



**Резюме на проект по Фонд „Наука“ № 18011 – Конкурсна сесия 2018:  
„Проучване на молекулярно-генетични фактори в CFTR гена при мъже с  
първичен инфертилитет“**

**Ръководител: Доц. д-р Трифон Георгиев Червенков, дм**

Целта на проекта е проучването ролята на молекулярно-генетичните промени в CFTR гена като етиологичен фактор при мъже с първичен инфертилитет за подобряване подхода за генетична профилактика при техните семейства.

Задачите на изследването са:

1. Да се селектират пациентите, които имат брой на сперматозоидите в еякулата под  $5 \times 10^6/\text{ml}$  и са подходящи за включване в изследването.
2. Да се определи честотата на хомо- и хетерозиготния генотип по изследвани генетични варианти (мутации и полиморфизми) (IVS8 poly-T, TG повтори, F508del и R117H) в CFTR гена в проучваната група мъже.
3. Да се проведе сравнителен анализ между получените резултати от молекулярно-генетичните тестове за мутации и полиморфизми в CFTR гена и концентрацията на сперматозоиди в еякулата при носителите им, за да се определи генотип-фенотипната корелация между намерената генетична находка и нарушената спермограма.
4. Да се анализират ролята и проблемите на медико-генетичното консултиране на семейства с първичен инфертилитет.
5. Да се обобщят и анализират резултатите от проведените молекулярно-генетични изследвания като част от дисертационния труд на д-р М. Левкова.

Използване на Real-time PCR апарат на Applied Biosystems QuantStudio Dx, агарозна електрофореза, секвениране с капилярна електрофореза с апарат на Beckman Coulter GeXP, анализ на генотиповете на участниците за търсените мутации в CFTR гена - IVS8 poly-T, TG повтори, F508del и R117H.

Очакваните резултати са да се докаже ролята на CFTR гена като причина за наблюдаваните отклонения в броя на сперматозоидите при изследваните мъже.

### **Постигнати резултати:**

Беше изолиран ДНК материал от мъже, които страдаха от първичен идиопатичен инфертилитет и имаха брой на сперматозоидите в еякулата под  $5 \times 10^6/\text{ml}$ .

Беше проведен молекулярно-генетичен анализ за търсене на патогенни и полиморфни варианти в CFTR гена, които може да са свързани с нарушената сперматогенеза. Бяха установени следните генотипове за 5T варианта, който се асоциира с нарушена сперматогенеза: един мъж от пациентската група (2,00%) беше хомозигот за 5T/5T варианта, двама (4,00%) – хетерозиготи за 5T/7T варианта. Останалите 47 пациенти (94,00%) демонстрираха нормални генотипове. При един пациент (2,00%) беше установено носителство в хетерозиготно състояние на delF508 мутация в CFTR гена, но при него това се наблюдаваше в комбинация със 7T варианта, което не се счита за патологична находка. Нито един от участниците не беше носител на R117H мутация в CFTR гена.

Генотиповете на пациентите с нарушена сперматогенеза по отношение на варианта IVS8(n)T бяха сравнени с тези на 20 фертилни мъже, които участваха в изследването като здрави контроли. Нито един от участниците в контролната група не беше носител на 5T варианта в хомо- или хетерозиготно състояние. Нито един от участниците в контролната група не беше носител на мутациите delF508 или R117H в CFTR гена.

Беше приложен непараметричният тест One-Way ANOVA, за да се провери дали съществува статистически значима разлика в разпределението на варианта IVS8(n)T между двете изследвани групи. Генотиповете на двете групи по отношение на варианта IVS8(n)T показаха статистически значима разлика ( $p=0,04$ ,  $\alpha < 0,05$ ).

Също така беше анализиран и броят на TG повторите в CFTR гена при мъжете с нарушена сперматогенеза – 47 (94,00%) имаха 11 TG повтора и 3 (6,00%) – 10 TG повтора. Намерените варианти на броя на TG повторите се считат за нормални.

За пръв път сред български пациенти с мъжки инфертилитет беше изследван 5T вариантът в CFTR гена, който има потенциална роля като етиологичен фактор за нарушената сперматогенеза при носителите му. Потвърдена е необходимостта от оценка на молекулярно-генетичните мутации и варианти в CFTR гена при мъже с нарушена сперматогенеза.

Потвърдена е необходимостта от оценка на молекулярно-генетичните мутации и полиморфни варианти в CFTR гена при мъже с нарушена сперматогенеза.