотиби учраш тезлиги улуши 74.8% (116/155) ҳолатда аниқланди, бунда ушбу локуснинг гетерозиготали А/G ва мутант гомозиготали G/G генотиплари мос равишда 23.9% (37/140) ва 1.3% (2/140) ҳолатларда кузатилди (3- ва4-расмларга қаранг).



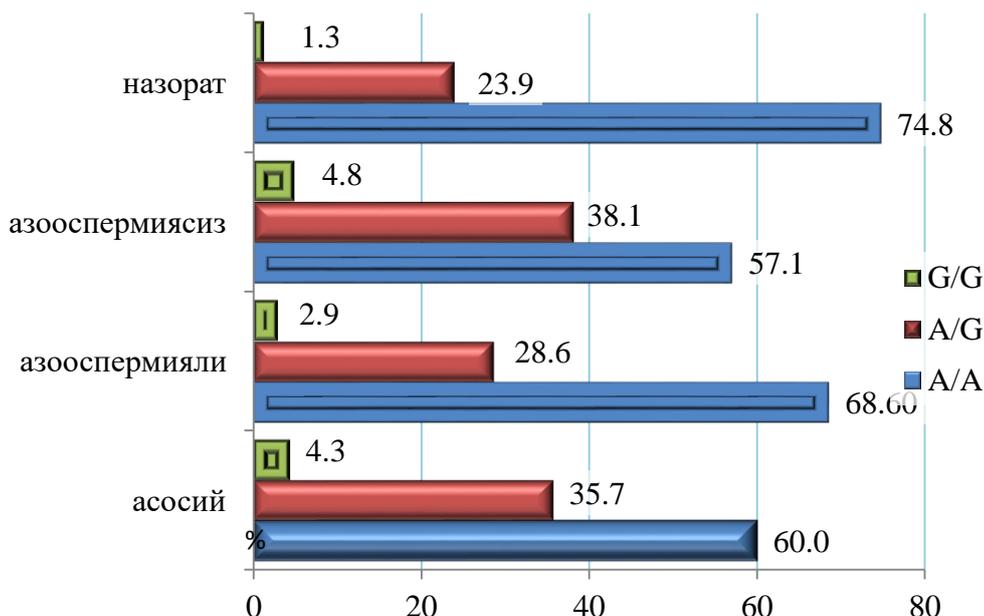
3-расм. Бепушт эркак беморлар гуруҳида ва назорат гуруҳида CYP1A1 гени Cc462Val локуси полиморфизми аллеллари тақсимланиши.

Текширилган асосий гуруҳдаги беморларда (n=140) аллеллар ва генотипларнинг учраш тезлигини ўрганиш давомида бизлар томондан бироз бошқача тақсимланиш аниқланди. Масалан, бу гуруҳда А ва G аллеллар 77.9% ва 22.1% ҳолатларда, А/А, А/G ва G/G генотиплар эса текширилганларнинг 60.0% (84/140), 35.7% (50/140) ва 4.3% (6/140) да аниқланди.

Кейин бизлар учун азооспермияли (n=35) ва азооспермиясиз (n=105) эркаклар кичик гуруҳида CYP1A1 гени Cc462Val полиморфизми бўйича аллеллар ва генотиплар учраш улушини ўрганиш қизиқиш уйғотди.

Азооспермияли эркаклар кичик гуруҳи орасида аллеллар учраш тезлигининг тақсимланиши назоратга қараганда кам фарқ қилди: А аллель учун бу қиймат 82,9% га мос келди, G учун эса—17,1%. Худди шунга ўхшаш динамика генотиплар борасида ҳам кузатилди: ушбу кичик гуруҳда А/А генотиби 68,6% (24/35), А/G—28,6% (10/35) ва G/G—2,9% (1/35) текширилган эркакларда кузатилди. Аммо, азооспермиясиз эркаклар кичик гуруҳида

Ўрганилган локуснинг аллели ва генотибли вариантлари учраш тезлиги тақсимланишида бироз фарқлар кузатилди. Жумладан, агар А ва G аллеллар 76.2% ва 23.8% ҳолатларда аниқланган бўлса, А/А, А/Г ва G/G генотиблар эса ушбу гуруҳдаги эркакларнинг 57.1% (60/105), 38.1% (40/105) ва 4.76% (5/105) да учради. Демак, келтирилган натижалардан бизга назорат танлови ва бепушт эркаклар гуруҳи орасида CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизми бўйича аллеллар (А и G) ва генотиблар (А/А, А/Г и G/G) тақсимланиши улушида фарқлар мавжудлиги аён бўлди.



4-расм. Бепушт эркак беморлар гуруҳида ва назорат гуруҳида CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизми генотипик вариантларининг тақсимланиши

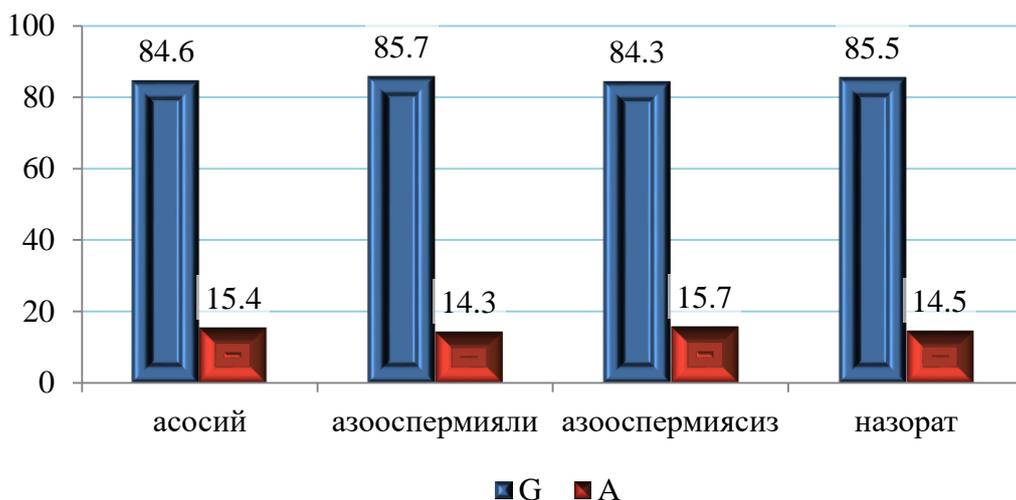
Шу билан бирга, ушбу полиморфизмнинг бепуштлик шаклланиши механизмидаги ҳиссаси даражасини аниқлаштириш учун бизлар томонидан текширилган гуруҳлар ва кичик гуруҳлар орасида CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизми бўйича аллеллар ва генотиблар учраш тезлиги фарқларининг қиёсий таҳлили амалга оширилди.

Шундай қилиб, беморлар ва назорат гуруҳлари орасида CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизмнинг аллелари ва генотиблари учраш тезлигидаги фарқлар CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизмининг аллель ва генотипик вариантлари тақсимланишининг хусусиятларини қиёсий баҳолаш бўйича таҳлил қилиш билан бир қаторда бизлар учун азооспермияли ва азооспермиясиз эркаклар гуруҳлари орасида таҳлил қилиш қизиқарли бўлди. Лекин, бу таҳлил ўрганилган гуруҳлар ўртасида CYP1A1 гени Pe462Val полиморфизми бўйича аллеллар ва генотиблар учраш тезлигининг тақсимланишидаги ишонарли аҳамиятли фарқларни аниқлаш имкони бўлмади.

Бепушт ва соғлом эркаклар орасида СҮР1А1 гени С6310Т полиморфизми аллеллари ва генотиплари учраш тезлиги тақсимланишининг ўзига хос хусусиятларини таҳлил қилганимизда, бизлар аниқладикки, таққосланаётган назорат гуруҳида (n=155) С ва Т аллеллари учраш тезлиги улуши 82.3% (n=255) ва 17.7% (n=55) ҳолатларни ташкил қилди. Бундан ташқари, С/С ва С/Т генотипларни ташувчанлик 67.1% (n=104) ва 30.3% (n=47) ҳолатларда кузатилди. Бундан ташқари, ушбу текширилган гуруҳда, худди бошқа гуруҳлардаги каби, функционал номақбул мутант Т/Т генотипини ташувчанлик ҳолатлари аниқланди (2.6%). Бепушт эркакларнинг асосий гуруҳида (n=140) С ва Т аллеллар учраш тезлиги бироз бошқа қийматларга эга бўлди, чунончи, улар 77.9% (n=218) ва 22.1% (n=62) ҳолатларда қайд қилинди. Бундан ташқари, С/С генотипни ташувчанлик 60.7% (n=85) шахсларда, С/Т ва Т/Т генотиплар мос равишда 34.3% (n=48) ва 5.0% (n=7) шахсларда аниқланди.

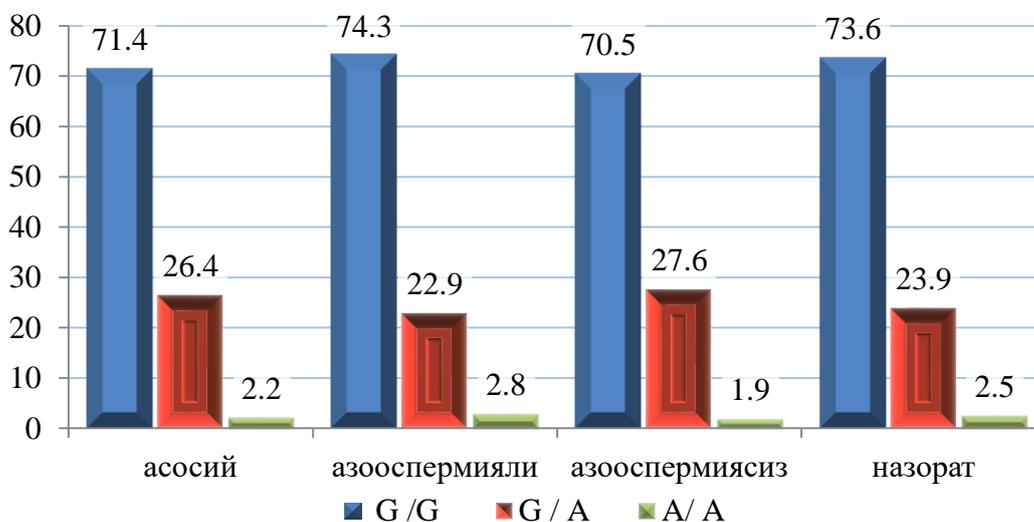
Азооспермия мавжудлигига боғлиқ ҳолда СҮР1А1 гени С6310Т полиморфизми аллеллари ва генотиплари учраш тезлиги тақсимланишининг хусусиятларини аниқлаш учун бизлар бепушт эркакларнинг азооспермияли ва азооспермиясиз гуруҳларида натижаларни ўрганишни амалга оширдик. Масалан, агар азооспермияли эркаклар гуруҳида С ва Т аллеллар 77.1% (n=54) ва 22.9% (n=16) ҳолатларда бўлса, азооспермиясиз эркаклар гуруҳида бу қийматлар 78.1% (n=164) ва 21.9% (n=46) ни ташкил қилди. Иккала гуруҳда С/С, С/Т ва Т/Т генотиплар ташувчанлик улуши деярли бир хил қийматга эга бўлди. Агар азооспермияли эркаклар гуруҳида улар, мос равишда, 60.0% (n=21), 34.3% (n=12) ва 5.7% (n=2) ҳолатларда учраса, азооспермиясиз бепушт эркаклар гуруҳида бу ҳолатлар, мос равишда, 61.0% (n=64), 34.2% (n=36) ва 4.8% (n=5) ни ташкил қилди.

Азооспермияли ва азооспермиясиз бепушт эркаклар гуруҳлари орасида СҮР1А1 гени С6310Т полиморфизми бўйича аллель ва генотипик вариантлар учраш тезлиги натижалари уларнинг деярли бир хил тезлигини кўрсатди, ва, бунга мос равишдаги қонуниятга биноан улар орасида аҳамиятли фарқлар кузатилмади. Бизнинг тадқиқотларимизда СҮР1А1 гени С6310Т, Ile462Val полиморфизмларини ва СҮР2С19 гени G681A, G636A полиморфизмларини ўрганганимизда аниқландики, СҮР2С19 гени G636A полиморфизми гетерозиготали G/A генотипи эркакларда бепуштлиқ ривожланиши хавфини жиддий тарзда оширади. Бепушт эркаклар орасида СҮР2С19 гени G681A аллель полиморфизми хусусияти ва аҳамияти баҳолаш натижалари. Соғлом назорат гуруҳида (n=155) СҮР2С19 (G681A) полиморф гени G ва A аллеллари тақсимланиши учраш тезлигини ўрганиш улар учрашининг 85.5% (n=265) ва 14.5% (n=45) ҳолатларда бўлишини аниқлашга имкон берди. Назоратда ушбу полиморфизм бўйича G/G, G/A ва A/A генотипик учраш тезлиги, мос равишда, 73.6% (n=114), 23.9% (n=37) ва 2.5% (n=4) ҳолатларда аниқланди (5- ва 6-расмларга қаранг).



5-расм. Беморлар ва назорат гуруҳларида CYP2C19 гени G681A полиморфизми аллеллари тақсимланиши

Шу билан бир вақтда, бизнинг тадқиқотларимизда текширилган бепушт эркекларнинг асосий гуруҳи (n=140) орасида мажорли G аллель учраши улуши 84.6% (n=237), минорли A аллель эса 15.4% (n=43) ни ташкил қилди. Бундан ташқари, G/G генотип улуши 71.4% (n=100) гача етди, G/A ва A/A генотиплар учраши 26.4% (n=37) ва 2.2% (n=3) ҳолатларда бўлди.



6-расм. Беморлар ва назорат гуруҳларида CYP2C19 гени G681A полиморфизми генотиплари тақсимланиши.

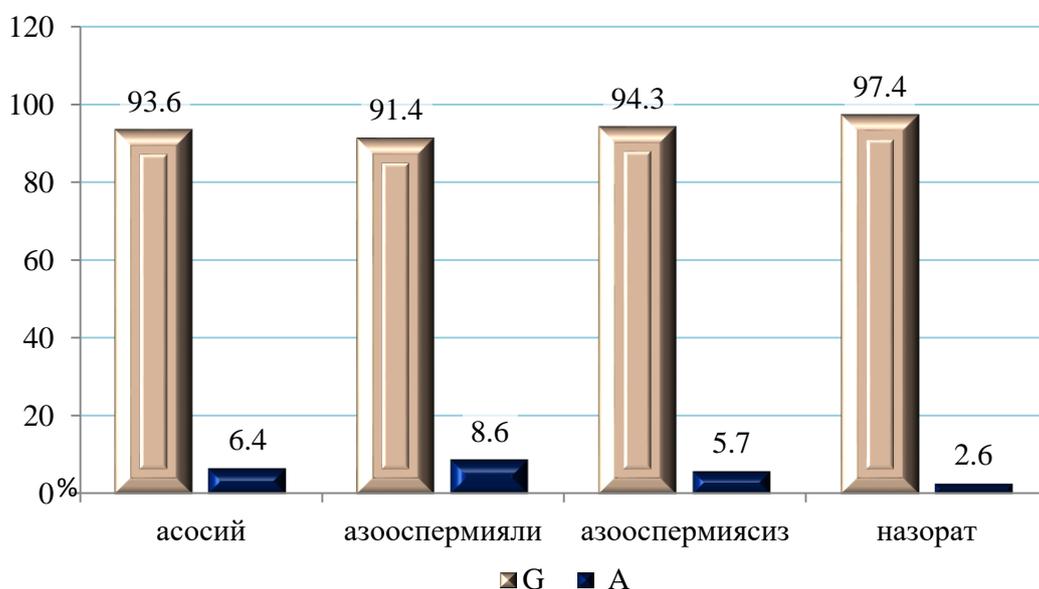
Азооспермияли эркеклар орасида G (85.7%) ва A (14.3%) аллеллар учраши деярли бир хил ҳолатларда, худди назорат гуруҳидагидек, аниқланди. Шу билан бирга, шунга ўхшаш маълумотлар G/G (74.3%), G/A (22.9%) ва A/A (2.8%) генотиплар учрашида ҳам олинган. Унча жиддий бўлмаса ҳам, аммо азооспермиясиз бепушт эркеклар гуруҳида, назорат

гурухидаги маълумотларга нисбатан, аллеллар (G – 84.3% ва A – 15.7%) ва генотиплар (G/G – 70.5%, G/A – 27.6% ва A/A – 1.9%) ташувчилар улушида ҳам аниқланди.

Бепушт эркаклар гуруҳларида ва назорат гуруҳида CYP2C19 гени G681A полиморфизмини ўрганиш бўйича ушбу таҳлил натижалари ўрганилган гуруҳлар орасида аллеллар ва генотиплар учраш тезлиги тақсимланишида ишонарли аҳамиятли қийматларни аниқлаш имконини бермади.

Фертил бузилишлари бор эркаклар орасида CYP2C19 гени G636A полиморфизми тарқалганлигининг хусусиятлари баҳолаш натижалари. Текширилган гуруҳларда CYP2C19 гени G636A полиморфизми бўйича генотипларнинг кутилаётган ва кузатиладиган учраш тезликларида белгиланган мослик кейинги таҳлилни амалга оширишни бошлашга имкон берди.

Назорат гуруҳи шахслари (n=155) орасида G ва A аллелларни ташиш учраш тезлиги 97.4% (n=302) ва 2.6% (n=8) ҳолатларда аниқланди, бунда асосий гуруҳ шахслари орасида (n=140) улар, мос равишда, 93.6% (n=262) ва 6.4% (n=18) ҳолатларда кузатилди. Бир вақтнинг ўзида, ушбу гуруҳларда бегона G/G генотиби учраш тезлиги 94.8% (n=147) ва 87.9% (n=123) шахсларда, гетерозиготали G/A генотип эса 5.2% (n=8) ва 11.4% (n=16) текширилганларда аниқланди. Бунда, назорат гуруҳида унинг мутлок йўқлигида, битта ҳолатда (0.7%) асосий гуруҳдаги эркаклар орасида мутант A/A генотиби мавжудлиги ҳақиқатини қайд қилиш муҳим.



7-расм. Беморлар ва назорат гуруҳларида CYP2C19 гени G636A полиморфизмининг аллель вариантлари тақсимланиши

Шу билан бир вақтда, CYP2C19 гени G636A полиморфизми бўйича азооспермияли (n=35) ва азооспермиясиз (n=105) эркаклар орасида G ва A аллеллар учраш тезлиги, мос равишда, 91.4% (n=64) ва 94.3% (n=198),

шунингдек 8.6% (n=6) ва 5.7% (n=12) ҳолатларда кузатилди. Азооспермияли эркаклар гуруҳида эса G/G ва G/A генотиплар, мос равишда, 82.9% (n=29) ва 17.1% (n=6) шахсларда, азооспермиясиз эркаклар гуруҳида, мос равишда 89.5% (n=94) ва 9.5% (n=10) шахсларда аниқланди, ва фақат битта ҳолатда (1.0%) азооспермиясиз гуруҳда мутант A/A генотиби топилди.

Назорат гуруҳи солиштирганда бепуштлиқ мавжуд эркакларнинг асосий гуруҳида CYP2C19 гени G636A полиморфизми тақсимланишидаги фарқларни қиёсий таҳлили кўрсатдики, аллель A улуши статистик ишонарли тарзда 2.6 марта (2.6% га қарши 6.4%; $\chi^2=5.2$; $p=0.02$; OR=2.6; 95%CI: 1.14-5.91), гетерозиготали G/A генотиби эса 2.4 марта (5.2% га қарши 11.4%; $\chi^2=3.9$; $p=0.05$; OR=2.4; 95%CI: 1.01-5.72) юқори.

Бундан ташқари, назорат гуруҳига солиштирганда азооспермияли гуруҳдаги эркакларда CYP2C19 гени G636A полиморфизми бўйича аллеллар ва генотиплар учраши тақсимланишидаги фарқлар таҳлили ҳам A аллель ва гетерозиготали G/A генотип борасида статистик ишонарли фарқлар мавжудлигини аниқлашга имкон берди, улар, мос равишда 3.5 (2.6% га қарши 8.6%; $\chi^2=5.8$; $p=0.02$; OR=3.5; 95%CI: 1.26-9.7) ва 3.8 раз (5.2% га қарши 17.1%; $\chi^2=6.0$; $p=0.02$; OR=3.8; 95%CI: 1.31-11.06) марта аҳамиятли юқори бўлди.

Шу таҳлил билан параллель тарзда азооспермиясиз эркаклар гуруҳи ва назорат гуруҳи орасида CYP2C19 гени G636A полиморфизми бўйича аллеллар ва генотиплар тақсимланишида фарқларни ўрганиш амалга оширилганда ҳам A аллель ва гетерозиготали G/A генотип тақсимланишида фарқлар борлигини кўрсатди, улар назорат гуруҳидаги шунга ўхшаш кўрсаткичлардан, мос равишда 2.3 (2.6% га қарши 5.7%; $\chi^2=3.3$; $p=0.07$; OR=2.3; 95%CI: 0.94-5.65) ва 1.9 марта (5.2% га қарши 9.5%; $\chi^2=1.8$; $p=0.19$; OR=1.9; 95%CI: 0.74-4.85) юқори бўлди. Лекин, бу фарқлар статистик ишонарли бўлмаганига қарамасдан, A аллель ва G/A генотипга нисбатан ўрганилган бепушт эркаклар гуруҳида уларнинг ошиш мойиллиги кузатилди.

Шу билан бирга, азооспермияли ва азооспермиясиз эркаклар гуруҳлари орасида аллеллар ва генотиплар тақсимланишидаги фарқлар аҳамиятли қийматларга эга бўлмади. Масалан, азооспермияли эркаклар гуруҳида аллель A азооспермиясиз эркаклар гуруҳидаги шунга ўхшаш учраш тезлигидан, мос равишда 1.5 марта (5.7% га қарши 8.6%; $\chi^2=0.7$; $p=0.42$; OR=1.5; 95%CI:0.58-3.88), G/A генотиби эса 2.0 марта (9.5% га қарши 17.1%; $\chi^2=1.5$; $p=0.23$; OR=2.0; 95%CI:0.66-6.06) юқори бўлди. Ўу билан бирга, таъкидлаш лозимки, G/A генотиби борасида унинг азооспермияли эркакларда учрашининг ошишига бўлган аниқ мойиллик кузатилди.

Шундай қилиб, CYP2C19 гени G636A полиморфизми бўйича аллеллар ва генотиплар учраш тезлиги фарқларини қиёсий баҳолаш бўйича олинган натижаларни таҳлил қилиш орқали хулоса қилиш мумкинки, гетерозиготали G/A генотиби мавжудлиги эркакларда бепуштлиқ ривожланиш хавфини жиддий оширади.

ХУЛОСАЛАР

«Эркакларда жинсий дифференцияланиш ва репродуктив фаолиятини бузилишларининг клиник-гормонал ва молекуляр-генетик аспекти» мавзуси бўйича тиббиёт фанлари бўйича фан доктори диссертация мавзусидаги тадқиқотлар асосида қуйидаги хулосалар тақдим этилган.

1.ЭБ патогенезида Y-хромосома микроделециясининг ва турли хромосомали бузилишларнинг аҳамияти исботланган. Бу ўзгаришлар азооспермиясиз беморларга қараганда азооспермияли беморлар учун анча характерли бўлди ($p > 0.05$). Азооспермияли беморларнинг текширилган кичик гуруҳида Y-хромосома делециялари кўп ҳолларда AZFc (11.4%, $\chi^2=8.4$; $p=0.004$) ва AZFb (5.7%; $\chi^2=6.1$; $p=0.01$) сублокусларида жойлашади. Энг кўп учраган цитогенетик ўзгариш 47,XXY кариотибли Клайнфельтер синдроми бўлди (11.4%) ва азооспермияли XX-male кариотибли де ля Шапел синдроми (5.7%) ва бошқа цитогенетик ўзгаришлар (20,0%) бўлди.

2.FSHR гени A2039G полиморфизми мос гормоннинг пасайган фаоллиги ва сперматогенез бузилиши билан ассоциацияланган бўлиб чиқди, бу ушбу гормоннинг патологиянинг шаклига боғлиқ бўлмаган ҳолда эркак бепуштлигида аҳамиятли ўрни ҳақида далолат беради. Коэффициентга биноан, ушбу геннинг мутант вариантыни ташувчанликда эркак бепуштлиги ривожланиш хавфи 1,5 марта ошади ($\chi^2= 5.3$; $p = 0.002$; OR = 1.5).

3.Бошқарувчи FSHB генининг 2bp del ва LHB генининг G1502A делецияси учраш тезлиги текширилган беморлар гуруҳларида ва назорат гуруҳида, мос равишда 1.4% и 0.0% га қарши 0.7% и 0.0% ни ташкил қилди, бу ушбу мутацияларнинг бизнинг популяциямизда жуда ҳам паст учраш тезлиги ҳақида далолат беради. Бу натижалар жаҳон адабиётининг ўртача статистик маълумотларига мос келади.

4.Азооспермиясиз эркак бепуштлиги ривожланиш хавфи ва гипогонадотропли гипогонадизм билан ассоциацияланган GNRHR гени Arg262Gln полиморфизми номақбул аллель варианты орасида етарлича ифодаланган ўзаро боғлиқлик аниқланди. Ушбу аллель вариант ташувчанликда эркакларда репродуктив дисфункция ривожланиш хавфи ишонарли тарзда 5 марта ортади (OR=5,5; $\chi^2=5,4$; $p=0,002$). Аксинча, функционал яхши аллель вариант эркак бепуштлиги борасида химоя самараси билан ассоциация қилади (OR = 0,2 ; $\chi^2=5,4$; $p = 0,002$).

5.CYP1A1 гени Ile462Val ксенобиотиклари биотрансформацияси ферментларининг номақбул генотипик вариантлари билан эркаклардаги репродуктив функция бузилишлари орасида аҳамиятли ассоциатив боғлиқлик аниқланди. Азооспермиясиз эркакларда ЭБ ривожланиши хавфи ушбу локуснинг номақбул генотипик варианты мавжудлигида 3 мартадан кўпга ошади (OR=3.8).

6.Беморларни текширишнинг янги диагностик алгоритми, эркак бепуштлиги турли шакллари ривожланишини башоратлаш мезонлари ва ВРТ дастури негизида тиклашга йўналтирилган ёндашишлар ишлаб чиқилган.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.04/29.12.2019.Tib 30.03
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ
ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**

**РЕСПУБЛИКАНСКИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ НАУЧНО-
ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ**

ИРГАШЕВ ДИЛМУРАД СААТОВИЧ

**КЛИНИКО-ГОРМОНАЛЬНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ НАРУШЕНИЯ ПОЛОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И
РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У МУЖЧИН**

14.00.16 – Нормальная и патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ НАУК (DSc)**

ТАШКЕНТ – 2023

Тема диссертации доктора (DSc) медицинских наук зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за №B2022.4.DSc/Tib751.

Диссертация выполнена в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре гематологии МЗ РУз.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.tma.uz) и на Информационно-образовательном портале “ZiyoNet” (www.ziyounet.uz).

Научный консультант:

Каримов Хамид Якубович
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Зокиров Ёркин Узуевич
доктор медицинских наук, профессор

Ирискулов Бахитяр Уктамович
доктор медицинских наук, профессор

Щегалов Александр Иванович
доктор медицинских наук, профессор
(Российская Федерация)

Ведущая организация:

Бухарский государственный медицинский институт

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании Научного совета при Ташкентской медицинской академии (Адрес: 100109, г.Ташкент, ул. Фараби, дом 2, здание бывшего Алмазарского медицинского колледжа, 1 этаж. Тел./факс: (+99871) 150-78-25, e-mail: info@tma.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрирована за № _____). (Адрес: 100109, г.Ташкент, ул.Фараби, дом 2. Ташкентская медицинская академия, 2 учебный корпус, «Б» крыло, 1 этаж, 7 кабинет. Тел./факс: (+99871) 150-78-14).

Автореферат диссертации разослан « _____ » _____ 2023 года.

(реестр протокола рассылки № _____ от « _____ » _____ 2023 года)

Г.И.Шайхова

Председатель научного совета по присуждению учёных степеней, доктор медицинских наук, профессор

Д.Ш.Алимухамедов

Ученый секретарь научного совета по присуждению учёных степеней, доктор медицинских наук, доцент

Р.Дж.Усманов

Председатель научного семинара при научном совете по присуждению учёных степеней, доктор медицинских наук, доцент

Введение (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Бесплодие — это распространенное, многофакторное патологическое состояние, от которого страдают 7% мужского населения мира. По данным разных авторов «...в структуре бесплодных супружеских пар доля мужского фактора составляет от 30 до 50%, из них 30% - пары только с мужским, 20% - пары с сочетанным бесплодием... »¹. Наиболее значимыми этиологическими причинами мужского бесплодия (МБ) являются: претестикулярные (дисфункция гипоталамо-гипофизарно-гонадальной оси, изолированный дефицит гонадотропинов и лютеинизирующего гормона, врожденный гипогонадотропный синдром, гиперпролактинемия, гемохроматоз и др.); тестикулярные (синдром Клайнфельтера, микроделеции Y-хромосомы, синдромы нечувствительности к андрогенам, синдром отсутствия яичек, крипторхизм, варикоцеле и др.); посттестикулярные (непроходимость или дисфункция семявыводящих протоков). Причинами приобретенного дефицита выработки половых гормонов являются хирургическое удаление яичек, радиационное облучение яичек, перенесенный эпидемический паротит и др. У большинства пациентов в основе патогенеза МБ лежит либо отсутствие сперматозоидов, либо уменьшение их количества (азооспермия или олигоспермия), либо увеличение доли сперматозоидов, что является морфологической аномалией (тератозооспермия). Опыт научных проектов ведущих стран мира по исследованию мужской фертильности показывает, что, объединение только результатов клинико-гормональных и молекулярно-генетических исследований в единую национальную программу, создание возможности эффективного восстановления естественной фертильности мужчин с бесплодием - одна из актуальных проблем, которую в данное время необходимо решать.

Во всем мире проводится ряд научных исследований, направленных на совершенствование клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин. В этом отношении особое научное и практическое значение приобретают исследования, направленные на оценку значения различных хромосомных изменений при различных репродуктивных дисфункциях у мужчин и роль микроделеции гена AZF Y-хромосомы, гена рецептора гонадотропин-рилизинг-гормона (GNRHR) и его различных генотипических вариантов в формировании мужского бесплодия, роль полиморфизмов гена регулятора фолликулостимулирующего гормона (FSHB) и регулятора гонадотропного гормона – гена рецептора фолликулостимулирующего гормона (FSHR) при развитии нарушений мужской фертильности, разработки социально-гигиенических мер, направленных на популяционные характеристики и распределения миссенс-мутации гена Gly102Ser β-цепи

¹Butz H, Nyirő G, Kurucz PA, et al. Molecular genetic diagnostics of hypogonadotropic hypogonadism: from panel design towards result interpretation in clinical practice. Hum Genet. 2021;140(1):113-134.

лютеинизирующего гормона ЛНВ среди бесплодных пациентов мужского пола.

В нашей стране принимаются комплексные меры по развитию медицинской отрасли, приведению медицинской системы в соответствие с мировыми стандартами, в том числе по повышению качества диагностики, лечения и профилактики различных соматических заболеваний. В связи с этим, в соответствии с семью приоритетами стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 год, поднятие уровня медицинских услуг на новый уровень были поставлены задачи на «...повышение качество оказания квалифицированных услуг населению в первичной медико-санитарной службе...»². Исходя из этих задач целесообразно провести исследования по совершенствованию клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции, в том числе у мужчин.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит для реализации задач, предусмотренных в Указах Президента Республики Узбекистан № УП-60 «О Стратегии развития нового Узбекистана на 2022-2026 годы» от 28 января 2022 года, №УП-4985 «О мерах по организации системы экстренной медицинской помощи и дальнейшему укреплению материально-технической базы» от 16 марта 2017 года, УП №-5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан», от 7 декабря 2018 года, в Постановлениях Президента Республики Узбекистан №ПП-3071 «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан на 2017–2021 годы» от 20 июня 2017 года, №ПП-4295 «Об утверждении Национальной программы по совершенствованию эндокринологической помощи населению Республики на 2019 -2021 годы» от 19 апреля 2019 года, №ПП-102 «О мерах по совершенствованию и расширению масштабов эндокринологической службы» от 26 января 2022 года и другими нормативно-правовых документах, принятых в данной деятельности.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Представленное исследование соответствует приоритетным направлениям развития науки и технологий республики VI «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации³. Научные исследования, направленные на клинико-гормональные и молекулярно-генетические аспекты нарушений половой дифференциации и улучшении репродуктивной функции у мужчин, проводятся в ряде

²Указ Президента Республики Узбекистан от 28 января 2022 года УП №-60 «О стратегии развития нового Узбекистана на 2022 — 2026 годы».

³Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи www.washington.edu, www.ku.edu, www.atlantaoralpathology.com, www.unisr.it, www.unipv.it, www.uksh.de, www.keio.ac.jp, www.ico.gencat.cat, www.uoa.gr, www.ufsc.br, www.yonsei.ac.kr, www.sydney.edu.au, www.jazanu.edu.sa, www.rims.edu.in, www.mioi.ru, www.cancercenter.uz, www.toshvilonko.uzсайтлар асосида ишлаб чиқилган.

исследовательских центров и высших учебных заведений по всему миру, в том числе: University of Washington, University of California, Children's National Health System, Mayo Clinic, Lincoln Medical Center, Ohio State University, University of Miami (США), Midwestern University (Исландия); University of Helsinki (Финландия); Turku University, Eskisehir City Hospital (Турция); University Medical Center Utrecht (Нидерланды); Medical University of Bialystok (Польша); Haramaya University (Эфиопия), University of Inje (Южная Корея), University of Oxford (Великобритания), University of Kebangsaan (Малайзия), University of Yonsey (Южная Корея), Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии (Узбекистан).

По всему миру получен ряд научно-практических результатов в ходе научных исследований, направленных на совершенствование клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов половой дифференциации и нарушений репродуктивной функции у мужчин: в том числе, доказан механизм ранней диагностики и эффективной процедуры лечения бесплодия у мужчин National Health System, Вашингтон (США); доказана роль клинико-гормональных особенностей половой дифференциации и нарушений репродуктивной функции у мужчин University School of Medicine Krakow (Польша); доказано значение молекулярно-генетических аспектов нарушений мужской репродуктивной функции University of King Saud, University of Yong Sey, University of Korea, University of Seoul (Саудовская Аравия), а также усовершенствованы клинико-гормональные и молекулярно-генетические аспекты нарушений репродуктивной функции и половой дифференциаций у мужчин Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии (Узбекистан).

В мире проводятся научные исследования по научному обоснованию совершенствования клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин по следующим приоритетным направлениям, в том числе, исследование особенностей распределения генотипических вариантов генов *CYP1A1* и *CYP2C19* биотрансформации ксенобиотиков и обоснование значимости этих генов в формировании мужского бесплодия; разработка протокола скрининга мужчин с репродуктивной дисфункцией и алгоритма рационального подхода, предназначенного для раннего прогнозирования репродуктивных нарушений и совершенствование новых подходов к восстановлению репродуктивных функций в рамках программ ВРТ.

Степень изученности проблемы. С внедрением в медицинскую практику методов молекулярно-генетических и цитогенетических технологий открылась перспектива уточнения этиопатогенеза патоспермии при ИМБ и появилась возможность разработки современных методов ВРТ (преимплантационная диагностика), обеспечивающих передачу потомству нормальных генов. Однако, несмотря на значительные успехи современной

репродуктологии в области ВРТ, около 5-8% супружеских пар страдают от бездетности, а мужское бесплодие по-прежнему остается серьезной клинической и медико-социальной проблемой (Bieth E, Hamdi SM, Mieusset R., 2021). Поэтому выявление функциональных генетических и эпигенетических предикторов, влияющих на гормональный и метаболический статус и репродуктивную функцию мужчин, является одним из перспективных направлений профилактики бесплодия. В настоящее время в литературных источниках имеются данные об ассоциации полиморфных локусов генов регуляторов: половых гормонов (GNRHR, FSHB, FSHR, LHB), ферментов биотрансформации ксенобиотиков с риском развития идиопатического мужского бесплодия (CYP1A1, CYP2C19, GSTM1, GSTT1 и др) (Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, de Roux N, Dodé C, Dunkel L, Dwyer AA, Giacobini P, Hardelin JP, Juul A, Maghnie M, Pitteloud N, Prevot V, Raivio T, Tena-Sempere M, Quinton R, Young J., 2015; Bøllehuus Hansen L, Lorenzen M, Bentin-Ley U, Nielsen JE, Krog H, Berg AH, Håkansson BS, Pedersen AM, Høst T, Juul A, Blomberg Jensen M., 2019; Bracke A, Peeters K, Punjabi U, Hoogewijs D, Dewilde S. A., 2018; Butz H, Nyírő G, Kurucz PA, et al. 2021; Cai Z, Li H., 2022). Генетические и фенотипические последствия ряда структурных аномалий половых хромосом в ландшафте МБ изучены недостаточно. Следует отметить, что генная структура МБ намного сложнее, поскольку более 2000 генов вовлечены в регуляции сперматогенеза (Aliakbari F, Pouresmaeili F, Eshghifar N, Zolghadr Z, Azizi F., 2020; Aloyan K.A., Matveyev A.V., Morev V.V., Korneyev I.A., 2013; Amato LGL, Montenegro LR, Lerario AM, et al. New genetic findings in a large cohort of congenital hypogonadotropic hypogonadism. Eur J Endocrinol., 2019).

В Узбекистане проведен ряд научных исследований по патофизиологической и молекулярно-генетической оценке хронических форм различных заболеваний и продлению продолжительности жизни больных (Каримов Х.Я., 2021; 2022; Ирискулов Б.У., 2022; Утямышев Р.Р., 2022; Бобоев К.Т., 2022), однако клинико-гормональные и молекулярно-генетические аспекты нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин, не усовершенствованы.

В республике до сих пор не изучена удельная тяжесть гормональных, хромосомных и генных нарушений в структуре МБ. Протоколы частных исследований и лично-ориентированные подходы к лечению этой проблемы не созданы. Разработка рекомендаций по применению молекулярно-генетических, цитогенетических методов в диагностике нарушений мужской репродуктивной деятельности обуславливает существенную необходимость внедрения в клиническую практику современных программ ВРТ, позволяющих эффективно восстановить естественную фертильность.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательской работы научно-исследовательского института, в котором проводилась диссертация. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ

Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии, в рамках темы «Частота встречаемости различных функциональных микроделеций в сублокусах Y-хромосомы (AZFa, AZFb и AZFc) при репродуктивной дисфункции у мужчин узбекской национальности, оценка частоты и значений системных генов гормональной регуляции, участвующих в контроле развития гонад и гаметогенезе» (2018-2022 гг.).

Цель исследования. Ранняя диагностика репродуктивной дисфункции у мужчин, разработка новых эффективных методов прогнозирования риска развития мужского бесплодия и подбор программы применения вспомогательных репродуктивных технологий.

Задачи исследования:

исследование различных хромосомных изменений и микроделеций гена AZF Y-хромосомы при различных репродуктивных дисфункциях у мужчин;

оценка роли гена рецептора гонадотропин-рилизинг-гормона (GNRHR) и его различных генотипических вариантов в формировании мужского бесплодия;

оценка вклада полиморфизмов гена регулятора фолликулостимулирующего гормона (FSHB) и гена рецептора фолликулостимулирующего гормона (FSHR) - регуляторов гонадотропного гормона в развитии нарушений мужской фертильности;

оценка распределения и популяционных особенностей миссенс-мутации Gly102Ser гена β-цепи лютеинизирующего гормона LHB среди пациентов с мужским бесплодием;

исследование особенностей распространения генотипических вариантов генов биотрансформации ксенобиотиков CYP1A1 и CYP2C19 и оценка роли этих генов в формировании мужского бесплодия;

разработка протокола обследования мужчин с репродуктивной дисфункцией и создание алгоритма рационального подхода, предназначенного для раннего прогнозирования репродуктивных нарушений, и новых подходов, направленных на восстановление репродуктивной функции в рамках программ ВРТ.

Объектом исследования взяты 140 пациентов с диагнозом первичное бесплодие, обратившихся в течение 2019-2022 годов в частную клинику «Доктор Д» г. Ташкента, а также 155 условно здоровых пациентов, составлявших контрольную группу.

Предметом исследования являются: оценочные материалы значений и частоты встречаемости наиболее функциональных полиморфных локусов генов CYP1A1 и CYP2C19 биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе нарушений мужской фертильности, частота возникновения различных функциональных микроделеций в сублокусах Y-хромосомы (AZFa, AZFb и AZFc), системных генов гормонального регулирования (GNRHR, FSHB, FSHR и LHB), участвующие в гаметогенезе и контроля развития гонад при оценке клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов

нарушений половой дифференцировки и репродуктивной функции у мужчин узбекской национальности.

Методы исследования. При оценке клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин применялись клинико-лабораторные, инструментальные, цитогенетические, молекулярно-генетические и статистические методы исследования.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые на основе комплексных цито- и молекулярно-генетических исследований была доказана связь с патофизиологическими изменениями хромосомных и генных нарушений в патогенезе репродуктивной дисфункций у мужчин узбекской национальности;

установлены частоты различных функциональных микроделеций в субблоках Y-хромосомы (AZFa, AZFb и AZFc) и наиболее значимые хромосомные нарушения у пациентов с нарушением репродуктивной функции;

определены частоты и мутационные спектры системных генов гормональной регуляции, участвующих в контроле развития гонад и гаметогенеза (GNRHR, FSHB, FSHR и LHB) и доказана их склонность к изменениям в патогенезе бесплодия у мужчин;

установлена частота и значение наиболее функциональных полиморфных локусов генов биотрансформации ксенобиотиков CYP1A1 и CYP2C19 в патогенезе нарушений мужской фертильности, доказаны генетические особенности в формировании нарушений деятельности репродуктивной системы;

доказана прямая связь между развитием и степенью выраженности нарушений репродуктивной деятельности у мужчин, несущих полиморфизмы системных генов гормонального контроля и неблагоприятных генотипических вариантов биотрансформации ксенобиотиков.

Практические результаты исследования заключается в следующем:

выбраны диагностические, прогностические маркеры для ранней диагностики и прогнозирования клинического течения результатов цитогенетического и молекулярно-генетического исследования микроделеции AZF, полиморфизма генов, контролирующего гормональный статус, и ферментов генов биотрансформации ксенобиотиков;

полученные результаты оцениваются путем оценки репродуктивного потенциала пациента и процедуры выбора соответствующей тактики преодоления бесплодия, включая программу ВРТ;

разработаны рекомендации по проведению генетических тестов и по совершенствованию алгоритма подготовки мужчин с нарушением фертильности и различными формами патоспермии в программе ВРТ;

введено в методические рекомендации для специалистов репродуктивных центров (врачей-репродуктологов, урологов-андрологов, акушеров-гинекологов, медико-генетиков, эмбриологов);

впервые оценена роль хромосомных и генных нарушений в патогенезе репродуктивной дисфункции у мужчин узбекского происхождения на основе цито- и молекулярно-генетических исследований;

разработан дифференциальный подход к восстановлению естественной фертильности с учетом нового диагностического алгоритма обследования пациентов, критериев прогнозирования развития и дифференцировки половых клеток, а также форм и уровней нарушений мужской репродуктивной функции и с применением современных программ ВРТ.

Достоверность результатов исследований подтверждается применяемыми в работе теоретическими подходами и методами, методологической обоснованностью проведенных исследований, достаточным подбором материала, современностью применяемых взаимодополняемых методов, клинико-лабораторным, инструментальным, цитогенетическим, молекулярно-генетическим и статистическим исследованием половой дифференциации у мужчин на основе методов, а также клинико-гормональной и молекулярно-генетической диагностики нарушений репродуктивной функции, спецификой аспектов, сравнением с международным и местным опытом, заключением, обоснованном подтверждением полученных результатов компетентными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследований заключается в том, что на основе клинико-лабораторных и современных молекулярно-биологических технологий получены новые данные о вкладе генов и хромосом, продукты которых непосредственно участвуют в сложнейших внутрисетевых взаимодействиях регуляции гаметогенеза, в механизме развития репродуктивной дисфункции у мужчин, в развитии и клинических формах мужского бесплодия, выявлены хромосомные изменения и генотипические варианты генов, достоверно ассоциированные с развитием и клиническими формами мужского бесплодия, способствующие лучшему пониманию этиопатогенеза репродуктивной дисфункции у мужчин, что является еще одним шагом на пути к личностно-ориентированной медицине.

Практическая значимость результатов исследования объясняется тем, что комплексные исследования, проводимые путем регистрации генетических, гормональных параметров и оценки степени патоспермии, позволили прогнозировать развитие бесплодия.

Внедрение результатов исследования. На основании результатов, полученных в ходе проведения исследования по клинико-гормональным и молекулярно-генетическим аспектам нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин:

на основе научных результатов исследования по клинико-гормональным и молекулярно-генетическим аспектам нарушений репродуктивной функции у мужчин разработана и утверждена методическая рекомендация «Способы ранней диагностики нарушений фертильности методом анализа микроделеций AZF-локуса» (справка Министерства здравоохранения №8н-

з/691 от 19 декабря 2022 года). Данная методическая рекомендация позволила установить частоту и значения наиболее функциональных полиморфных локусов генов биотрансформации ксенобиотиков CYP1A1 и CYP2C19 в патогенезе нарушений мужской фертильности, разработать их вклад в формирование нарушений функционирования репродуктивной системы;

на основе научных результатов исследования по клинико-гормональным и молекулярно-генетическим аспектам нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин разработана и утверждена методическая рекомендация «Оценка особенностей обнаружения полиморфизма Arg262Gln в 3-м экзоне гена GNRHR при ранней диагностики нарушений репродуктивной функции у мужчин» (справка Министерства здравоохранения №8н-з/691 от 19 декабря 2022 года). Данная методическая рекомендация позволила доказать частоту и спектров мутаций системных генов гормонального контроля (GNRHR, FSHB, FSHR ва LHB), участвующих в контроле развития гонад и гаметогенезе, и их склонность к изменениям в патогенезе мужского бесплодия;

полученные научные результаты по обоснованию совершенствования клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов половой дифференцировки и нарушений репродуктивной функции у мужчин внедрены в практику здравоохранения, в том числе в клиническую практику Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии и частной больницы СП ООО «Consultative Medical group» (справка Министерства здравоохранения №08-02495 от 3 февраля 2023 года). Внедрение полученных результатов на практике показало, что риск развития мужского бесплодия без азооспермии и полиморфизм гена GNRHR Arg262Gln, ассоциированного с гипогонадотропным гипогонадизмом, в 5 раз убедительно увеличивает риск развития репродуктивной дисфункции у мужчин при несущем аллельном варианте, а также недостаточную корреляцию между несоответствующим вариантом аллеля, и напротив, функционально хороший аллельный вариант позволил оценить ассоциацию с защитным эффектом в отношении мужского бесплодия.

Апробация результатов исследования. Результаты данной работы доложены на 4-х научно – практических конференциях, в том числе на 2 международных и 2 республиканских научно – практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 21 научных работ, в том числе 10 журнальных статей в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций, из них 8 в республиканских и 2 в зарубежных изданиях.

Структура и объем диссертации. Содержание диссертации состоит из введения, пяти глав, заключения, практических рекомендаций и списка литературы. Объем диссертации 180 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуется объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям науки и технологий республики, излагается научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Клинико-гормональные и молекулярно-генетические аспекты нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин»** представлены общие сведения о мужском бесплодии, общее описание распространенности и причин мужского бесплодия, генетические маркеры, влияние токсинов окружающей среды на сперматогенез у мужчин. Отражена роль биотрансформации ксенобиотиков в развитии бесплодия у мужчин.

Во второй главе диссертации **«Материалы и методы оценки клинико-гормональных и молекулярно-генетических аспектов нарушений половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин»** освещены объекты и методы исследования. Дана подробная информация о дизайне и методах исследования: цитогенетических, молекулярно-генетических, статистических.

Всего было проведено комплексное обследование 140 пациентов-мужчин с установленным диагнозом бесплодие, из которых было сформированы и обследованы 2 подгруппы: с азооспермией (n=35) и без азооспермии (n=105). У всех обследуемых был проведен двукратный анализ эякулята в соответствии с рекомендациями ВОЗ (2010). В контрольную группу вошли 155 мужчин узбекской национальности с нормальными показателями эякулята и доказанной фертильностью.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистического программного обеспечения «OpenEpi 2009, Version 2.9». Критерием статистической значимости служили χ^2 , $p < 0,05$ и доверительный интервал 95%CI (95%ДИ).

В третьей главе диссертации **«Цитологический анализ микроделеций у мужчин с нарушениями репродуктивной системы, молекулярно-генетические исследования, результаты исследования популяционных особенностей и распределения полиморфизмов генов-кандидатов»** был проведен анализ микроделеций AZF у бесплодных пациентов мужского пола. Оценивается помимо хромосомных аномалий кариотипа при нарушениях репродуктивной функции у мужчин (синдром Клайнфельтера, XX-male, сбалансированные и несбалансированные перестройки хромосом, гоносомный мозаицизм и т.п.), ещё и значительная роль генетических мутаций специфической части Y-хромосомы в локусе AZF. Генетический локус AZF расположен на длинном плече Y-хромосомы (Yq11.22-23), и

сперматозоиды содержат большое количество определенных генов, ответственных за процесс образования (сперматогенеза). Локус AZF Y-хромосомы содержит гены, которые дифференцируются в три субрегиона: AZFa, AZFb и AZFc, и непосредственно участвуют в контроле развития, созревания и образования сперматозоидов.

Генотипирование по локусу AZF (AZFa, AZFb и AZFc) было выполнено в приборе RotorGeneQ с использованием метода полимеразной цепной реакции в реальном времени с коммерческим пакетом НПО Литех (Россия).

Таблица 1

Сравнительный анализ мужской бесплодия и частоты микроделечий AZF в контрольных группах

Делеция	Бесплодные больные, n=140		Фертильные мужчины, n=155		χ^2	p
	N	%	n	%		
AZFa	1	2.9	0	0.0	1.1	0.3
AZFb	2	5.7	0	0.0	2.2	0.1
AZFc	4	11.4	0	0.0	4.5	0.03
AZFb+a	0	0.0	0	0.0	-	-
AZFb+c	1	2.9	0	0.0	1.1	0.3
Итого	8	5.7	0	0.0	9.1	0.002

Как видно из таблицы 1, среди 140 обследованных бесплодных пациентов и в контрольной группе делеция локуса AZF была обнаружена у 8 (5,7%) пациентов. В группе фертильных мужчин (в контрольной группе) Y-делеция не наблюдалась ни в одном случае. По частоте делеции локуса AZF разница между группами достигла статистически достоверного состояния ($\chi^2=9,1$; $p=0,002$). Самая высокая частота делеции в основной группе пациентов была обнаружена для AZFc и AZFb сублокусов: 11,4% и 5,7% соответственно. По частоте делеции локусов AZFc статистическая разница между вариантами также была статистически достоверной ($\chi^2=4,5$; $p=0,03$). При этом разница между этими группами в частоте делеции сублокуса AZFb не была статистически убедительной, была обнаружена только слабая тенденция ($\chi^2=2,2$; $p=0,1$). Делеции Y-хромосомы были обнаружены в подгруппе мужчин с азооспермией у 8 (22,9% случаев), в подгруппе без азооспермии только у 1 пациента (0,95% случаев). По частоте делеции локусов AZF статистические различия между этими подгруппами были статистически достоверными ($\chi^2=22,9$; $p<0,05$). Среди пациентов без азооспермии только у одного пациента была обнаружена микроделеция в субрегионе AZFc.

В подгруппе пациентов с азооспермией делеция Y-хромосомы чаще всего обнаружилась в сублокусе AZFc ($\chi^2=8,4$; 11,4% против 0,95% при $p=0,004$). По частоте следующие места заняли делеции, содержащие субрегионы AZFb (5,7%; $\chi^2=6,1$; $p=0,01$) и AZFa ($\chi^2=3,0$; 2,9% при $p=0,08$) и AZFb+c ($\chi^2=3,0$; 2,9% от всех случаев Y - хромосомных микроделеций при $p=0,08$).

В таблице 2 приведены данные скрининга хромосомных нарушений у подгрупп пациентов с азооспермией и без азооспермии.

Таблица 2

Анализ хромосомных нарушений в подгруппах больных с азооспермией и без азооспермии

Хромосомные нарушения	С азооспермией, n=35		Без азооспермии, n=105		χ^2	p
	n	%	n	%		
Синдром Клайнфельтера (47,XXY)	4	11.4	1	0.95	8.4	0.004
Синдром Де ля Шапел (синдром XX-male)	2	5.7	0	0.0	6.1	0.01
Различные цитогенетические варианты	7	20.0	4	3.8	9.5	0.002
Итого	13	37.1	5	4.8	24.6	<0.05

Различные изменения кариотипов были обнаружены у 13 обследованных бесплодных мужчин с азооспермией и у 5 пациентов без азооспермии (37,1% и 4,8% соответственно; $\chi^2=24,6$; $p<0,05$). Среди пациентов с МБ наиболее часто наблюдаемым цитогенетическим изменением был синдром Клайнфельтера с кариотипом 47, XXY, который был обнаружен в подгруппе у 4 с азооспермией (11,4%) и у 1 без азооспермии (0,95%). По частоте синдрома Клайнфельтера разница между выборами оказалась статистически достоверной ($\chi^2=8,4$; $p=0,002$). Синдром Де ля Шапеля (синдром XX-male) наблюдался только у двух пациентов с азооспермией ($\chi^2=8,4$; $p=0,002$), и разница между этими подгруппами по частоте этого синдрома достигла статистически достоверных значений ($\chi^2=6,1$; $p=0,01$). У 7 больных с азооспермией и у 4 больных без азооспермии были выявлены различные варианты аномалий кариотипа (3,8% против 20,0% соответственно). Разница между этими подгруппами по частоте суммарных вариаций кариотипа также была статистически достоверной ($\chi^2=9,5$; $p=0,002$).

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о значительной роли генетических факторов в патогенезе бесплодия и нарушений репродуктивной системы у мужчин.

На рисунках 1 и 2 представлены результаты расчетов отклонения теоретических и эмпирических (фактических) частот распределения аллелей и генотипов полиморфизма 785G>A гена GNRHR по равновесию Харди-Вайнбера (РХВ) в общей группе пациентов с мужским бесплодием и выборках условно-здоровых мужчин. Частота встречаемости мутационного варианта 785G>A гена GNRHR как среди больных с нарушением фертильности, так и среди группы контроля оказалась ниже, чем ожидалось.



Рисунок 1. Частота распределения аллелей полиморфизма Arg262Gln гена GNRHR у пациентов и контрольных групп

В обеих группах фактическое наблюдаемое распределение мутаций генотипа 785G>A гена GNRHR соответствовало теоретически ожидаемому распределению ($\chi^2=0,1$; $p=0,7$). Частота чужеродных аллелей 785G и мутировавших аллелей 785A составляла 0,98/0,02 в группе пациентов и 0,99/0,01 в контрольной группе соответственно. Как упоминалось выше, мутация гена GNRHR была обнаружена у 7 из 140 пациентов (5,0%), в то время как в контрольном отборе она была обнаружена у 2 из 155 здоровых мужчин (1,3%), и все они были представлены в гетерозиготном варианте.



Рисунок 2. Частота распределения генотипов полиморфизма Arg262Gln гена GNRHR в группах пациентов и контроля

Анализ мутаций Arg262Gln гена GNRHR с учетом наличия и отсутствия сперматозоидов в эякуляте (азооспермия) среди пациентов с мужским бесплодием показал, что все выявленные мутации были зарегистрированы у пациентов без азооспермии. Таким образом, различия в частоте аллельных и генотипических вариантов этого гена оказались статистически высокодостоверными среди этой группы пациентов и контрольной группы.

При сравнительном анализе распределения аллелей гена GNRHR в подгруппе больных без азооспермии была отмечена повышенная частота встречаемости мутантного аллеля 785A по сравнению с условно-здоровыми мужчинами (0,6% против 3,3% соответственно). В соответствии с соотношением шансов риск развития мужского бесплодия у мужчин, несущих этот аллельный вариант, более чем в 5 раз выше ($\chi^2=5,4$; $p=0,02$; OR=5,5; 95% CI: 1,28 - 21,92).

Нами был проведен поиск генетических мутаций (делеций) 2bp del, rs5030646 гена FSHB, ассоциированных с дефицитом ФСГ и, соответственно, с нарушениями мужской фертильной системы.

Эта мутация приводит к изменению аминокислотной последовательности GTG (val) с 61 по 86 с последующим преждевременным появлением стоп-кодона в GAG и развитием олигоазооспермии.

Среди 140 обследованных лиц, у которых было МБ, и 155 здоровых людей в контрольной группе мутационный вариант был обнаружен только у 1 мужчины (0,7%) в подгруппе пациентов с азооспермией в гетерозиготном состоянии (2,9%). При этом следует отметить, что у пациента были выявлены делеция гена AZF типа sY1192 (AZFc), неспецифические хромосомные

изменения: обструкция семенного пути и слабо выраженный гипогонадизм. В этом случае не исключено, что бесплодие связано с этими генетическими изменениями. В исследуемой группе и подгруппах гомозиготные генотипы 2631TGdel, Val61del2bp/87Ter гена FSHB не были идентифицированы.

Таким образом, негативное влияние на развитие азооспермии гетерозиготного варианта p.Val79GlufsTer27 гена FSHB, идентифицированный нами, согласуется с концепцией, подтверждающей наличие ассоциативной связи между вариантом аллеля 2bp del и развитием МБ. Проверка на наличие этой делеции, несмотря на низкую скорость её выявления, может быть использована в клинической практике репродуктологии, в том числе для ранней точной диагностики азооспермии, а также для оптимизации стратегии лечения и выбора программы ВРТ.

Анализ ассоциации полиморфизма A2039G гена FSHR с мужским бесплодием проводился на модели "case-control" с использованием двух вариантов отбора (пациент и условно-здоровые люди). Выбор "Case" был сформирован из 140 мужчин с диагнозом бесплодия (с азооспермией и без азооспермии). Выбор "Control" включал в себя лиц узбекской национальности, 155 условно-здоровых мужчин без нарушений функций репродуктивных органов и других заболеваний.

Фактическое распределение генотипов полиморфизма A2039G гена FSHR у исследуемого выбора пациентов и в контрольной группе соответствует теоретическим ожиданиям в отношении PXB ($p > 0,05$).

Частота генотипических вариантов A/A, A/G и G/G полиморфизма A2039G в гене FSHR у пациентов основной группы и контрольного отбора составила 40,0%, 44,5% и 15,5% против 27,1% и 51,4% и 21,4% соответственно.

В результате исследования частоты аллелей полиморфизма A2039G в гене FSHR в группе пациентов с азооспермией и контрольной выборке, аллель А преобладал в контрольной группе по сравнению группы пациентов с частотой 62,3% против 50,0% ($\chi^2=3,6$; $p=0,06$; OR=0,6; 95% CI:0,35-1,02). Эти данные свидетельствуют о протективном, т.е., защитном эффекте данного аллельного варианта в отношении формирования бесплодия на фоне азооспермии.

Частота распределения генотипов A/A, A/G и G/G полиморфизма A2039G в гене FSHR в группе пациентов с азооспермией и в группе контроля составили: 40,0%, 44,5% и 15,5% против 25,7%, 48,6% и 25,7%, соответственно.

Так, в результате проведенных нами исследований была отмечена значительная связь определенных генотипов полиморфизма A2039G гена FSHR со снижением фертильности и развитием бесплодия у мужчин. Функционально ослабленные варианты аллеля G, которые ассоциируются с низкой активностью рецепторов ФСГ, специфичны для мужчин с низкой фертильностью, связанной с азооспермией. Риск развития азооспермии достоверно увеличивается более чем в 1,6 раза при наличии неблагоприятного генотипа G/G ($p < 0,05$).

Анализ ассоциации полиморфных локусов Gly102Ser гена LNB с развитием МБ проводился только в подгруппе пациентов без азооспермии и в контрольной группе с использованием модели "case-control".

С целью определения диагностического эффекта в Узбекистане мы провели сравнительный анализ распределения частоты распространения аллельных и генотипических вариантов миссенс-мутаций Gly102Ser гена LNB в подгруппе пациентов без азооспермии (n=105) и у лиц контрольного отбора (n=155). Анализ выявил относительную склонность к статистически достоверной разнице между сравниваемыми группами пациентов и группой условно здоровых доноров ($\chi^2=3,0$ и $p=0,08$).

Как и следовало ожидать, в обеих группах по частоте распространения преобладал аллель G1502, который наблюдался в 99,0% случаев среди пациентов и в 100,0% случаев в контрольной группе. Неблагоприятный аллель 1502A, который ассоциируется со снижением экспрессии лютеинизирующего гормона, был обнаружен в 1,0% случаев в группе пациентов ($\chi^2=3,0$; $p=0,08$). Гетерозиготный генотип Gly102Ser гена LNB с мутацией был обнаружен в группе пациентов в 1,9% случаев ($\chi^2=3,0$; $p=0,08$). В контрольной группе такой вариант не выявлен. Расчетные различия в возможностях обнаружения варианта мутации Gly102Ser гена LNB были почти значительными среди пациентов без азооспермии по сравнению с условно здоровыми мужчинами ($\chi^2=3,0$; $p=0,08$). Это означает, что риск развития МБ статистически значимым образом увеличивается у мужчин с этим мутационным генотипом в генотипе.

Таким образом, молекулярно-генетические данные, полученные по маркеру Gly102Ser гена LNB, являются репрезентативными.

Данные, полученные нами, дополняют международную базу данных по частоте встречаемости мутационных вариантов Gly102Ser гена LNB для различных популяций и расовых состояний (Allele Frequency Database). Внедрение данного маркера в клиническую практику нашей республики позволит уточнить причину МБ центрального генеза и позволит в дальнейшем без значительной точности прогнозировать не только диагностическую и лечебную эффективность, но и последствия применения ВРТ.

В четвертой главе диссертации «**Особенности аллелей полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиками у бесплодных мужчин**» отражены результаты проведенных исследований по изучению распространенности полиморфизмов Ile462Val и C6310T гена CYP1A1, полиморфизмов G681A и G636A гена CYP2C19 при развитии нарушений мужской фертильности.

Учитывая соответствие наблюдаемой и ожидаемой частоты генотипов полиморфизма Ile462Val гена CYP1A1 по РХВ в исследуемых группах, нами был проведен анализ особенностей частоты аллелей и генотипических вариантов этого генетического полиморфизма как у лиц контрольной группы, так и у бесплодных мужчин.

В сравниваемой здоровой контрольной группе (n=155) носители аллелей А и G имели частоту 86,8% и 13,2% соответственно. В то же время доля частоты чужеродного генотипа А/А была определена в 74,8% (116/155) случаев, в то время как гетерозиготные генотипы А/G и мутантные гомозиготные генотипы G/G этого локуса наблюдались в 23,9% (37/140) и 1,3% (2/140) случаев соответственно (см. рисунки 3 и 4).

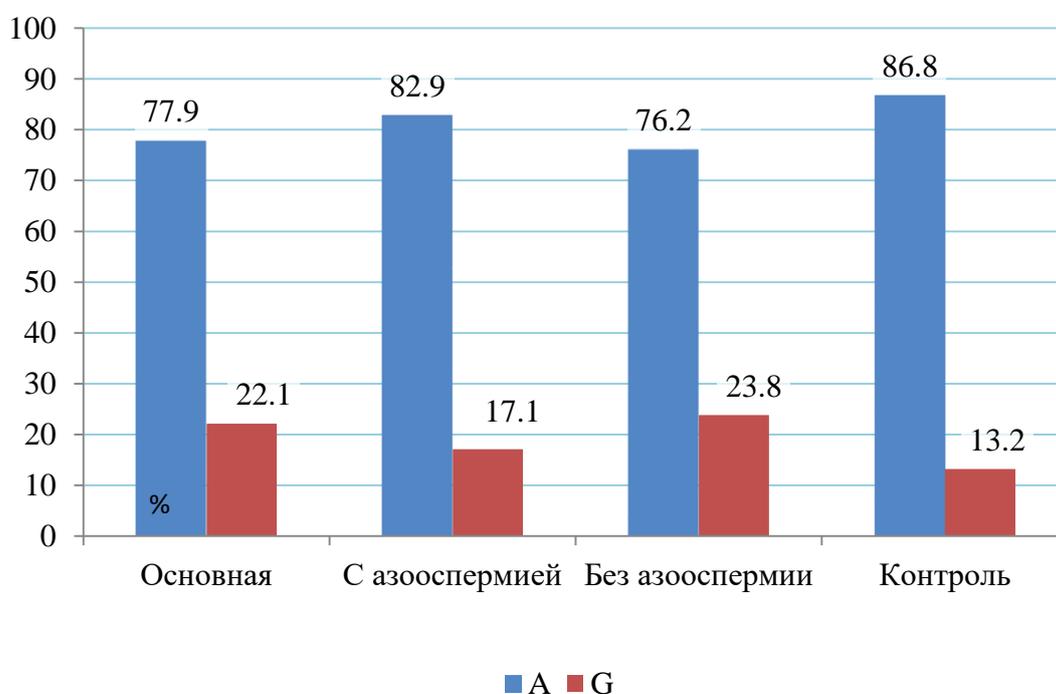


Рисунок 3. Распределение аллелей полиморфизма локуса Pe462Val гена CYP1A1 в группе бесплодных пациентов мужского пола и контрольной группе.

В ходе исследования частоты аллелей и генотипов у пациентов в исследуемой основной группе (n=140) с нашей стороны было обнаружено несколько иное распределение. Например, в этой группе аллели А и G встречаются в 77,9% и 22,1% случаев соответственно, а генотипы А/А, А/G и G/G были обнаружены у 60,0% (84/140), 35,7% (50/140) и 4,3% (6/140) исследованных.

Затем нас заинтересовало изучение доли частоты аллелей и генотипов в полиморфизме Pe462Val гена CYP1A1 в подгруппе мужчин с азооспермией (n=35) и без азооспермии (n=105).

Распределение частоты аллелей среди подгрупп мужчин с азооспермией было менее дифференцированным, чем в контрольной группе: для аллеля А это значение соответствовало 82,9%, а для G – 17,1%. Аналогичная динамика наблюдалась и в отношении генотипов: в этой подгруппе генотип А/А наблюдался у 68,6% (24/35), А/G – у 28,6% (10/35), а G/G – у 2,9% (1/35) обследованных мужчин. Однако в подгруппе мужчин без азооспермии

наблюдались небольшие различия в распределении частоты аллелей и генотипических вариантов изученного локуса. В частности, если аллели А и G были идентифицированы в 76,2% и 23,8% случаев соответственно, тогда как генотипы А/А, А/Г и G/Г были идентифицированы у 57,1% (60/105), 38,1% (40/105) и 4,76% (5/105) мужчин в этой группе. Следовательно, из представленных результатов нам стало ясно, что существуют различия в доле распределения аллелей (А и G) и генотипов (А/А, А/Г и G/Г) по полиморфизму Pe462Val гена CYP1A1 среди контрольного отбора и группы бесплодных мужчин.

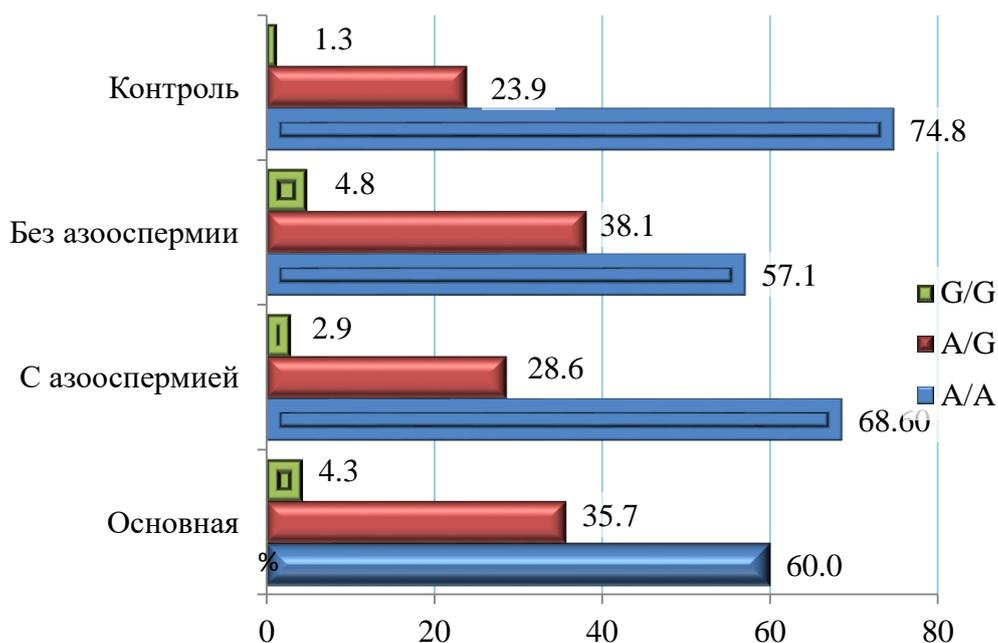


Рисунок 4. Распределение генотипических вариантов полиморфизма Pe462Val гена CYP1A1 в группе бесплодных пациентов мужского пола и контрольной группе

Однако для уточнения степени вклада этого полиморфизма в механизм формирования бесплодия был проведен сравнительный анализ различий частоты аллелей и генотипов по полиморфизму Pe462Val гена CYP1A1 между исследуемыми нами группами и подгруппами.

Таким образом, для нас был интересен анализ различия частоты аллелей и генотипов полиморфизма Pe462Val гена CYP1A1 среди пациентов и контрольных групп наряду с анализом особенностей распределения аллельных и генотипических вариантов полиморфизма Pe462Val гена CYP1A1 среди групп мужчин с азооспермией и без азооспермии. Однако этот анализ не смог выявить достоверно значимых различий в распределении частоты аллелей и генотипов по полиморфизму Pe462Val гена CYP1A1 между изученными группами.

Когда мы проанализировали специфичность распределения частоты аллелей и генотипов полиморфизма С6310Т гена CYP1A1 среди бесплодных

и здоровых мужчин, мы обнаружили, что в сравниваемой контрольной группе (n=155) доля частоты аллелей С и Т составляла 82,3% (n=255) и 17,7% (n=55) случаев соответственно. Кроме того, перенос генотипов С/С и С/Т наблюдалась в 67,1% (n=104) и 30,3% (n=47) случаев соответственно. Кроме того, в этой исследуемой группе, как и в других группах, были выявлены случаи переноса функционально неблагоприятного мутантного генотипа Т/Т (2,6%). В основной группе бесплодных мужчин (n=140) частота аллелей С и Т имела несколько другие значения, поскольку они были зарегистрированы в 77,9% (n=218) и 22,1% (n=62) случаев соответственно. Кроме того, перенос генотипа С/С была обнаружена у 60,7% (n=85) особей, в то время как генотипы С/Т и Т/Т были обнаружены у 34,3% (n=48) и 5,0% (n=7) людей соответственно.

Чтобы определить особенности распределения частоты аллелей и генотипов полиморфизма С6310Т гена СYP1A1 в зависимости от наличия азооспермии, мы провели исследование результатов в группах бесплодных мужчин с азооспермией и без азооспермии. Например, если в группе мужчин с азооспермией аллели С и Т присутствовали в 77,1% (n=54) и 22,9% (n=16) случаев соответственно, то в группе мужчин без азооспермии эти значения составляли 78,1% (n=164) и 21,9% (n=46) соответственно. В обеих группах доля переноса генотипов С/С, С/Т и Т/Т была почти одинаковой. Если в группе мужчин с азооспермией они встречаются в 60,0% (n=21), 34,3% (n=12) и 5,7% (n=2) случаев соответственно, то в группе бесплодных мужчин без азооспермии эти случаи составляют, соответственно, 61,0% (n=64), 34,2% (n=36) и 4,8% (n=5).

Аллельные и генотипические варианты полиморфизма С6310Т гена СYP1A1 среди бесплодных мужских групп с азооспермией и без азооспермии результаты частоты показали, что они имели почти одинаковую частоту, и согласно соответствующему закону, существенных различий между ними не наблюдалось. В нашем исследовании, когда мы изучали полиморфизмы С6310Т, Le462Val гена СYP1A1 и полиморфизмы G681A, G636A гена СYP2C19, было обнаружено, что гетерозиготный генотип G/A полиморфизма G636A гена СYP2C19 серьезно увеличивает риск развития бесплодия у мужчин.

Результаты оценки характеристики и значения аллельного полиморфизма G681A гена СYP2C19 среди бесплодных мужчин. Исследование распределения частоты аллелей G и A полиморфного гена СYP2C19 (G681A) в здоровой контрольной группе (n=155) позволило определить, что они встречаются в 85,5% (n=265) и 14,5% (n=45) случаев.

Скорость генотипического совпадения G/G, G/A и A/A по этому полиморфизму в контрольной группе была определена в 73,6% (n=114), 23,9% (n=37) и 2,5% (n=4) случаев соответственно (см. Рисунки 5 и 6).

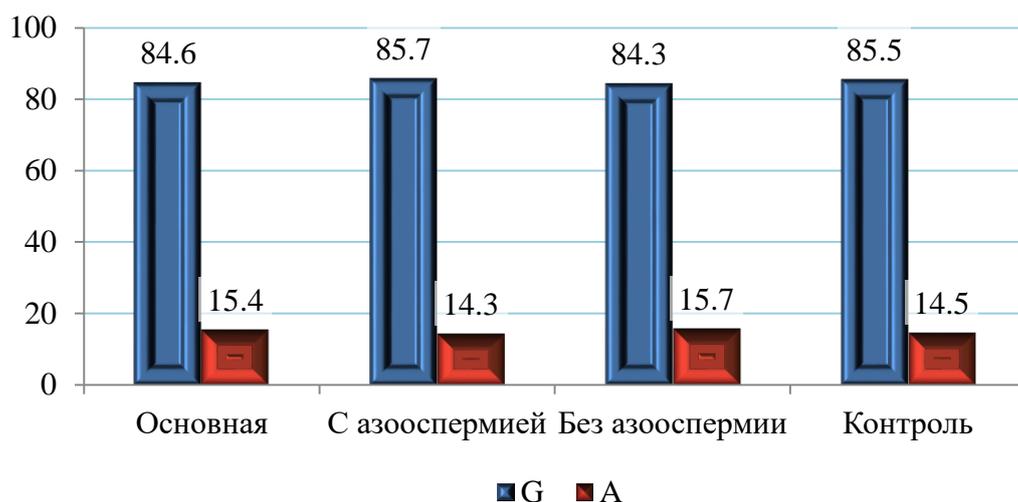


Рисунок 5. Распределение аллелей полиморфизма G681A гена CYP2C19 у пациентов и контрольных групп

В то же время среди основной группы (n=140) бесплодных мужчин, исследованных в нашем исследовании, доля встречаемости аллеля Major G составляла 84,6% (n=237), а аллеля Minor A - 15,4% (n=43). Кроме того, доля генотипов G/G достигла 71,4% (n=100), в то время как частота генотипов G/A и A/A произошло в 26,4% (n=37) и 2,2% (n=3) случаев.

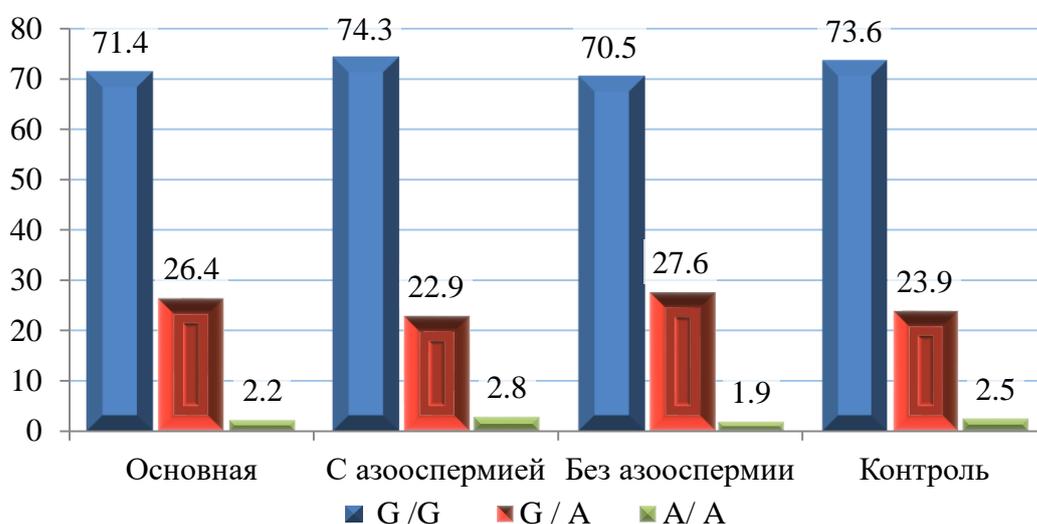


Рисунок 6. Распределение генотипов полиморфизма G681A гена CYP2C19 у пациентов и контрольных групп.

Встречаемость аллелей G (85,7%) и A (14,3%) среди мужчин с азооспермией была обнаружена почти в тех же случаях, что и в контрольной группе. Однако аналогичные данные также были получены при совпадении генотипов G/G (74,3%), G/A (22,9%) и A/A (2,8%). В менее серьезной, но все

же бесплодной группе мужчин без азооспермии, по сравнению с данными контрольной группы, аллели (G – 84,3% против A – 15,7%) и генотипы (G/G – 70,5%, G/A – 27,6% и A/A – 1,9%) также были идентифицированы в доле носителей.

Результаты этого анализа по изучению полиморфизма G681A гена *CYP2C19* в бесплодных мужских группах и контрольной группе не позволили выявить достоверно значимых значений в распределении частоты аллелей и генотипов среди исследуемых групп.

Результаты оценки особенности распространенности полиморфизма G636A гена CYP2C19 среди мужчин с нарушениями фертильности. В исследованных группах установленное соответствие ожидаемой и наблюдаемой частоты генотипов на основе полиморфизма G636A гена *CYP2C19* позволило начать дальнейший анализ.

Среди лиц контрольной группы (n=155) частота переноса аллелей G и A была определена в 97,4% (n=302) и 2,6% (n=8) случаев соответственно, в то время как среди лиц основной группы (n=140) они были определены в 93,6% (n=262) и 6,4% (n=18) случаев соответственно. В то же время в этих группах частота чужеродного генотипа G/G составляла у 94,8% (n=147) и 87,9% (n=123), в то время как гетерозиготный генотип G/A был обнаружен у 5,2% (n=8) и 11,4% (n=16) обследованных. При этом важно отметить тот факт, что при его абсолютном отсутствии в контрольной группе, в одном случае (0,7%), среди мужчин в основной группе присутствует мутантный генотип A/A.

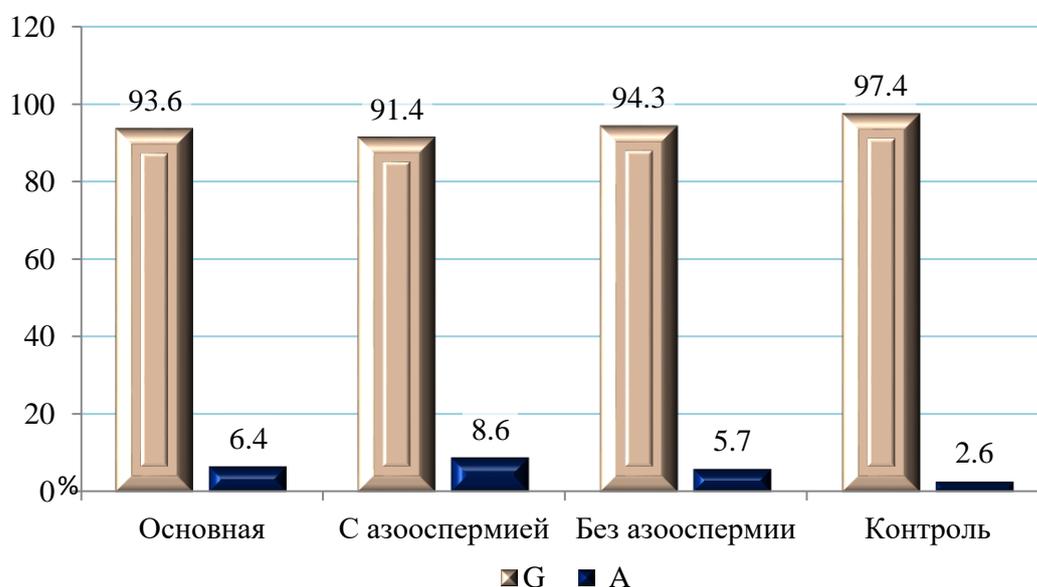


Рисунок 7. Распределение аллельных вариантов полиморфизма G636A гена *CYP2C19* у пациентов и контрольных групп

В то же время, по полиморфизму G636A гена *CYP2C19*, частота аллелей G и A среди мужчин с азооспермией (n=35) и без азооспермии

(n=105) составляет 91,4% (n=64) и 94,3% (n=198) соответственно, а также в 8,6% (n=6) и 5,7% (n=12) случаев. В то время как в группе мужчин с азооспермией G/G и G/A генотипы были идентифицированы у 82,9% (n=29) и 17,1% (n=6) лиц соответственно, в группе мужчин без азооспермии у 89,5% (n=94) и 9,5% (n=10) лиц соответственно, и только у одного в случае (1,0%) мутантный генотип A/A был обнаружен в группе без азооспермии.

Сравнительный анализ различий в распределении полиморфизма G636A гена CYP2C19 в основной группе мужчин, у которых было бесплодие по сравнению с контрольной группой, показал, что доля аллеля A статистически достоверно в 2,6 раза больше (2,6% против 6,4%; $\chi^2=5,2$; $p=0,02$; OR=2.6; 95%CI: 1.14-5.91), а у гетерозиготных G/A генотип в 2,4 раза выше (5,2% против 11,4%; $\chi^2=3,9$; $p=0,05$; OR=2.4; 95%CI: 1.01-5.72).

Кроме того, анализ различий в распределении аллелей и совпадений генотипов по полиморфизму G636A гена CYP2C19 у мужчин в группе азооспермии по сравнению с контрольной группой также позволил установить, что существуют статистически достоверные различия в отношении аллеля A и гетерозиготного генотипа G/A, которые, соответственно 3,5 (2,6% против 8,6%; $\chi^2=5,8$; $p=0,02$; OR=3,5; 95%CI: 1,26-9,7) и 3,8 раза (5,2% против 17,1%; $\chi^2=6,0$; $p=0,02$; OR=3,8; 95%CI: 1,31-11,06) были значительно выше.

Параллельно с этим анализом было проведено исследование различий в распределении аллелей и генотипов на полиморфизм G636A гена CYP2C19 между группой мужчин без азооспермии и контрольной группой, также было показано, что существуют различия в распределении аллелей и гетерозиготных генотипов G/A, которые отличаются от аналогичных показателей в контрольной группе, 2,3 (2,6% против 5,7%; $\chi^2=3,3$; $p=0,07$; OR=2,3; 95%CI: 0,94-5,65) и в 1,9 раза выше (5,2% против 9,5%; $\chi^2=1,8$; $p=0,19$; OR=1,9; 95%CI: 0,74-4,85). Однако, несмотря на то, что эти различия не были статистически убедительными, аллель a и G/A наблюдалась тенденция к их увеличению в группе изученных бесплодных мужчин по сравнению с генотипом.

При этом различия в распределении аллелей и генотипов между группами мужчин с азооспермией и без азооспермии значительных значений не получили. Например, в группе мужчин с азооспермией аллель A в 1,5 раза больше, чем аналогичная частота встречаемости в группе мужчин без азооспермии, соответственно (5,7% против 8,6%; $\chi^2=0,7$; $p=0,42$; OR =1,5; 95% CI:0,58-3,88), в то время как генотип G/A в был 2,0 раза больше (9,5% против 17,1%; $\chi^2=1,5$; $p=0,23$; OR =2,0; 95% CI:0,66-6,06). Следует отметить, что в отношении генотипа G/A наблюдалась явная тенденция к увеличению его частоты у мужчин с азооспермией.

Таким образом, анализируя результаты сравнительной оценки различий частоты аллелей и генотипов на полиморфизм G636A гена CYP2C19, можно сделать вывод, что наличие гетерозиготного генотипа G/A серьезно увеличивает риск развития бесплодия у мужчин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании исследований, проведенных в диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук по теме «**Клинико-гормональные и молекулярно-генетические аспекты нарушения половой дифференциации и репродуктивной функции у мужчин**», представлены следующие выводы:

1. Доказана значимая роль микроделеций Y-хромосомы и различных хромосомных нарушений в патогенезе МБ. Эти изменения были более характерны для пациентов с азооспермией по сравнению с пациентами без азооспермии ($p > 0,05$). В исследованной подгруппе пациентов с азооспермией делеции Y-хромосомы чаще всего располагались в сублокусах AZFc (11,4%, $\chi^2=8.4$; $p=0,004$) и AZFb (5,7%; $\chi^2=6.1$; $p=0,01$). Наиболее частыми цитогенетическими изменениями были синдром Клайнфельтера с кариотипом 47, XXY (11,4%) и синдром Де ля Шапеля с кариотипом XX-male с азооспермией (5,7%) и другими цитогенетическими изменениями (20,0%).

2. Полиморфизм A2039G гена FSHR ассоциирован со сниженной активностью соответствующего гормона и нарушением сперматогенеза, что свидетельствует о значительной роли данного гормона в патогенезе мужского бесплодия вне зависимости от формы патологии. Согласно коэффициенту, риск развития мужского бесплодия при носительстве мутантного варианта данного гена значимо возрастает в 1,5 раза ($\chi^2= 5.3$; $p = 0,002$; OR = 1,5).

3. Частота делеции 2bp del регуляторного гена FSHB и G1502A гена LNB в исследованных группах пациентов и контроля составили 0,7% и 0,0% против 1,4% и 0,0% соответственно, что свидетельствует о крайне низкой частоте этих мутаций в нашей популяции. Эти результаты соответствуют среднестатистическим данным мировой литературы.

4. Выявлена достаточно выраженная взаимосвязь между риском развития мужского бесплодия без азооспермии и неблагоприятным аллельным вариантом полиморфизма Arg262Gln гена GNRHR ассоциированная с гипогонадотропным гипогонадизмом. Риск развития репродуктивной дисфункции у мужчин при носительстве данного аллельного варианта достоверно увеличивается в 5 раз (OR=5,5; $\chi^2=5,4$; $p=0,002$). Напротив, функционально благоприятный аллельный вариант ассоциируется с защитным эффектом в отношении мужского бесплодия. (OR = 0,2 ; $\chi^2=5,4$; $p = 0,002$).

5. Выявлена значимая ассоциативная связь между нарушением репродуктивной функции у мужчин с неблагоприятными генотипическими вариантами гена ферментов биотрансформации ксенобиотиков Ile462Val гена CYP1A1. Риск развития МБ у мужчин без азооспермии при наличии неблагоприятного генотипического варианта данного локуса возрастает более чем на 3 раза (OR=3,8).

6. Разработан новый диагностический алгоритм обследования пациентов, критерии прогнозирования развития различных форм мужского бесплодия и подходы, направленные на восстановление в рамках программы ВРТ.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.04/30.12.2019.Tib.30.03 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCES AT THE
TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

**REPUBLICAN SPECIALIZED SCIENTIFIC PRACTICAL MEDICAL
CENTER OF HEMATOLOGY**

IRGASHEV DILMURAD SAATOVICH

**CLINICAL-HORMONAL, MOLECULAR-GENETIC ASPECTS OF
DISORDERS OF SEXUAL DIFFERENTIATION AND REPRODUCTIVE
FUNCTION IN MEN**

14.00.16- Normal and pathological physiology

**DISSERTATIONS ABSTRACT
OF THE DOCTOR (DSc) OF MEDICINE SCIENCES**

TASHKENT – 2023

The topic of the thesis of Doctor (DSc) of medicine sciences is registered with the Higher Attestation Commission under the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan under B2022.4.DSc/Tib751

The dissertation has been prepared at the Scientific Research Institute of Hematology and Blood Transfusion MH RUz.

The abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English (summary)) is posted on the web page of the Scientific Council (www.tma.uz) and the Information and Educational Portal «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Scientific consultant:

KarimovKhamidYakubovich
doctor of medical sciences , professor

Official opponents:

ZokirovYorkin Uzuevich
Doctor of medical sciences, professor

Iriskulov Bakhtiyor Uktamovich
Doctor of medical sciences, professor

Sheglov Aleksandr Ivanovich
Doctor of medical sciences, professor (Russian Federation)

Lead organization:

Bukhara State medical Institute

Defence will be held « ____ » _____ 2023 y., at ____ hours at the meeting of the Scientific Council DSc.04/30.12.2019.Tib.30.03 at the Tashkent Medical Academy (Address: 100109, Tashkent, Farabi St. 2. The meeting room of the 1st training of the building of the Tashkent Medical Academy. Phone/Fax: (+99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru)

With a doctoral thesis (PhD) can be found at the Information and Resource Center of the Tashkent Medical Academy (registered № ____). (Address: 100109, Tashkent, Farabi St., 2. Tashkent Medical Academy, 2nd educational building, «B» wing, 1 floor 7 study. Phone/Fax: (+99878) 150-78-14).

Abstract of the dissertation sent out « ____ » _____ 2023 year.
(Protocol of maining № ____ from « ____ » _____ 2023 year)

G.I.Shaykhova

Chairman of the Scientific council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

D.Sh.Alimukhamedov

Secretary of the Scientific council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, associate professor

R.Dj.Usmanov

Chairman of the academic seminar under the Scientific council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, associate professor

INTRODUCTION (Annotation of doctoral dissertation)

The purpose of the study. Early diagnosis of reproductive dysfunction in men, development of new effective methods for predicting the risk of male infertility and selection of a program for the use of assisted reproductive technologies

The object of research work: The object of the study was 140 patients with a diagnosis of primary infertility who applied during 2019-2022 to the “Doctor D” private clinic in Tashkent, as well as 155 apparently healthy patients who made up the control group.

Scientific novelty of the research work is as follows:

for the first time, on the basis of complex cytological and molecular genetic studies, the connection with pathophysiological changes of chromosomal and gene disorders in the pathogenesis of reproductive dysfunction in Uzbek men was proved;

The frequencies of various functional microdeletions in the sublocuses of the Y chromosome (AZFa, AZFb and AZFc) and the most significant chromosomal abnormalities in patients with impaired reproductive function were established;

the frequencies and mutational spectra of systemic hormonal regulation genes involved in the control of gonad development and gametogenesis (GNRHR, FSHB, FSHR and LHB) were determined and their propensity to changes in the pathogenesis of infertility in men was proved;

the frequency and significance of the most functional polymorphic loci of the genes of biotransformation of xenobiotics CYP1A1 and CYP2C19 in the pathogenesis of male fertility disorders were established, genetic features in the formation of disorders of the reproductive system were proved;

a direct relationship between the development and severity of reproductive disorders in men carrying polymorphisms of systemic hormonal control genes and unfavorable genotypic variants of xenobiotic biotransformation has been proved.

Implementation of the research results: Based on the results obtained during the study of clinical-hormonal and molecular-genetic aspects of disorders of sexual differentiation and reproductive function in men:

The methodological recommendation on clinical-hormonal and molecular-genetic aspects of reproductive function disorders in men «Methods of early diagnosis of fertility disorders by analyzing microdeletions of the AZF locus» was approved (Conclusion of the Ministry of Health No. 8n-z/691 of December 19, 2022). This methodological recommendation made it possible to establish the frequency and values of the most functional polymorphic loci of xenobiotic biotransformation genes CYP1A1 and CYP2C19 in the pathogenesis of male fertility disorders, to develop their contribution to the formation of disorders of the reproductive system.;

the methodological recommendation developed on the basis of scientific results of the study of clinical-hormonal and molecular-genetic aspects of disorders of sexual differentiation and reproductive function in men «Evaluation of the features of the detection of Arg262Gln polymorphism in the 3rd exon of the

GNRHR gene in the early diagnosis of reproductive function disorders in men» was approved (Conclusion of the Ministry of Health No. 8n-z/691 of December 19, 2022). This methodological recommendation allowed us to prove the frequency and spectra of mutations of the genes of systemic hormonal control (GNRHR, FSHB, FSHR and LHB) involved in the control of gonad development and gametogenesis, and their tendency to changes in the pathogenesis of male infertility.;

The scientific results obtained to substantiate the improvement of clinical-hormonal and molecular-genetic aspects of sexual differentiation and reproductive function disorders in men have been introduced into healthcare practice, including the clinical practice of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology and the private hospital of the Consulting joint Venture. LLC «Medical Group» (Conclusion of the Ministry of Health No. 08-02495 dated February 3, 2023). The implementation of the obtained results in practice showed that the risk of developing male infertility without azoospermia and the polymorphism of the GNRHR Arg262Gln gene associated with hypogonadotropic hypogonadism convincingly increases the risk of developing reproductive dysfunction in men with a carrier allele variant by 5 times, as well as insufficient correlation between an unsuitable allele variant, and vice versa, a functionally good allele variant allowed us to evaluate association with the protective effect of male infertility.

The structure and scope of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, a list of references. The volume of the dissertation is 180 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Sakellion D.N, Irgashev D.S, Sultanov Sh.Kh. Hypnosis in the therapy of sexual disorders in Uzbekistan //An International Multidisciplinary Research Journal. -2021. -PP. 1176-1183.

2. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Молекулярно-генетические основы мужского бесплодия. Особенности распространенности полиморфизма Ile462Val гена CYP1A1 в формировании мужского бесплодия //Тиббиётда янги кун. -Тошкент. -2022. -№10(48). -Б. 279-285. (14.00.00; №22).

3. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Значимость аллельного полиморфизма G681A гена CYP2C19 в генезе нарушения мужской фертильности //Биомедицины и практики. -Тошкент, 2022. -Б. 25-31. (14.00.00; №24).

4. Irgashev D.S., Gasanova Sh.S., Boboev Q.T. Gly102Ser missens mutation of LHB gene (rs5030774, c.304G>A, G1502A) among patients with male infertility //Art of Medicine International Medical Scientific Journal. -2023. -№1(1). -P-3-11. (14.00.00; №3)

5. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Исследование делеционной мутации 2bp del гена FSHB среди мужчин с нарушением репродуктивной системы //Вестник врача. -Самарканд, 2022. -С. 62-65. (14.00.00; №20)

6. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Анализ микроделеций AZF у пациентов с нарушением фертильности //Журнал Медицина и инновации. -Ташкент, 2022. -С. 272-278.

7. Иргашев Д.С. Ile462Val polymorphism of the CYP1A1 gene and G681A polymorphism of the CYP2C19 gene in the genesis of male infertility //Тиббиётда янги кун. -Тошкент. -2022. -№8(46). -Б. 239-247. (14.00.00; №22).

8. Irgashev D.S., Gasanova Sh.S., Boboev Q.T. Combined interaction of hormone gene polymorphism regulating the process of spermatogenesis in men with male infertility //British Medical Journal. -2023. -№1(2). -P.85-91. (14.00.00. №6)

9. Irgashev D.S., Gasanova Sh.S., Boboev Q.T. Significance of polymorphisms of xenobiotics detoxification genes in the formation of infertility in men //Art of Medicine International Medical Scientific Journal. -2023. -№1(2). -P. 65-73. (14.00.00; №2)

10. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Анализ частоты распределения и популяционные особенности полиморфизма Arg262Gln гена

GNRHR у мужчин с нарушением репродуктивной системы //Тиббиётда янги кун. –Тошкент, 2023. –№2(52). –Б. 245-253 (14.00.00; №22).

II бўлим (II часть; II part)

11. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Музаффарова М.Х Анализ вклада полиморфизма C677 гена MTHFR в развитие бесплодия неясного генеза // The III Modern Challenges to science and practice» Варна, Болгария, 24-26.01.2022

12. Иргашев Д.С. Генетические аспекты мужского бесплодия // XIII Международный конгресс Казахстанской ассоциации репродуктивной медицины «Современные подходы к лечению бесплодия. ВРТ: Настоящее и будущее» Казахстан. 2021. –С.25-28.

13. Иргашев Д.С. Молекулярно-генетические основы мужского бесплодия //X Конгресс Акушеров-Гинекологов Узбекистана с международным участием. Ташкент- 2021. –С.15-18.

14. Irgashev D.S. The evaluation of the effectiveness of the combined use of FSWT with NIFEM in andrology //Научно-практическая международная конференция,- Грузия,- 2022. –РР.23-26.

15. Иргашев Д.С. Молекулярно-генетические основы мужского бесплодия. Особенности распространения полиморфизма Ile462Val гена CYP1A1 среди здоровых и мужчин с бесплодием// III Научно-практическая международная конференция «Зарождение жизни».- Москва 2022. –С.35-38.

16. Иргашев Д.С. Генетические аспекты мужского бесплодия в узбекской популяции. Оценка роли полиморфизма гена первой фазы детоксикации CYP1A1 (C6310T) в формировании мужского бесплодия // XXXII Международная конференция РАРЧ -2022 «Репродуктивные технологии сегодня и завтра»,- Казань 2022. –С.83.

17. Иргашев Д.С. Молекулярно-генетические основы мужского бесплодия. Особенности распространенности полиморфизма Ile462Val гена CYP1A1 и полиморфизма G681A гена CYP2C19 в генезе нарушения мужской фертильности // Научно-практическая конференция с международным участием «Репродуктивный потенциал Узбекистана: динамика, проблемы и консолидация действий»,- Хива 2022. –С.234-255.

18. Иргашев Д.С., Гасанова Ш.С., Музаффарова М.Х., Бобоев К.Т. Генетические аспекты мужского бесплодия в узбекской популяции // Сборник тезисов XXXII Международной конференции РАРЧ -2022 «Репродуктивные технологии сегодня и завтра». 7—10 сентября 2022 г., Казань. –С.83-85.

19. Иргашев Д.С., Распространенность полиморфизма Ile462Val гена CYP1A1 среди мужчин с бесплодием в узбекской популяции // Международная научная конференция «Psychology, Sports science and Medicine Сборник избранных статей по материалам научных конференций ГНИИ «Нацразвитие» Санкт-Петербург 2022 –С.36-37.

20. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Распространенность полиморфизма ARG262GLN гена GNRHR среди мужчин с бесплодием в узбекской популяции// The III International Scientific and Practical Conference «Theories, methods and practices of the latest technologies» Tokyo, Japan. 2022 – С.199-204.

21. Иргашев Д.С. Гасанова Ш.С., Бобоев К.Т. Анализ полиморфизма A2039G гена FSHR у мужчин с бесплодием// «Advances in Science and Technology» XLVIII Международная научно-практическая конференция «Научно-издательский центр «Актуальность.РФ» Москва 2022 –С.46-48.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси»журнали таҳририятида таҳрирдан ўтказилиб, ўзбек, рус ва инглиз тилларида матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.

1715



Босишга рухсат этилди: 28.04.2023 йил
Бичими 60x84 ¹/₁₆. «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулда чоп этилди.
Шартли босма табоғи 3,75. Адади 100. Буюртма № 045

“Fan va ta’lim poligraf” MChJ босмахонасида чоп этилди.
Тошкент шаҳри, Дўрмон йўли кўчаси, 24-уй.