

© Коллектив авторов, 2025

УДК 616-008.8/616-092.6

Галимова Э.Ф.¹, Громенко И.Д.¹, Галимов Ш.Н.¹, Гилязова И.Р.^{1,4}, Громенко Д.Д.¹, Галимов К.Ш.², Ткаченко С.В.³, Литвицкий П.Ф.²**Экзосомальные микроРНК в патогенезе идиопатического мужского бесплодия**¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450008, Уфа, Россия, ул. Ленина, д. 3;²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Москва, Россия, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2;³ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия, ул. Островитянова, д. 1;⁴Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Уфа, Россия, просп. Октября, д. 71

Введение. Исследования последних лет сосредоточены на поиске новых информативных методов диагностики мужского бесплодия, которые позволили бы полнее характеризовать функциональную эффективность сперматозоидов. Одним из таких методов, на который возлагаются большие надежды, стала оценка экспрессии малых некодирующих РНК – микроРНК. Для этих молекул характерна способность модулировать различные этапы сперматогенеза путем изменения регуляции генов. Благодаря этому их скрининговая оценка позволит не только расширить диагностические возможности в клинике, но и глубже исследовать механизмы идиопатического мужского бесплодия.

Цель исследования: изучить возможность использования экзосомальных микроРНК miR-20a, miR-135a, miR-34b, miR-449b, miR-449c в качестве маркеров мужского бесплодия и оценить зависимость эффективности программ ВРТ от уровня их экспрессии.

Методика. В основную группу вошли пациенты, вступающие в программу ВРТ (вспомогательные репродуктивные технологии) с установленным диагнозом идиопатического мужского бесплодия ($n=30$), в контрольную – супружеские пары с женским бесплодием трубного происхождения ($n=19$). Выделение и изоляция экзосомальной микроРНК, содержащейся во внеклеточных везикулах эякулята проводилось с помощью набора реагентов exoRNeasy Midi. Для оценки экспрессии экзосомальных микроРНК (miR-20a, miR-135a, miR-34b, miR-449b, miR-449c и контрольной miR-16) использовалась система miRCURY LNA miRNA SYBR® Green PCR System.

Результаты. Экспрессия экзосомальных miR-449c и miR-135a была значимо снижена в основной группе ($p=0,03156$ и $p=0,0477$, соответственно). Также отмечена тенденция к снижению экспрессии miR-20a, miR-34b и miR-449b. С большой достоверностью уровень экспрессии miR-34b, miR-449b, и miR-449c и miR-135a имел прямую зависимость с эффективностью программ ВРТ. Сила корреляционной связи вышеописанных отношений по шкале Чеддока была умеренной.

Заключение. Исследованные нами микроРНК могут быть использованы в качестве диагностического маркера мужской фертильности, а также для оценки эффективности процессов оплодотворения и формирования эмбриона.

Ключевые слова: идиопатическое мужское бесплодие; экспрессия экзосомальных микроРНК

Для цитирования: Галимова Э.Ф., Громенко И.Д., Галимов Ш.Н., Гилязова И.Р., Громенко Д.Д., Галимов К.Ш., Ткаченко С.В., Литвицкий П.Ф. Экзосомальные микроРНК в патогенезе идиопатического мужского бесплодия. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(1): 42–48.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.42-48

Участие авторов: концепция и дизайн работы – Галимов Ш.Н.; сбор данных, анализ и интерпретация данных – Громенко Д.Д., Галимов К.Ш., Ткаченко С.В.; написание статьи – Громенко И.Д., Гилязова И.Р., Галимова Э.Ф.; редактирование статьи – Литвицкий П.Ф. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Галимова Эльмира Фанисовна, e-mail: efgalimova@mail.ru

Финансирование. Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ № 23-25-00140

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.11.2024

Принята к печати 30.01.2025

Опубликована 27.03.2025

Galimova E.F.¹, Gromenko I.D.¹, Galimov Sh.N.¹, Gilyazova I.R.^{1,4}, Gromenko D.D.¹, Galimov K.Sh.², Tkachenko S.V.³, Litvitskiy P.F.²

Exosomal microRNAs in the pathogenesis of idiopathic male infertility

¹Bashkir State Medical University, 3 Lenina St., Ufa, 450008, Russian Federation;

²Sechenov First Moscow State Medical University, 8 Trubetskaya St., Bldg. 2, Moscow, 119991, Russian Federation;

³Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russian Federation;

⁴Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Federal Research Center, Republic of Bashkortostan, 71 Prospekt Oktyabrya, Ufa, 450054, Russian Federation

Introduction. Recent studies have focused on finding new informative methods for diagnosing male infertility that would better characterize the functional efficiency of spermatozoa. One of such methods, which has high expectations, is assessing the expression of small non-coding RNAs, microRNAs. These molecules are able to modulate various stages of spermatogenesis by changing the gene regulation. Therefore, screening for some of them will not only expand clinical diagnostic capabilities but also allow a deeper insight into the mechanisms of idiopathic male infertility. **Aim of the study:** to evaluate the use of miR-20a, miR-135a, miR-34b, miR-449b, and miR-449c as markers of male infertility and to assess the dependence of the effectiveness of assisted reproductive technology (ART) programs on the expression level of exosomal microRNAs.

Methods. The main group included patients enrolled to the ART program with a confirmed diagnosis of idiopathic male infertility ($n=30$); the control group included married couples with female infertility of tubal origin ($n=19$). Exosomal microRNA was isolated from extracellular vesicles of the ejaculate using an exoRNeasy Midi reagent kit. The miRCURY LNA miRNA SYBR® Green PCR System was used to assess the expression of exosomal microRNAs (miR-20a, miR-135a, miR-34b, miR-449b, miR-449c and control miR-16).

Results. The expression of exosomal miR-449c and miR-135a was significantly reduced in the main groups ($p=0.03156$ and $p=0.0477$, respectively). A tendency toward decreased expression was also noted for miR-20a, miR-34b, and miR-449v. The expression level of miR-34b, miR-449v, and miR-449c and miR-135a was highly significantly correlated with the effectiveness of ART programs. The strength of the Chaddock correlation between the above-described relationships was moderate.

Conclusion. MicroRNAs selected for the study can be used as a diagnostic marker of male infertility, as well as for evaluating the efficiency of fertilization and embryo formation.

Keywords: idiopathic male infertility; expression of exosomal microRNAs

For citation: Galimova E.F., Gromenko I.D., Galimov Sh.N., Gilyazova I.R., Gromenko D.D., Galimov K.Sh., Tkachenko S.V., Litvitskiy P.F. Exosomal microRNAs in the pathogenesis in idiopathic male infertility. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(1): 42–48. (in Russian).

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.01.42-48

Author's contribution: concept and design of the work – Galimov Sh.N.; data collection, analysis and interpretation of data – Gromenko D.D., Galimov K.Sh., Tkachenko S.V., Galimova E.F.; writing the text – Gromenko I.D., Gilyazova I.R., Galimova E.F.; editing the text – Litvitskiy P.F. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Elmira F. Galimova*, DSc, associate prof., Bashkir State Medical University, e-mail: efgalimova@mail.ru

Information about the authors:

Galimova E.F., <https://orcid.org/0000-0002-3351-7669>

Gromenko I.D., <https://orcid.org/0000-0001-8582-660X>

Galimov Sh.N., <https://orcid.org/0000-0002-5871-5151>

Gilyazova I.R., <https://orcid.org/0000-0001-9499-5632>

Gromenko D.D., <https://orcid.org/0000-0001-5638-1779>

Galimov K.Sh., <https://orcid.org/0000-0002-0148-4380>

Tkachenko S.V., <https://orcid.org/0009-0009-5619-8312>

Litvitskiy P.F., <https://orcid.org/0000-0003-0151-9114>

Financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-25-00140.

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

Поступила 28.11.2024

Принята к печати 30.01.2025

Опубликована 27.03.2025

Введение

Бесплодие является одной из основных проблем здравоохранения во всем мире и, согласно С. Сох и соавт., его распространенность достигает 17,5 % в зависи-

мости от исследуемой популяции [1]. Ситуация усугубляется с течением времени: в период с 1990 по 2017 гг. распространенность бесплодия в пересчете на средние показатели ежегодно увеличивалась на 0,370% у женщин и на 0,291% у мужчин [2]. По данным последнего

мета-анализа, выполненного группой Н. Levine и соавт., глобальные тенденции снижения общего количества сперматозоидов в эякуляте вызывают серьезные опасения: так, в период с 1973 по 2018 гг. оно снизилось на 62,3% с темпом $-4,70$ млн/год, при этом процент снижения концентрации сперматозоидов в год удвоился, увеличившись с 1,16% после 1972 г. до 2,64% после 2000 г. [3].

Экономическое и социальное бремя мужского бесплодия широко признано. Все более убедительные доказательства связывают снижение качества эякулята с ростом смертности и заболеваемости по всем причинам [4].

Причины мужского бесплодия разнообразны и еще недостаточно изучены: на долю идиопатических форм приходится до 40% всех его выявленных случаев [5, 6]. Хотя существуют различные специализированные диагностические тесты для уточнения причин infertility, их интерпретация неточна и часто субъективна. Современный стандарт диагностики бесплодия, основанный на анализе спермограммы, имеет ряд недостатков: (1) нормальные показатели спермограммы не гарантируют зачатия; (2) существует значительное совпадение между параметрами спермы фертильных и бесплодных мужчин; (3) анализ спермы не дает информации об оплодотворяющей способности сперматозоидов [7]. Таким образом, поиск новых биомаркеров бесплодия является одной из актуальных задач современной медицины.

В последнее время показано, что молекулы некодирующей РНК, известные как микроРНК (miRNAs), одноцепочечные структуры длиной 18-25 нуклеотидов, чья основная функция – регуляция экспрессии генов путем образования полукомплементарных структур в 3' нетранслируемой области их целевой матричной РНК, могут быть вовлечены в патогенез мужского бесплодия [8, 9]. Присутствие микроРНК в яичках, эпидидимисе, сперматозоидах, семенной плазме и внеклеточных везикулах, а также возможность этих молекул модулировать различные этапы сперматогенеза путем повышения или понижения регуляции активности генов, явилось основанием для представления о том, что микроРНК могут использоваться для создания новых методов диагностики бесплодия и скрининга пациентов в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Обнаружено, что измененные уровни их экспрессии у мужчин ассоциируются со снижением количества сперматозоидов (олигозооспермией), низкой подвижностью сперматозоидов (астенозоспермией) и аномальной морфологией сперматозоидов (тератозоспермией) [10, 11].

Цель исследования – изучить возможность использования экзосомальных микроРНК miR-20a, miR-135a, miR-34b, miR-449b, miR-449c в качестве маркеров мужского бесплодия и оценить зависимость эффективности программ ВРТ от уровня их экспрессии.

Методика

Отбор пациентов для участия в исследовании осуществлялся из семейных пар вступавших в программы с применением вспомогательных репродуктивных технологий, на базе Медицинского Центра «Семья», г. Уфа. В основную группу ($n=30$) были отнесены супружеские пары с установленным диагнозом «Идиопатическое мужское бесплодие», аномальными показателями спермограммы, отсутствием женского фактора и достаточным ответом на овариальную стимуляцию (более 8 полученных ооцитов после трансвагинальной пункции фолликулов). В группу сравнения ($n=19$) были включены пациенты с женским трубным фактором бесплодия, нормальными показателями эякулята и доказанной фертильностью у мужчины-партнера. Все участники исследования подписали информированное добровольное согласие.

После двухдневного воздержания пациенты обеих групп сдавали эякулят путем мастурбации. Часть материала была использована для проведения повторной расширенной оценки морфокинетических параметров эякулята, оставшийся материал, объемом не менее 1 мл, был транспортирован после предварительной заморозки до -90° в НИИ «Урологии и клинической онкологии» ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» для осуществления основного этапа исследований.

Эякулят после оттаивания центрифугировали при 1600 g в течение 10 мин, а затем при 16 000 g еще 10 мин для удаления клеток и клеточных фрагментов. При выделении и изоляции экзосомальной микроРНК, содержащейся во внеклеточных везикулах, был использован набор реагентов exoRNeasy Midi. В основе метода лежит способность специальных мембран связывать и изолировать экзосомы и другие внеклеточные везикулы из предварительно очищенных биологических жидкостей. Для лизиса экзосом и элюирования содержащихся в них микроРНК использовался QIAzol Lysis Reagent, обеспечивающий практически полное удаление белков и остаточной ДНК. После добавления к лизату хлороформа и разделению полученного раствора на две фазы, верхняя водная фаза, содержащая суммарную РНК, забиралась. Затем полученный материал смешивался с 96% этанолом в соотношения 1:2 (фаза:спирт) и заливался в колонки

RNeasy MinElute spin column, где микроРНК связывалась с мембраной. Далее микроРНК высокой концентрации и качества элюировалась в микропробирку путем добавления 14 мкл очищенной от РНК воды.

Для оценки экспрессии микроРНК использовалась система miRCURY LNA miRNA SYBR® Green PCR System, характеризующаяся высокой специфичностью и способностью образовывать прочные термостабильные комплементарные связи между цепочками РНК. В основе метода лежит обратная транскрипция с последующей амплификацией с помощью ПЦР в режиме реального времени. Обратная транскрипция производилась на амплификаторе BIO-RAD Real-time CFX96 Touch. Для реакции были использованы буфер 5x miRCURY RT SYBR® Green Reaction Buffer, обратная транскриптаза 10x miRCURY RT Enzyme Mix (содержащая в своем составе Поли(А)полимеразу), очищенная от РНК вода и микроРНК, выделенная в ходе предыдущего этапа исследования. Обратная транскрипция осуществлялась при температуре 42°C в течение 1 часа с последующей инактивацией фермента. Вышеописанный процесс позволял получить одноцепочечную кДНК-матрицу для всех допустимых набором видов ПЦР-анализа.

Полученная кДНК амплифицировалась в режиме реального времени на аппарате Rotor-Gene Q 6plex с использованием ДНК-полимеразы (QuantiNova DNA-Polymerase) и флюоресцентного красителя SYBR® Green I. Амплификация в режиме реального времени осуществлялась в течение 50 циклов при температуре 60-95°C. Одновременно с этим осуществлялась детекция флюоресценции при длине волны 494 нм для итогового определения экспрессии микроРНК. Всего определялась экспрессия 6 микроРНК: miR-20a, miR-135a, miR-34b, miR-449b, miR-449c и контрольной miR-16.

Для интерпретации полученных результатов был применён биоинформатический анализ $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Для оценки влияния экспрессии микроРНК на эффективность программ ВРТ была использована ранговая корреляция Спирмена с применением шкалы Чеддока для характеристики силы корреляционных связей. Визуализация результатов осуществлялась с помощью возможностей пакета Statistica 10 (Tibco, США) и Microsoft Excel 2019.

Результаты

Результаты исследования показали, что экспрессия экзосомальных miR-449c и miR-135a была значимо ниже в основной группе ($p=0,03156$ и $p=0,0477$, соответственно) (рис. 1). Также была отмечена тенден-

ция к снижению экспрессии для miR-20a, miR-34b и miR-449b ($p=0,08186$, $p=0,15272$ и $p=0,18684$, соответственно).

При сравнении результатов эмбриологического этапа программ ВРТ обнаружено, что с большой достоверностью уровень экспрессии miR-34b, miR-449b и miR-449c имеет прямую зависимость с частотой получения эмбрионов пятого дня хорошего качества ($p<0,01$). Сила корреляционной связи этих отношений по шкале Чеддока соответствует умеренной, с наибольшей величиной для miR-449c ($r=0,4876$). Для экспрессии miR-135a также была характерна корреляция с частотой получения бластоцист высокого качества, но с более низкой степенью достоверности ($p<0,05$). Сила корреляционной связи этого взаимоотношения была умеренная ($r=0,3333$) и наименьшая из полученных достоверных величин (рис. 2). Для miR-20a не было выявлено наличия связи с результативностью программ ВРТ ($p>0,05$)

Обсуждение

Выбор оцениваемых в нашем исследовании микроРНК был определен существующими в настоящее время данными фундаментальных работ, посвящённых оценке роли малых форм РНК в качестве биомаркеров мужского бесплодия. Внимание исследователей уже несколько лет привлекает семейство miR-34, которое состоит из шести членов (miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-449a, miR-449b, miR-449c), расположенных на трех различных хромосомах 1p36.22, 11q23.1 и 5q11.2 [12-18].

Объединив результаты этих и других исследований, К. Pantos и соавт. назвали основные механизмы, лежащие в основе указанной связи [19]. Согласно их мнению, подавление экспрессии микроРНК 34/449 может приводить к нарушению цитогенеза в эфферентных протоках яичка, что, в свою очередь, сопровождается снижением реабсорбции семенной жидкости, агрегацией и агглютинацией сперматозоидов с последующей обструкцией эфферентных канальцев и повышением гидростатического давления в яичках. Результатом этих процессов является снижение качества эякулята вплоть до азооспермии.

Другой постулируемый механизм – участие представителей семейства микроРНК 34/449 в регуляции сперматогенеза. При блоке экспрессии этих микроРНК нарушается клеточный цикл сперматогенеза, дифференцировка клеток, замедляется или полностью прекращается формирование жгутика сперматозоида, а также растёт скорость апоптоза клеток. Результаты нашего исследования показали, что экспрессия

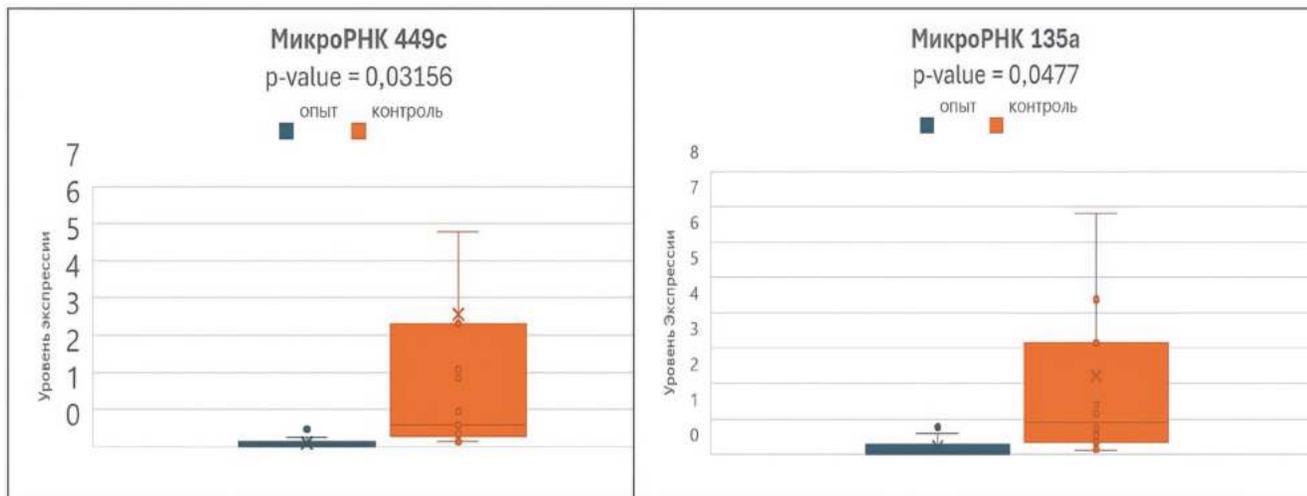


Рис. 1. Уровень экспрессии экзосомальных микроРНК в исследуемых группах.
Fig. 1. The level of expression of exosomal microRNAs in the study groups.

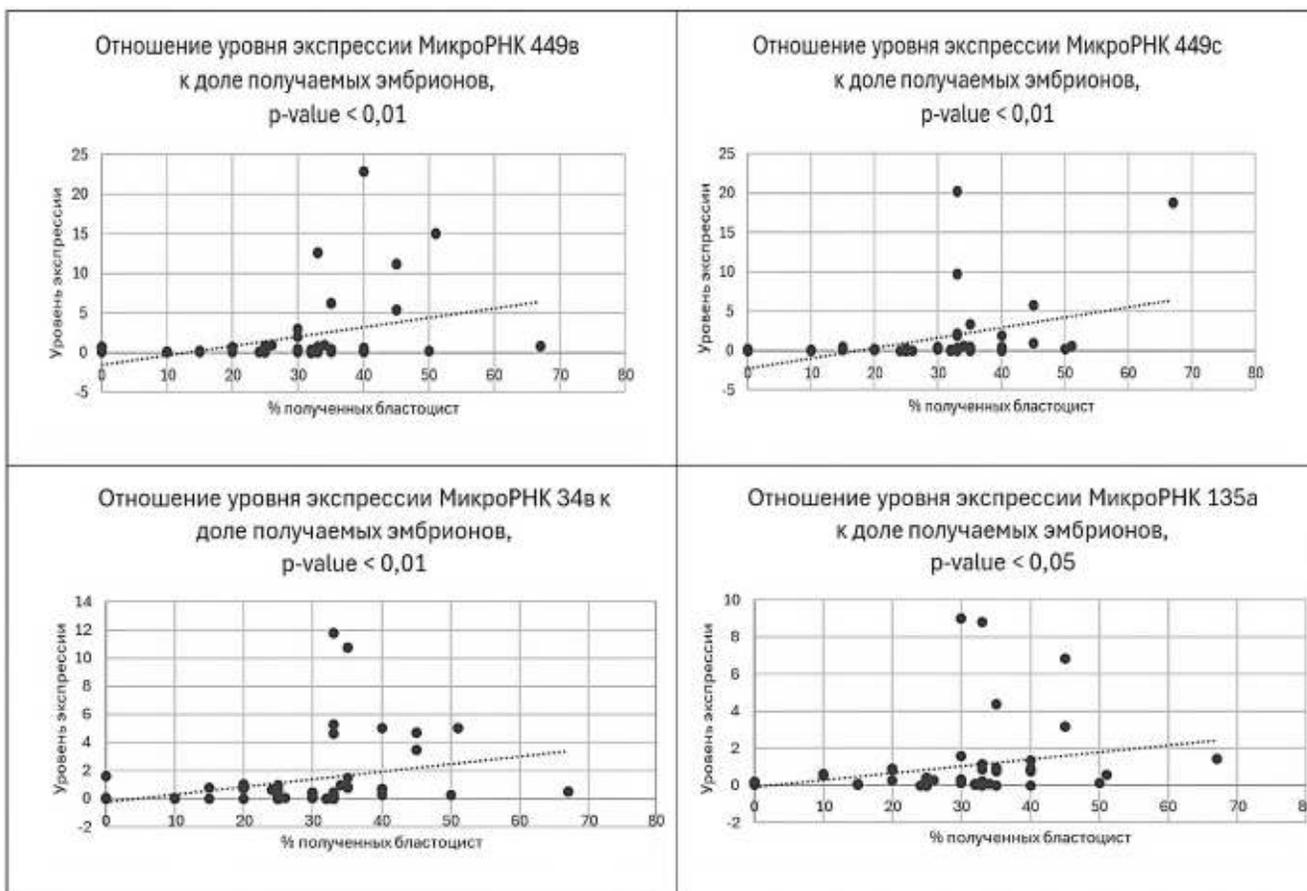


Рис. 2. Корреляционные взаимоотношения экспрессии отдельных микроРНК с результатами эмбриологического этапа программ ВРТ.
Fig. 2. Correlation of individual microRNAs' expression with the results of the embryological stage of ART programs.

miR-449c значительно снижается в группе пациентов с установленным мужским фактором бесплодия.

Наряду с этим, miR-34b, miR-449b, и miR-449c из семейства микроРНК 34/449 демонстрируют значимое влияние на эффективность зачатия и развития эмбрионов в программах ВРТ. Экспериментальные данные многих исследователей показали сходные закономерности. M. Eikmans и соавт. сообщили о снижении экспрессии miRNA-34b у пациентов с олигозооспермией и астенозооспермией ($p < 0,001$ и $p < 0,05$, соответственно) [14]. Похожую корреляцию отмечают и другие авторы у пациентов с олигоастенозооспермией и азооспермией [15-17].

Важными представляются результаты исследования A. Momeni и соавт., в котором, помимо экспрессии семейства miR-34, оценивалась степень метилирования промотора гена, кодирующего соответствующую микроРНК. В работе выявлено не только значимое снижение его экспрессии в группе бесплодных мужчин, но и большая степень метилирования промотора (82,4% против 23,3%) [12]. К сходным выводам относительно микроРНК 449 приходят R. Najafpour и соавт. Так, при достоверно более низкой экспрессии miR-449-b ($p = 0.0001$), частота метилирования промотора была выше в опытной группе (60,8% против 23,3%) [13]. C. Burgos и соавт. полагают, что влияние экспрессии miR-34 на фертильность может быть обусловлено воздействием на PI3K/AKT/mTOR сигнальный путь [20].

Другой микроРНК, анализ экспрессии которой был проведен в настоящей работе, стала miR-135a. Результаты исследования продемонстрировали не только значимое снижение её экспрессии у пациентов основной группы, но достоверное влияние на эмбриологический этап программ ВРТ. Среди других работ, оценивавших роль miR-135a, можно выделить исследование Y. Daneshmandpour и соавт., в которой помимо роли микроРНК 34b, описана ассоциация микроРНК 135a с олигозооспермией [8], а также работу W. Li и соавт., в которой авторы выявили связь miR-135a с астенозооспермией [21]. Y. Al-Mawlah и соавт. также подтвердили наличие достоверной разницы в экспрессии микроРНК 135 в эякуляте бесплодных мужчин в сравнении с фертильными донорами [22].

Одна из оцениваемых в нашем исследовании – miR-20a, была выбрана, основываясь на данных G. Cito и соавт., которые обнаружили существенное изменение экспрессии miR-20a-5p в крови у пациентов с необструктивной азооспермией [23]. Результаты нашего исследования не подтверждают эти выводы, так как не обнаружено достоверной корреляции

изменений экспрессии в эякуляте опытной и контрольных групп.

Заключение

Идиопатическое мужское бесплодие по-прежнему остается одной из существенных проблем, с которыми сталкивается современная медицина на пути совершенствования методов экстракорпорального оплодотворения. Понимание сути этой проблемы имеет решающее значение для предоставления нуждающимся в ней парам шанса завести ребенка [5, 24]. Молекулы микроРНК, отобранные нами для исследования, продемонстрировали не только потенциальную способность быть использованными в качестве диагностического маркера мужской инфертильности, но и способность отражать эффективность процессов оплодотворения и формирования эмбриона. Вместе с тем, для полного обоснования возможности использования малых нуклеиновых кислот необходимо провести дополнительные исследования для выявления типов микроРНК, вовлеченных в эти процессы, механизмов их действия, а также возможности модуляции процесса их экспрессии, что может изменить исходы процедуры ВРТ для этих пациентов.

Литература

(п.п. 1-5; 7-8; 10-24 см. References)

6. Галимов Ш.Н., Ахметов Р.М., Галимова Э.Ф., Байрамгулов Ф.М., Биккулова Л.Р. Молекулярные аспекты влияния комплекса Сперотон на мужскую фертильность при идиопатическом бесплодии. *Урология*. 2017; 2: 88-92. <https://doi.org/10.18565/urol.2017.2.88-929>
9. Громенко Ю.Ю., Громенко И.Д., Галимова С.Ш., Галимова Э.Ф., Громенко Д.Д., Булыгин К.В. и др. Роль и место микроРНК в патогенезе бесплодия. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2023; 22(6): 65-72. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2023-6-65-72>

References

1. Cox C., Thoma M., Tchangalova N., Mburu G., Bornstein M., Johnson C., et al. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open*. 2022; 2022(4): hoac051. <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>
2. Sun H., Gong T., Jiang Y., Zhang S., Zhao Y., Wu QJ. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990-2017: results from a global burden of disease study, 2017. *Aging (Albany NY)*. 2019; 11(23): 10952-91. <https://doi.org/10.18632/aging.102497>
3. Levine H., Jorgensen N., Martino-Andrade A., Mendiola J., Weksler-Derri D., Jolles M., et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Hum Reprod Update*. 2023; 29(2): 157-76. <https://doi.org/10.1093/humup/dmac035>

4. Ferlin A., Garolla A., Ghezzi M., Selice R., Palego P., Caretta N., et al. Sperm count and hypogonadism as markers of general male health. *Eur Urol Focus*. 2021; 7(1): 205-13. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2019.08.001>
5. Agarwal A., Baskaran S., Parekh N., Cho C., Henkel R., Vij S. Male infertility. *Lancet*. 2021; 397(10271): 319-33. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32667-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32667-2)
6. Galimov Sh.N., Akhmetov R.M., Galimova E.F., Bairamgulov F.M., Bikkulova L.R. Molecular aspects of the impact of the speron complex on the male fertility in idiopathic infertility. *Urologiya*. 2017; 2: 88-92. <https://doi.org/10.18565/urol.2017.2.88-92> (in Russian)
7. Esteves S. Are specialized sperm function tests clinically useful in planning assisted reproductive technology? *Int Braz J Urol*. 2020; 46(1): 116-23. <https://doi.org/10.1590/S1677-5538.IB-U.2020.01.03>
8. Daneshmandpour Y., Bahmanpour Z., Hamzei H., Mazaheri Moghaddam M., Mazaheri Moghaddam M., Khademi B., et al. MicroRNAs association with azoospermia, oligospermia, asthenozoospermia, and teratozoospermia: a systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2020 Apr; 37(4): 763-75. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01674-9>
9. Gromenko Yu.Yu., Gromenko I.D., Galimova S.Sh., Galimova E.F., Gromenko D.D., Bulygin K.V., et al. Role and place of microRNAs in the pathogenesis of infertility. *Voprosy Ginekologii, Akusherstva i Perinatologii*. 2023; 22(6): 65-72. <https://doi.org/10.20953/1726-1678-2023-6-65-72> (In Russian)
10. Barbu M., Thompson D., Suci N., Voinea S., Cretoiu D., Predescu D. The roles of MicroRNAs in male infertility. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(6): 2910. <https://doi.org/10.3390/ijms22062910>
11. Zhou Q., Guo X., Zhang W., Zhou J., Yang C., Bian J., et al. Expressions of miR-525-3p and its target gene SEMG1 in the spermatozoa of patients with asthenozoospermia. *Andrology*. 2019; 7: 220-7. <https://doi.org/10.1111/andr.12573>
12. Momeni A., Najafipour R., Hamta A., Jahani S., Moghbelinejad S. Expression and methylation pattern of hsa-miR-34 family in sperm samples of infertile men. *Reprod Sci*. 2020; 27(1): 301-8. <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00025-4>
13. Najafipour R., Momeni A., Yousefipour F., Mousavi S., Moghbelinejad S. Underexpression of hsa-miR-449 family and their promoter hypermethylation in infertile men: a case-control study. *Int J Reprod Biomed*. 2021; 19(1): 23-34. <https://doi.org/10.18502/ijrm.v19i1.8177>
14. Eikmans M., Anholts J., Blijleven L., Meuleman T., van Beelen E., van der Hoorn M-LP., et al. Optimization of microRNA acquirement from seminal plasma and identification of diminished seminal microRNA-34b as indicator of low semen concentration. *IJMS*. 2020; 21(11): 4089. <https://doi.org/10.3390/ijms21114089>
15. Khadhim M., Manshd A. Association between microRNA expression and risk of male idiopathic infertility in Iraq. *Rev Assoc Med Bras*. 2023; 69(9): e20230341. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20230341>
16. Finocchi F., Pelloni M., Balercia G. Seminal plasma miRNAs in Klinefelter syndrome and in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Mol Biol Rep*. 2020; 47: 4373-82. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05552-x>
17. Mokánszki A., Molnár Z., Varga Tóthné E., Bodnár B., Jakab A., Bálint B., et al. Altered microRNAs expression levels of sperm and seminal plasma in patients with infertile ejaculates compared with normozoospermic males. *Hum Fertil Camb Engl*. 2020; 23(4): 246-55. <https://doi.org/10.1080/14647273.2018.1562241>
18. Joshi M., Sethi S., Mehta P., Kumari A., Rajender S. Small RNAs, spermatogenesis, and male infertility: a decade of retrospect. *Reprod Biol Endocrinol*. 2023; 21(1): 106. <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01155-w>
19. Pantos K., Grigoriadis S., Tomara P., Louka I., Maziotis E., Pantou A., et al. Investigating the role of the microRNA-34/449 family in male infertility: a critical analysis and review of the literature. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 709943. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.709943>
20. Burgos C., Cikutovic R., Alarcón M. MicroRNA expression in male infertility. *Reprod Fertil Dev*. 2022; 34(12): 805-18. <https://doi.org/10.1071/RD21131>
21. Li W., Zhang L., Yin X., Yu T. Expression of miR-135a-5p and its target gene JAK2 in spermatozoa of patients with asthenozoospermia. *Andrologia*. 2021; 53(11): e14214. <https://doi.org/10.1111/andr.14214>
22. Al-Mawlah Y., Al-Darraj M., Al-Imari M. Study of small non-coding RNA (miRNA) expression pattern of fertile/infertile male semen. *Acta Inform Med*. 2022; 30(3): 205-12. <https://doi.org/10.5455/aim.2022.30.205-212>
23. Cito G., Coccia M., Salvianti F., Fucci R., Picone R., Giachini C., et al. Blood plasma miR-20a-5p expression as a potential non-invasive diagnostic biomarker of male infertility: A pilot study. *Andrology*. 2020; 8(5): 1256-64. <https://doi.org/10.1111/andr.12816>
24. Galimov Sh.N., Gromenko J.Y., Bulygin K.V., Galimov K.Sh., Galimova E.F., Sinelnikov M.Y. The level of secondary messengers and the redox state of NAD⁺/NADH are associated with sperm quality in infertility. *J Reprod Immunol*. 2021; 148: 103383. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2021.103383>

Сведения об авторах:

Галимова Эльмира Фанисовна, доктор мед. наук, доцент, проф. каф. патологической физиологии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

Громенко Иван Дмитриевич, ассистент каф. биологической химии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

Галимов Шамиль Нариманович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. биологической химии, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

Гилязова Ирина Ришатовна, канд. биол. наук, доцент, каф. медицинской генетики и фундаментальной медицины ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; ст. науч. сотр., «Институт биохимии и генетики» УФИЦ РАН;

Галимов Камиль Шамилевич, канд. мед. наук, ассистент каф. патофизиологии, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет);

Громенко Дарья Дмитриевна, ординатор, ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России;

Ткаченко Серафима Витальевна, студентка, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России;

Литвицкий Петр Францевич, чл.-корр. РАН, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии, ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет).