

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.12.58-66>

Полиморфный локус CAGn гена андрогенового рецептора (AR) у пациентов с синдромом Клайнфельтера

Черных В.Б.^{1,2}, Соловова О.А.¹, Сорокина Т.М.¹, Штаут М.И.¹, Андреева М.В.¹, Беспалюк Д.А.³, Степанова А.А.¹, Близнац Е.А.¹, Опарина Н.В.⁴, Шилова Н.В.¹, Щагина О.А.¹, Поляков А.В.¹

- 1 – ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1
- 2 – ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России
117513, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1
- 3 – ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Минздрава России
117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д.11
- 4 – Государственный научный центр Российской Федерации, ФГБНУ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского
119991, г. Москва, ГСП-1, Абрикосовский пер., д.2

Синдром Клайнфельтера (СК) – наиболее частая гоносомная анеуплоидия, обусловленная наличием в кариотипе одной, реже 2-4 дополнительных X-хромосом у пациентов мужского пола. Фенотипическая вариабельность заболевания может быть связана с влиянием цитогенетического варианта СК, а также других генетических и эпигенетических факторов. В ряде работ установлено влияние родительского происхождения и инактивации X-хромосомы, а также ее генов и их вариантов, в частности, CAG-полиморфного локуса гена андрогенового рецептора (AR). Однако частота отдельных аллельных вариантов и генотипы по данному полиморфному локусу у пациентов с СК не исследованы. В данной работе исследован CAG-полиморфный локус гена AR у 222 пациентов с СК. Количество тринуклеотидных повторов определяли методом ПДАФ (полиморфизм длин амплифицированных фрагментов), основанном на ПЦР. Количество CAG-повторов варьировало от 14 до 32, среднее их число составило $22,3 \pm 2,7$. В исследованной выборке 59 пациентов являлись гомозиготами, 163 – гетерозиготами по исследованному локусу. В обеих группах частые аллели содержали 20-25 CAG-повторов, медиана – 22 повтора. Обнаружено статистически значимое ($p < 0,05$) отличие по аллельной частоте наиболее частого варианта CAGn, $n=21$ между гомозиготами и гетерозиготами. Выявленное различие между пациентами с СК, являющихся гомозиготами и гетерозиготами по CAGn полиморфному локусу гена AR, может быть объяснено возможными различиями в частоте нерасхождения гоносом в половых клетках их родителей, что требует дальнейшего исследования.

Ключевые слова: тринуклеотидные повторы, ген андрогенового рецептора (AR), синдром Клайнфельтера, X-хромосома.

Для цитирования: Черных В.Б., Соловова О.А., Сорокина Т.М., Штаут М.И., Андреева М.В., Беспалюк Д.А., Степанова А.А., Близнац Е.А., Опарина Н.В., Шилова Н.В., Щагина О.А., Поляков А.В. Полиморфный локус CAGn гена андрогенового рецептора (AR) у пациентов с синдромом Клайнфельтера. *Медицинская генетика* 2024; 23(12): 58-66.

Автор для корреспонденции: Черных Вячеслав Борисович; e-mail: chernykh@med-gen.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ МГНЦ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 03.12.2024

CAGn polymorphic locus of the androgen receptor (AR) gene in Klinefelter syndrome patients

Chernykh V.B.^{1,2}, Solovova O.A.¹, Sorokina T.M.¹, Shtaut M.I.¹, Andreeva M.V.¹, Bespalyuk D.A.³, Stepanova A.A.¹, Bliznets E.A.¹, Oparina N.V.⁴, Shilova N.V.¹, Schagina O.A.¹, Polyakov A.V.¹

- 1 – Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorchie st., Moscow, 115478, Russian Federation
- 2 – N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation
1, Ostrovityanova st., Moscow, 117513, Russian Federation
- 3 – Endocrinology Research Centre
11, Dm.Ulyanova st., Moscow, 117292, Russian Federation
- 4 – Petrovsky National Research Centre of Surgery
2, Abrikosovsky per., Moscow, 119991, Russian Federation.

Klinefelter syndrome (KS) is the most common gonosomal aneuploidy caused by the presence of one, rarely 2-4 additional X chromosomes in the karyotype in male patients. The phenotypic variability of the disease may be associated with the influence of the cytogenetic

variant of KS, as well as other genetic and epigenetic factors. A number of studies have established the influence of parental origin and inactivation of the X chromosome, as well as its genes and their variants, in particular the CAG polymorphic locus of the androgen receptor (AR) gene. However, the frequency of individual allelic variants and genotypes for this polymorphic locus have not been studied in KS patients. In this study, the CAG polymorphic locus of the AR gene was analyzed in 222 KS patients. The number of trinucleotide repeats was determined using the PCR-based AFPL (amplified fragment lengths polymorphism) method. The number of CAG repeats varied from 14 to 32, the average number was 22.3 ± 2.7 . In the studied sample, 59 patients were homozygous, 163 patients were heterozygous at this locus. In both groups, the frequent alleles contained 20-25 CAG repeats, the median was 22. A statistically significant ($p < 0.05$) difference was found in the allelic frequency of the most common variant of CAGn, $n=21$ between homozygotes and heterozygotes. The revealed difference for CAGn polymorphic locus of the AR gene between homozygous and heterozygous KS patients can be explained by possible differences in the frequency of sex chromosomes non-disjunction in the germ cells of their parents, which requires further investigation.

Keywords: trinucleotide repeats, androgen receptor (AR) gene, Klinefelter syndrome, X chromosome.

For citation: Chernykh V.B., Solovova O.A., Sorokina T.M., Shtaut M.I., Andreeva M.V., Bepalyuk D.A., Stepanova A.A., Bliznets E.A., Oparina N.V., Shilova N.V., Schagina O.A., Polyakov A.V. CAGn polymorphic locus of the androgen receptor (AR) gene in Klinefelter syndrome patients. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2024; 23(12): 58-66. (In Russian).

Corresponding author: Vyacheslav B. Chernykh; **e-mail:** chernykh@med-gen.ru

Funding. The study was carried out according to the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for the Research Centre for Medical Genetics.

Conflict of Interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 03.12.2024

Введение

Синдром Клайнфельтера (СК) – наиболее частая анеуплоидия по половым хромосомам, обусловленная наличием у индивидуумов мужского пола в кариотипе одной, реже большего числа дополнительных X-хромосом [1,2]. Фенотип пациентов с «классическим» СК характеризуется высоким или выше среднего ростом, евнухоидным телосложением, задержкой полового созревания, гипогенитализмом, гинекомастией, гипергонадотропным гипогонадизмом, мужским бесплодием вследствие нарушения сперматогенеза, приводящего к азооспермии или олигозооспермии, и другими проявлениями данного заболевания [3]. У 85-87% пациентов обнаруживают кариотип 47,XXY, являющийся наиболее частым цитогенетическим вариантом СК. У остальных пациентов обнаруживают другие немозаичные или мозаичные варианты СК с полисомией по половым хромосомам (гоносомам), например, 48,XXYY, 46,XY/47,XXY, 46,XX/47,XXY, структурные несбалансированные аномалии с дисомией X-хромосомы [1, 2].

СК обусловлен анеуплоидией по гоносомам в гаметах, участвующих в оплодотворении, и/или в эмбрионе. В большинстве случаев данная анеуплоидия возникает в результате мейотического нерасхождения половых хромосом в оогенезе или сперматогенезе. Примерно с одинаковой частотой (около 50%:50%) она может быть материнского (X-X нерасхождения в первом или втором мейотическом делении) или отцовско-

го происхождения (из-за X-Y нерасхождения в мейозе) и редко возникает в результате постзиготического нерасхождения [1,4]. У пациентов не только с различными, но и с одинаковыми цитогенетическими вариантами СК отмечается фенотипическая вариабельность [3,4], которая обусловлена влиянием генотипа, в частности, X-сцепленных, аутосомных и Y-сцепленных генов, мозаицизмом с различиями в представленности разных клеточных клонов в тканях и инактивации X-хромосомы [5-7].

Мужские половые гормоны (андрогены) являются одним из ведущих эндокринных факторов, в значительной мере определяющих развитие, состояние и функции органов мужской репродуктивной системы. Они также влияют на метаболизм и другие органы и системы. Действие мужских половых гормонов реализуется через андрогеновый рецептор, AR (Androgen receptor, AR) – внутриклеточный ядерный белок, являющийся лиганд-зависимым транскрипционным фактором, влияющим на экспрессию андроген-зависимых генов [8].

У человека ген андрогенного рецептора (*Androgen Receptor, AR*; OMIM: *313700) расположен на X-хромосоме (локус Xq12), имеет размер 90 т.п.н. и содержит 8 экзонов [8,9]. Белок, кодируемый геном AR, содержит три основных домена: N-концевой транс-активирующий (кодируемый экзоном 1), ДНК-связывающий (кодируемый экзонами 2 и 3) и лиганд-связыва-

вающий – LBD (кодируемый экзонами 4-8). Экзон 1 содержит два полиморфных тринуклеотидных повтора (CAG и CGG), которые кодируют полиглутаминовый и полиглициновый тракты, соответственно. В норме количество тринуклеотидных повторов в CAGn полиморфном локусе гена *AR* варьирует от 7 до 37 [8-10].

CAGn полиморфный локус гена *AR* связан с развитием прогрессирующего нервно-мышечного заболевания – спинобульбарной мышечной атрофии (СБМА), опухолей предстательной железы, а также мужским бесплодием вследствие нарушений сперматогенеза, необструктивной азооспермии и олигозооспермии [8]. Ранее рядом авторов была показана связь происхождения X-хромосом, количества CAG-повторов в гене *AR*, вариации числа копий (CNV) и инактивации X-хромосомы, исследовано влияние на различные параметры фенотипа и клинические показатели пациентов с СК [5,6,11-17]. Однако частота отдельных CAGn аллельных вариантов и генотипы по данному локусу недостаточно изучены, их не сравнивали у пациентов с СК, являющихся гетерозиготами и гомозиготами по X-сцепленным генам.

Цель исследования: изучение CAG-полиморфного локуса в экзоне 1 гена *AR* у пациентов с СК.

Материалы и методы

Исследование одобрено этическим комитетом при ФГБНУ МГНЦ. От каждого пациента получено письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Обследованы 222 пациента с СК, подтвержденным результатами цитогенетического исследования. Карิโอотипы обследованных пациентов: 47,XXY (n=206), 46,XY/47,XXY (n=8) 48,XXYY (n=3), 46,XX/47,XXY (n=1), 46,XX/47,XX,del(Y)(q11.2) (n=1), 47,XY+derX (n=1), 47,XXY,t(3;8)(q23;p21) (n=1), 46,XX,der(13)t(Y),der(15)(Y;15) (n=1).

Среди обследованных пациентов 220 индивидуумов не были родственниками, двое являлись монозиготными близнецами и имели кариотип 47,XXY. Пациентов с наличием трех или четырех X-хромосом не включали в исследование.

Кровь для цитогенетического и молекулярно-генетического исследования объемом 2-4 мл получали из локтевой вены методом венепункции в одноразовые пластиковые пробирки с крышечкой типа вакутейнер, содержащие гепарин (для цитогенетического исследования) и ЭДТА (для молекулярно-генетического исследования).

Стандартное цитогенетическое исследование проводили на препаратах метафазных пластинок культивированных лимфоцитов периферической крови, приготовленных по стандартной методике с использованием GTG-окрашивания. В каждом образце анализировали не менее 11 метафазных пластинок. Результаты цитогенетического исследования представлены согласно рекомендациям международной системы цитогеномной номенклатуры человека (ISCN, 2020) [18].

Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической венозной крови с помощью набора реактивов Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) по протоколу производителя. Анализ (GAG)n полиморфного локуса в экзоне 1 гена *AR* проводили методом полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (ПЦР-ПДФ) в соответствии с утвержденной и апробированной медицинской технологией ФГБНУ Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова (ФГБНУ МГНЦ). Детально методика молекулярно-генетического исследования описана нами ранее [19].

Статистический анализ данных выполняли с использованием критериев хи-квадрат и хи-квадрат с поправкой Йетса, используя компьютерную программу Statistica, версия 10 (Dell Inc., США). Наличие значимых различий между группами и подгруппами определяли при значении $p < 0,05$.

Результаты

Количество CAG-повторов в экзоне 1 гена *AR* в исследованной выборке из 222 пациентов с СК варьировало от 14 до 32, среднее число повторов составило $22,3 \pm 2,7$ (медиана – 22, мода – 21). Гомозиготность обнаружена у 59 (26,6%) и гетерозиготность по исследованному полиморфному локусу гена *AR* выявлена у 163 (73,4%) пациентов. В зависимости от наличия одного или двух вариантов тринуклеотидных повторов сформированы две группы пациентов: гетерозиготы (163 пациента, 326 аллелей) и гоизоготы (59 пациентов, 118 аллелей). В группах гомозигот и гетерозигот медиана и мода составили 22,0 и 21,0, соответственно, а количество CAG-повторов варьировало от 16 до 27 ($22,3 \pm 2,4$) и от 14 до 32 ($22,3 \pm 2,9$), соответственно (табл. 1).

Распределение вариантов гена *AR* с различным количеством CAG-повторов в экзоне 1 в общей выборке пациентов с СК показано на рис. 1, в группах пациентов-гомозигот и пациентов-гетерозигот по исследованному локусу представлено на рис. 2 и 3, соответственно.

Таблица 1. Характеристика общей выборки пациентов с СК, групп гомозигот и гетерозигот по CAGn полиморфному локусу гена AR.

Table 1. Characteristics of the total sample of patients with KS, groups of homozygotes and heterozygotes for the CAGn polymorphic locus of the AR gene.

AR CAGn	Общая выборка (444 аллелей)	Гетерозиготы (326 аллелей)	Гоиозиготы (118 аллелей)
Min – Max, n	14 – 32	16 - 27	14 – 32
Медиана, n	22,0	22,0	22,0
Мода, n	21,0	21,0	21,0
Q25	20,0	21,0	20,00
Q75	24,0	24,0	24,00
Среднее значение ± стандартное отклонение, n	22,3 ± 2,7	22,3 ± 2,3	22,3 ± 2,9

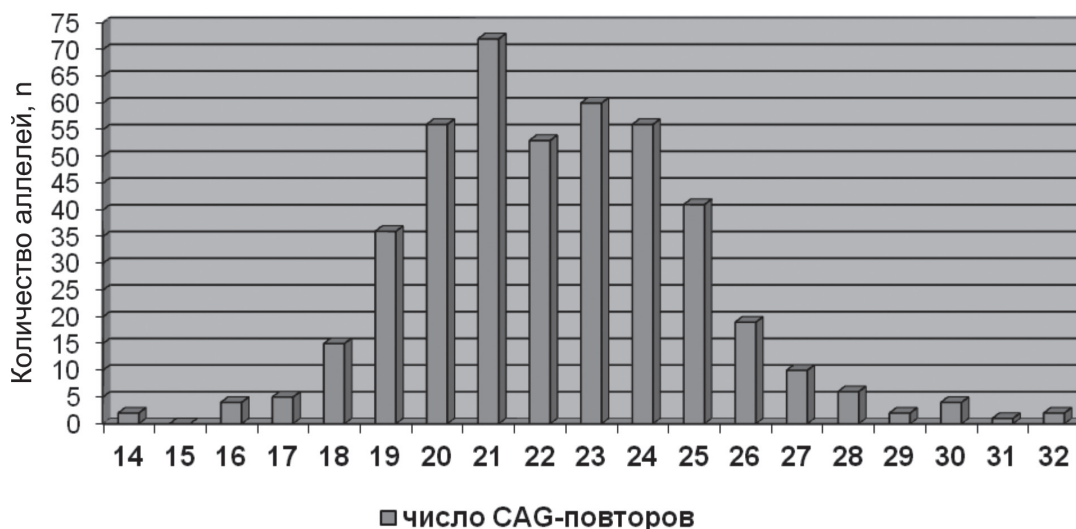


Рис. 1. Распределение аллелей гена AR с различным числом CAG-повторов у 222 пациентов с СК.

Fig. 1. Distribution of AR gene alleles with different numbers of CAG repeats in 222 KS patients.

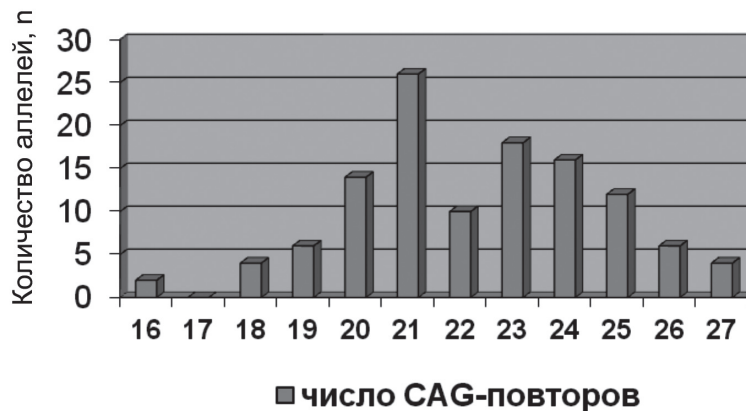


Рис. 2. Распределение аллелей гена AR с различным числом CAG-повтора у 59 пациентов с СК, гомозиготных по CAGn полиморфному локусу.

Fig. 2. Distribution of AR gene alleles with different numbers of CAG repeats in 59 KS patients, homozygous for the CAGn polymorphic locus.

Как в общей выборке пациентов с СК, так и в группе пациентов-гетерозигот по исследованному локусу хромосомы X распределение по частоте различных CAG-аллелей гена *AR* близко к нормальному унимодальному. Как в общей выборке, так и в группах пациентов-гомозигот и гетерозигот более частыми являлись варианты гена *AR* с 19-25 тринуклеотидными повторами – «средние» по длине аллели (рис. 1–3). Не выявлено статистически значимых различий в частотах «коротких» ($n \leq 18$), «средних» ($n = 19-25$) и «длинных» ($n \geq 26$) аллелей между группами пациентов гомозигот и гетерозигот по исследованному полиморфному локусу гена *AR* (табл. 2).

При сравнительном анализе аллелей гена *AR* в группах пациентов обнаружена статистически значимо более высокая аллельная частота варианта CAG_n, $n=21$ у гомозигот по сравнению с гетерозиготами

(0,2203 против 0,1411; $p = 0,046$; $\chi^2 = 4,003$, соответственно). По другим аллельным вариантам гена *AR* статистически значимых различий между гомозиготами и гетерозиготами не обнаружено. Более низкая аллельная частота варианта с 22 CAG-повторами отмечена у гомозигот по сравнению с гетерозиготами (0,1319 против 0,0847), однако это различие не было статистически значимым ($p = 0,176$) (табл. 3). Следует отметить, что в группе гетерозигот доля пациентов-носителей аллеля, содержащего 22 CAG-повтора, была статистически значимо выше, чем у пациентов-гомозигот по исследованному полиморфному локусу гена *AR* (26,4% против 8,5%; $\chi^2 = 6,276$; $p = 0,013$).

У пациентов-гомозигот по CAG_n полиморфному локусу гена *AR* более частыми генотипами являлись 20/20 ($n=7$; 11,9%), 21/21 ($n=13$; 22,0%), 23/23 ($n=9$; 15,3%), 24/24 ($n=8$; 13,6%) и 25/25 ($n=6$; 10,2%) (рис.

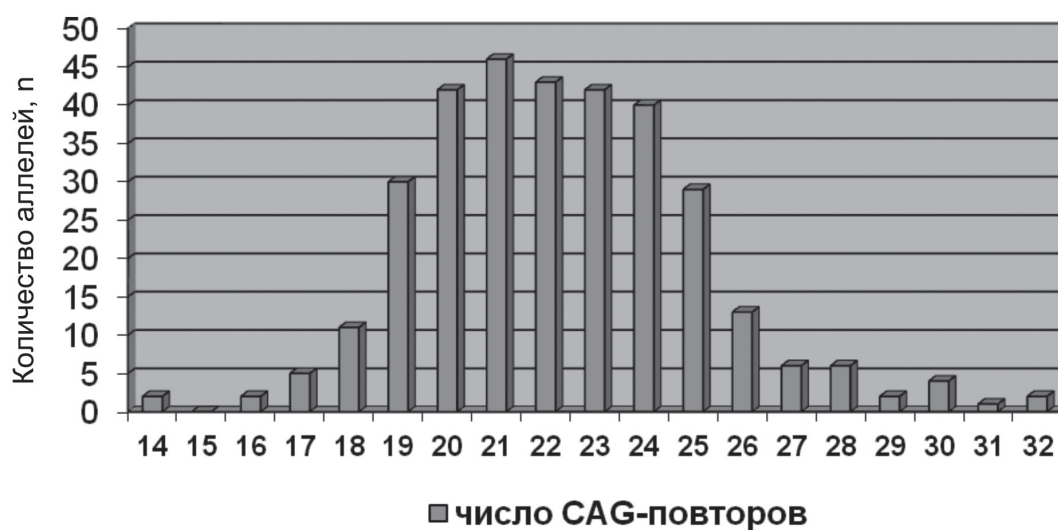


Рис. 3. Распределение аллелей гена *AR* с различным числом CAG-повтора у 163 пациентов с СК – гетерозигот по CAG_n полиморфному локусу.

Fig. 3. Distribution of *AR* gene alleles with different numbers of CAG repeats in 163 KS patients, heterozygous for the CAG_n polymorphic locus.

Таблица 2. Аллельные варианты у пациентов СК в общей выборке, у гомозигот и гетерозигот по числу CAG повторов гена *AR*.

Table 2. Allelic variants in patients with KS in the total sample, in homozygotes and heterozygotes by the number of CAG repeats of the *AR* gene.

CAG _n аллели гена <i>AR</i>	Общая выборка пациентов с СК (444 аллеля)	Гетерозиготы (326 аллелей)	Гомозиготы (118 аллелей)	Различие между гомозиготами и гетерозиготами, p
«Короткие» ($n \leq 18$)	26 (5,9%)	20 (6,1%)	6 (5,1%)	0,678
«Средние» ($n = 19-25$)	374 (84,2%)	272 (83,4%)	102 (86,4%)	0,443
«Длинные» ($n \geq 26$)	44 (9,9%)	34 (10,4%)	10 (8,5%)	0,543

2). Частота каждого из этих генотипов у пациентов с СК-гомозигот превышала 10%. Наиболее частый генотип 21/21 установлен у 13 из 59 (22,0%) пациентов-гомозигот и у 5,9% пациентов в общей выборке пациентов с СК. Каждый из генотипов 19/19 и 26/26 обнаружен у трех пациентов. Два из трех пациентов с генотипом 26/26 являлись монозиготными близнецами 47,XXY. Наиболее редкими являлись генотипы 16/16, 18/18 и 27/27, обнаруженные у 1, 2 и 2 пациентов, соответственно. Частота гомозигот по частым аллельным вариантам (CAG_n, n=20-25) в группе гомозигот и общей выборке пациентов с СК (гомозиготы и гетерозиготы) по отдельным аллелям составила от 8,5% до 22,0% и от 2,3% до 5,9%, суммарно – 81,4% и 21,6%, соответственно.

У 16 (7,2%) из 222 обследованных пациентов с СК отмечены редкие цитогенетические варианты СК и/или дополнительные хромосомные аномалии (табл. 4).

В группе из 16 пациентов без «классического» для СК кариотипа 47,XXY у 7 (43,8%) пациентов обнаружены мозаичные варианты СК, в том числе у пяти – мозаицизм 46,XY/47,XXY, у одного – мозаицизм 46,XX/47,XXY и у одного – кариотип 46,XX/47,XX,del(Y)(q11.2). Наличие дополнительной

структурно аномальной хромосомы отмечено у одного пациента (47,XY+derX), у двух пациентов дополнительные структурные хромосомные аномалии – реципрокная аутосомная транслокация и двойная Y-аутосомная транслокация (табл. 4). Последний случай был детально описан нами ранее [20].

Среди 10 пациентов с СК, у которых обнаружен мозаицизм по половым хромосомам, 6 пациентов являлись гомозиготами (по аллельным вариантам с числом CAG-повторов n=18-21) и 4 – гетерозиготами по исследованному полиморфному локусу гена AR (табл. 4). Количество CAG-повторов в экзоне 1 гена AR в данной подгруппе варьировало от 18 до 30, наиболее частый вариант (*Мода*) так же, как и в общей выборке пациентов с СК содержал 21 повтор. Данный вариант был обнаружен в 9 (28,1%) из 32 аллелей в данной подгруппе, в том числе у трех мужчин в гомозиготной, и у трех – в гетерозиготной форме.

Обсуждение

У пациентов с СК CAG-полиморфный локус гена AR был исследован ранее рядом авторов [5-7,11-17]. Определение количества тринуклеотидных повторов

Таблица 3. Частоты аллелей гена AR с разным количеством нуклеотидных повторов у мужчин с СК, гомозиготных и гетерозиготных по CAG_n полиморфному локусу гена AR.

Table 3. Frequencies of AR gene alleles with different numbers of nucleotide repeats in men with KS, homozygous and heterozygous for the CAG_n polymorphic locus of the AR gene.

Аллели AR по количеству CAG-повторов, n	Количество аллелей, аллельная частота (AF)			
	Все пациенты с СК (n=222)	Гетерозиготы (n=163)	Гомозиготы (n=59)	p
16	4 (0,0090)	2 (0,0061)	2 (0,0170)	0,620
17	5 (0,0113)	5 (0,0153)	0 (0,0000)	0,399
18	15 (0,0338)	11 (0,0337)	4 (0,0339)	0,773
19	36 (0,0811)	30 (0,0920)	6 (0,0508)	0,161
20	56 (0,1261)	42 (0,1288)	14 (0,1186)	0,776
21	72 (0,1622)	46 (0,1411)	26 (0,2203)	0,046
22	53 (0,1194)	43 (0,1319)	10 (0,0847)	0,176
23	60 (0,1351)	42 (0,1288)	18 (0,1525)	0,519
24	56 (0,1261)	40 (0,1227)	16 (0,1356)	0,718
25	41 (0,0923)	29 (0,0890)	12 (0,1017)	0,683
26	19 (0,0428)	13 (0,0399)	6 (0,0508)	0,614
27	10 (0,0225)	6 (0,0184)	4 (0,0339)	0,542
28	6 (0,0135)	6 (0,0184)	0 (0,0000)	0,309
29	2 (0,0045)	2 (0,0061)	0 (0,0000)	0,960

в гене *AR* у пациентов с СК проводили для определения родительского происхождения X-хромосом, исследования характера инактивации X-хромосомы (лайонизации), а также возможных корреляций количества тринуклеотидных повторов и X-инактивации с параметрами фенотипа (антропометрическими, гормональными и метаболическими показателями, уровнем интеллекта и нейropsychическими изменениями, эффективностью ответа на андроген-заместительную терапию и другими показателями). В данных работах количество CAG-повторов в гене *AR* варьировало от 14 до 28 [6,11]. Авторы сравнивали среднее количество тринуклеотидных повторов у пациентов с СК и индивидуумов контрольных групп, при этом отмечали, что к частым аллелям гена *AR* относят варианты, несущие 20-24 CAG-повтора, а наиболее распространенные аллельные варианты гена *AR* содержат 21-22 повтора. В исследованной нами выборке пациентов с СК количество CAG-повторов в экзоне 1 варьировало в диапазоне от 14-32, при этом распределение аллелей с разным количеством повторов в целом было схожим с таковым в выборках пациентов с СК и обследованных нами ранее российских мужчин с бесплодием и фертильных мужчин [10]. Отсутствие в исследованной нами выборке пациентов СК некоторых редких аллелей, в частности, CAGn, n=15, аллелей с малым (менее 14) или большим (более 32) числом тринуклеотидных повторов, вероятно, обуслов-

лено относительно небольшой численностью обследованной выборки и редкой встречаемостью данных аллелей, в том числе у российских фертильных мужчин, мужчин с нормозооспермией и мужчин с нарушением фертильности, связанным с патозооспермией [10].

При сравнении пациентов, являющихся гомозиготами и гетерозиготами по исследованному полиморфному локусу гена *AR*, в обеих группах более частыми являлись «средние» по длине аллельные варианты, несущие 19-25 CAG повторов. При этом не отмечено значимых различий в частоте «коротких» (CAGn, n≤18), «средних» (CAG, n=19-25) и «длинных» (CAG, n≥26) аллелей между группами пациентов (табл. 2). Частота соответствующих аллелей в исследованной нами ранее группах российских мужчин с нормозооспермией (n=131) и фертильных мужчин (n=286) составила 2,3%, 81,7% и 16,0%, 5,24%, 86,36% и 8,39%, соответственно [10], что очень сходно с распределением по их частоте у пациентов с СК (не имеет статистически значимого различия, $p > 0,05$) и особенно близко к таковым у фертильных мужчин и пациентов с СК – гомозигот по исследованному полиморфному локусу. У российских мужчин с нарушением фертильности частота «коротких», «средних» и «длинных» CAG-повторов варьировала от 6,3-9,5%, 77,2-81,0% и 11,4-16,0% в зависимости от формы патозооспермии, при этом у данных пациентов чаще отмечали «короткие» и «длинные» ва-

Таблица 4. Кариотипы и генотипы по CAGn полиморфному локусу гена *AR* у пациентов с редкими цитогенетическими вариантами СК/дополнительными хромосомными аномалиями (n=16).

Table 4. Karyotypes and genotypes for the CAGn polymorphic locus of the *AR* gene in patients with rare cytogenetic variants of KS / additional chromosomal abnormalities (n=16).

Кариотип	Генотип по аллелю CAGn AR	Количество пациентов, n
48,XXYY	20/21	1
	21	1
	23/26	1
46,XY/47,XXY	18	1
	20	2
	20/26	1
	21	2
	21/25	1
	21/27	1
46,XX/47,XXY	22/30	1
46,XX/47,XX,del(Y)(q11.2)	19	1
47,XY+derX	18	1
47,XXY,t(3;8)(q23;p21)	23/25	1
46,XX,der(13)t(Y),der(15)(Y;15)	22/23	1

рианты CAG-повторов по сравнению с фертильными мужчинами и пациентами с СК [10].

У 7,2% пациентов с СК обследованной нами выборки обнаружены неклассические цитогенетические варианты и/или дополнительные хромосомные аномалии. У большинства из них (6 из 10) обнаружена гомозиготность, у 4 из 10 пациентов – гетерозиготность по числу CAGn-повторов, при этом не выявлено каких-либо особенностей и выраженных отличий по исследованному локусу гена *AR* от пациентов с классическим цитогенетическим вариантом 47,XXY.

В исследованной нами выборке пациентов выявлена статистически значимо более высокая частота аллеля CAGn, $n = 21$ у пациентов-гомозигот, чем у гетерозигот по данному локусу, также наиболее распространенному варианту гена *AR* и у российских мужчин [10]. Поскольку другие авторы не исследовали аллельные частоты отдельных полиморфных вариантов гена *AR*, данный сравнительный анализ проведен впервые и сравнить полученные данные с другими исследованиями не представляется возможным. Кроме того, следует отметить, что выборки пациентов с СК, обследованные другими авторами, мало- или немногочисленны, и в данных работах не приведены данные по отдельным аллельным вариантам CAG-повторов и генотипам у пациентов гомозигот и гетерозигот (за редким исключением малочисленной группы из 13 пациентов, обследованной Suzuki Y. с соавт [11]). Среди наиболее значимых результатов, полученных в нашей работе, следует отметить впервые обнаруженное нами различие по аллельной частоте варианта гена *AR*, содержащего 21 CAG-повторов, между пациентами с СК гомозиготами и гетерозиготами. Кроме того, в группе гомозигот выявлена меньшая доля носителей аллельного варианта гена *AR* с 22 CAG-повторами. Это может быть обусловлено возможными различиями в предрасположенности к X-X и X-Y нерасхождению в гаметах у носителей разных аллельных вариантов CAGn полиморфного локуса гена *AR* и/или быть связано с негативным отбором гамет или эмбрионов, гомозиготных по данному локусу, что также требует дальнейшего исследования.

Заключение

В общей выборке пациентов с СК и в группе пациентов-гетерозигот по исследованному CAG-полиморфному локусу гена *AR* частота распределение вариантов с разным количеством тринуклеотидных повторов соответствует нормальному, при этом частота частых аллелей близка к таковым для индивидуумов

из общей популяции и пациентов с нарушением фертильности. Выявленные отличия в частотах некоторых частых CAGn аллельных вариантов гена *AR* между группами пациентов с СК, являющихся гомозиготами и гетерозиготами по данному полиморфному локусу, могут быть связаны с возможными различиями в частоте мейотического нерасхождения гоносом у их родителей, имеющих разный генотип по исследованному полиморфному локусу X-хромосом, что требует дальнейшего исследования.

Литература

1. Цитогенетика эмбрионального развития человека: научно-практические аспекты – Баранов В.С., Кузнецова Т.В. СПб: Издательство Н-Л. 2006. – 640с.
2. Frühmesser A., Kotzot D. Chromosomal variants in Klinefelter syndrome. *Sex Dev.* 2011;5(3):109-23. doi: 10.1159/000327324.
3. Беспалюк Д.А., Чугунов И.С. Синдром Клайнфельтера у детей и подростков. *Проблемы Эндокринологии.* 2018;64(5):321-328. doi: 10.14341/probl9840
4. Thomas N.S., Hassold T.J. Aberrant recombination and the origin of Klinefelter syndrome. *Hum Reprod Update.* 2003;9(4):309-17. doi: 10.1093/humupd/dmg028.
5. Iitsuka Y., Bock A., Nguyen D.D., et al. Evidence of skewed X-chromosome inactivation in 47,XXY and 48,XXYY Klinefelter patients. *Am J Med Genet.* 2001;98(1):25-31.
6. Zinn A.R., Ramos P., Elder F.F., et al. Androgen receptor CAGn repeat length influences phenotype of 47,XXY (Klinefelter) syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(9):5041-6. doi: 10.1210/jc.2005-0432.
7. Skakkebaek A., Bojesen A., Kristensen M.K., et al. Neuropsychology and brain morphology in Klinefelter syndrome - the impact of genetics. *Andrology.* 2014;2(4):632-40. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00229.x.
8. Меликян Л.П., Черных В.Б. Полиморфизм CAG-повторов гена андрогенного рецептора, болезнь Кеннеди и мужское бесплодие. *Андрология и генитальная хирургия.* 2019;20(2):35-39. doi: 10.17650/2070-9781-2019-20-2-35-39.
9. Osadchuk, L.V., Osadchuk, A.V. Role of CAG and GGC Polymorphism of the Androgen Receptor Gene in Male Fertility. *Russ J Genet.* 2022; 58(3): 247–264. <https://doi.org/10.1134/S1022795422020119>
10. Melikyan L.P., Bliznetz E.A., Polyakov A.V. et al. Polymorphism of CAG Repeats in Exon 1 of the Androgen Receptor Gene in Russian Men with Various Forms of Pathozoospermia. *Russ J Genet.* 2020; 56: 1000–1005. <https://doi.org/10.1134/S1022795420080104>
11. Suzuki Y., Sasagawa I., Tateno T., et al. Mutation screening and CAG repeat length analysis of the androgen receptor gene in Klinefelter's syndrome patients with and without spermatogenesis. *Hum Reprod.* 2001;16(8):1653-6. doi: 10.1093/humrep/16.8.1653.
12. Ferlin A., Schipilliti M., Di Mambro A., et al. Osteoporosis in Klinefelter's syndrome. *Mol Hum Reprod.* 2010;16(6):402-10. doi: 10.1093/molehr/gaq026.
13. Chang S., Skakkebaek A., Trolle C., et al. Anthropometry in Klinefelter syndrome - multifactorial influences due to CAG length, testosterone treatment and possibly intrauterine hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):E508-17. doi: 10.1210/jc.2014-2834.
14. Ferlin A., Schipilliti M., Vinanzi C., et al. Bone mass in subjects with Klinefelter syndrome: role of testosterone levels and androgen recep-

- tor gene CAG polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):E739-45. doi: 10.1210/jc.2010-1878.
15. Jørgensen I.N., Skakkebaek A., Andersen N.H., et al. Short QTc interval in males with Klinefelter syndrome—influence of CAG repeat length, body composition, and testosterone replacement therapy. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2015;38(4):472-82. doi: 10.1111/pace.12580.
 16. Rocca M.S., Pecile V., Cleva L., et al. The Klinefelter syndrome is associated with high recurrence of copy number variations on the X chromosome with a potential role in the clinical phenotype. *Andrology.* 2016;4(2):328-34. doi: 10.1111/andr.12146.
 17. Simonetti L., Ferreira L.G.A., Vidi A.C., et al. Intelligence quotient variability in Klinefelter syndrome is associated with GTPBP6 expression under regulation of X-chromosome inactivation pattern. *Front Genet.* 2021;12:724625. doi: 10.3389/fgene.2021.724625.
 18. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020). Ed: Jean McGowan-Jordan; Ros J. Hastings; Sarah Moore. S.Karger AG, 2020.
 19. Шагина О.А., Миронович О.Л., Забненкова В.В. и др. Экспансия CAG-повтора в экзоне 1 гена AR у больных спинальной амиотрофией. *Медицинская генетика.* 2017;16(9):31-36.
 20. Черных В.Б., Бостанова Ф.М., Сорокина Т.М. и др. Синдром Клайнфельтера у пациента с двойной Y-аутосомной транслокацией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2024;69(4):97-101. doi: 10.21508/1027-4065-2024-69-4-97-101.
- ### References
1. Tsitogenetika embrional'nogo razvitiya cheloveka: nauchno-prakticheskiye aspekty – Baranov V.S., Kuznetsova T.V. [Cytogenetics of human embryonic development: scientific and practical aspects – Baranov V.S., Kuznetsova T.V.]. Spb: Izdatel'stvo N-L. [St. Petersburg: N-L Publishing House]. 2006. – 640p. (In Russ.)
 2. Frühmesser A., Kotzot D. Chromosomal variants in Klinefelter syndrome. *Sex Dev.* 2011;5(3):109-23. doi: 10.1159/000327324.
 3. Bepalyuk D.A., Chugunov I.S. Sindrom Klaynfel'tera u detey i podrostkov [Klinefelter syndrome in children and adolescents]. *Problemy Endokrinologii [Problems of Endocrinology].* 2018;64(5):321-328. (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/probl9840>
 4. Thomas N.S., Hassold T.J. Aberrant recombination and the origin of Klinefelter syndrome. *Hum Reprod Update.* 2003;9(4):309-17. doi: 10.1093/humupd/dmg028.
 5. Iitsuka Y., Bock A., Nguyen D.D., et al. Evidence of skewed X-chromosome inactivation in 47,XXY and 48,XXYY Klinefelter patients. *Am J Med Genet.* 2001;98(1):25-31.
 6. Zinn A.R., Ramos P., Elder F.F., et al. Androgen receptor CAGn repeat length influences phenotype of 47,XXY (Klinefelter) syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(9):5041-6. doi: 10.1210/jc.2005-0432.
 7. Skakkebaek A., Bojesen A., Kristensen M.K., et al. Neuropsychology and brain morphology in Klinefelter syndrome - the impact of genetics. *Andrology.* 2014;2(4):632-40. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00229.x.
 8. Melikyan L.P., Chernykh V.B. Polimorfizm CAG-povtorov gena androgenogo retseptora, bolezni' Kennedi i muzhskoye besplodiye [CAG repeats polymorphism of androgen receptor gene, Kennedy's disease and male infertility]. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya [Andrology and Genital Surgery].* 2019;20(2):35-9. (In Russ.)
 9. Osadchuk, L.V., Osadchuk, A.V. Role of CAG and GGC Polymorphism of the Androgen Receptor Gene in Male Fertility. *Russ J Genet.* 2022; 58(3): 247–264. <https://doi.org/10.1134/S1022795422020119>
 10. Melikyan L.P., Bliznetz E.A., Polyakov A.V. et al. Polymorphism of CAG Repeats in Exon 1 of the Androgen Receptor Gene in Russian Men with Various Forms of Pathozoospermia. *Russ J Genet.* 2020; 56: 1000–1005. <https://doi.org/10.1134/S1022795420080104>
 11. Suzuki Y., Sasagawa I., Tateno T., et al. Mutation screening and CAG repeat length analysis of the androgen receptor gene in Klinefelter's syndrome patients with and without spermatogenesis. *Hum Reprod.* 2001;16(8):1653-6. doi: 10.1093/humrep/16.8.1653.
 12. Ferlin A., Schipilliti M., Di Mambro A., et al. Osteoporosis in Klinefelter's syndrome. *Mol Hum Reprod.* 2010;16(6):402-10. doi: 10.1093/molehr/gaq026.
 13. Chang S., Skakkebaek A., Trolle C., et al. Anthropometry in Klinefelter syndrome - multifactorial influences due to CAG length, testosterone treatment and possibly intrauterine hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):E508-17. doi: 10.1210/jc.2014-2834.
 14. Ferlin A., Schipilliti M., Vinanzi C., et al. Bone mass in subjects with Klinefelter syndrome: role of testosterone levels and androgen receptor gene CAG polymorphism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(4):E739-45. doi: 10.1210/jc.2010-1878.
 15. Jørgensen I.N., Skakkebaek A., Andersen N.H., et al. Short QTc interval in males with Klinefelter syndrome—influence of CAG repeat length, body composition, and testosterone replacement therapy. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2015;38(4):472-82. doi: 10.1111/pace.12580.
 16. Rocca M.S., Pecile V., Cleva L., et al. The Klinefelter syndrome is associated with high recurrence of copy number variations on the X chromosome with a potential role in the clinical phenotype. *Andrology.* 2016;4(2):328-34. doi: 10.1111/andr.12146.
 17. Simonetti L., Ferreira L.G.A., Vidi A.C., et al. Intelligence quotient variability in Klinefelter syndrome is associated with GTPBP6 expression under regulation of X-chromosome inactivation pattern. *Front Genet.* 2021;12:724625. doi: 10.3389/fgene.2021.724625.
 18. ISCN 2020: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2020). Ed: Jean McGowan-Jordan; Ros J. Hastings; Sarah Moore. S.Karger AG, 2020.
 19. Shchagina O.A., Mironovich O.L., Zabnenkova V.V., et al. Ekspanziya CAG-povtora v ekzone 1 gena AR u bol'nykh spinal'noy amiotrofiyey [CAG expansion in exon 1 of the AR gene in Russian spinal atrophy patients]. *Meditsinskaya genetika [Medical Genetics].* 2017;16(9):31-36. (In Russ.)
 20. Chernykh V.B., Bostanova F.M., Sorokina T.M., et al. Sindrom Klaynfel'tera u patsiyenta s dvoynoy Y-autosomnoy translokatsiyey [Klinefelter syndrome in a patient with double Y-autosomal translocation]. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics].* 2024;69(4):97-101. (In Russ.) <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2024-69-4-97-101>