© Коллектив авторов, 2021

Хасанова Е.М.¹, Ганковская Л.В.¹, Греченко В.В.¹, Свитич О.А.^{1,2}

Значение пептидов семейства β -дефензинов в снижении мужской репродуктивной функции

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г. Москва, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 105064, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. В настоящее время бесплодие приобрело статус глобальной социально-демографической проблемы, с которой при планировании семьи сталкивается 15 % пар во всем мире. В последние годы появляется все больше работ, исследующих влияние противомикробных пептидов семейства β -дефензинов на процессы репродукции.

Цель исследования – изучение роли β -дефензинов HBD1 и HBD26 в патогенезе мужского бесплодия и ассоциации носительства неблагоприятного аллеля *del* гена *DEFB126* (rs11468374) с уровнем его экспрессии в сперматозоидах и концентрацией его белкового продукта в семенной жидкости пациентов с бесплодием.

Материал, и методы. В исследование включены 88 доноров эякулята. Основную группу составили 65 пациентов с диагнозом «идиопатическое бесплодие». Группу сравнения составили 23 здоровых донора. Полученный биоматериал разделяли на фракции сперматозоидов и семенной жидкости методом центрифугирования в градиенте плотности, из сперматозоидов выделяли нуклеиновые кислоты и методом полимеразной цепной реакции в реальном времени определяли уровень экспрессии генов *DEFB1* и *DEFB126*, а также полиморфный маркер гена *DEFB126* (rs11468374). Концентрацию пептидов HBD1 и HBD26 в семенной жидкости определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. Было продемонстрировано снижение уровней экспрессии генов *DEFB1* и *DEFB126* в сперматозоидах пациентов с идиопатическим бесплодием с тяжелой степенью астенозооспермии – в 4,5 и 13,57 раза соответственно. Снижение концентрации этих пептидов в семенной жидкости пациентов составило 2,7 и 13,84 раза. Также было изучено распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs11468374 гена *DEFB126*, ассоциированного с развитием идиопатического бесплодия, среди мужчин московской популяции. Продemonстрировано, что носительство мутантного аллеля *del* статистически значимо ассоциировано с повышенным риском нарушения фертильной функции ($\chi^2 = 14,67$; $p < 0,001$; ОШ = 6,83; 95 % ДИ 2,409–19,366).

Заключение. Полученные данные могут быть использованы для более подробного изучения влияния β -дефензинов на процессы мужской репродукции и развитие бесплодия, а также стать основой для ранней диагностики предрасположенности к снижению фертильной функции.

Ключевые слова: врожденный иммунитет; мужское бесплодие; β -дефензины; сперматозоиды; подвижность сперматозоидов

Статья получена 12.09.2021. Принята в печать 14.10.2021.

Для цитирования: Хасанова Е.М., Ганковская Л.В., Греченко В.В., Свитич О.А. Значение пептидов семейства β -дефензинов в снижении мужской репродуктивной функции. Иммунология. 2021; 42 (5): 470–479. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-5-470-479>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Хасанова Елена Минсалимовна –
аспирант, ассистент
кафедры иммунологии МБФ,
младший научный сотрудник
лаборатории экспериментальной
онкологии
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Минздрава России,
Москва, Российская Федерация
E-mail: joimolino@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6735-4693>

Khasanova E.M.¹, Gankovskaya L.V.¹, Grechenko V.V.¹, Svitich O.A.^{1,2}

Relevance of the β -defensin family in reduction of male reproductive function

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 117997, Moscow, Russian Federation

² I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Science and High Education of the Russian Federation, 105064, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Nowadays infertility became a global sociodemographic problem, which affects about 15 % of couples around the world. In the last few years more and more studies, which research an influence of antimicrobial peptides of the β -defensins family on reproductive processes, have been appearing.

The aim of this study was to estimate the role of β -defensins HBD1 and HBD26 in the pathogenesis of male infertility and the association of carriership of mutant *HBD126* gene *del* allele (rs11468374) with its' gene expression levels in sperm cells, and the level of its' protein product in the seminal fluid of infertile patients.

Material and methods. The study included 88 male subjects. The participants were divided into a group of 65 men affected by idiopathic infertility, and a group of 23 healthy donors. Separation of the ejaculate into seminal fluid and spermatozoa was performed via centrifugation of the ejaculate in a density gradient. To assess the *DEFB1*, *DEFB126* genes expression and the polymorphic marker (rs11468374) of *DEFB126* gene, the techniques of DNA/RNA extraction, reverse transcription reaction, and real time PCR were used. The level of the HBD1, HBD26 peptides in the semen fluid was assessed by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. We demonstrated a decrease of expression of *DEFB1* and *DEFB126* genes in spermatozoa of patients with idiopathic infertility with severe asthenozoospermia by 4.5 times (HBD1) and 13.57 (HBD26) in comparison with healthy donors, with the concentration levels of these defensins in seminal plasma reduced by 2.7 and 13.84 times respectively. We also estimated a distribution of allele and genotype frequencies of the rs11468374 polymorphic marker of the *DEFB126* gene among Moscow population. We demonstrated that the carriership of the mutant *del* allele is statistically associated with a higher risk of impairment of male fertility ($\chi^2 = 14.67$, $p < 0.001$, OR = 6.83; 95 % CI 2.409–19.366).

Conclusion. These data can be used for a more detailed study of β -defensins' influence on male reproduction processes and establishment of infertility. Also the results of our work could be a foundation of an early diagnosis of susceptibility to decrease of fertility function.

Keywords: innate immunity; male infertility; β -defensin; sperm cells; sperm motility

Received: 12.09.2021. **Accepted:** 14.10.2021.

For citation: Khasanova E.M., Gankovskaya L.V., Grechenko V.V., Svitich O.A. Relevance of the β -defensin family in reduction of male reproductive function. *Immunologiya*. 2021; 42 (5): 470–9. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-5-470-479> (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

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

For correspondence

Elena M. Khasanova – PhD Student,
Assistant of Immunology Chair,
Med.-Biol. Faculty,
Junior Researcher
of Experimental Oncology Lab.,
N.I. Pirogov RNRMU, MOH of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: joimolino@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6735-4693>

Введение

В настоящее время бесплодие приобрело статус глобальной социально-демографической проблемы, с которой при планировании семьи сталкивается 15 % пар во всем мире [1]. Долгое время считалось, что основной вклад в нарушение мужской репродуктивной функции со стороны иммунной системы обусловлен развитием аутоиммунных реакций и выработкой антиспермальных антител [2]. В последние годы появляется все больше работ, исследующих влияние факторов врожденного иммунитета на процессы репродукции. Среди них особо выделяют группу противомикробных пептидов [3–6].

Противомикробные пептиды семейства β -дефензинов являются важными гуморальными факторами системы врожденного иммунитета [7–9]. Это высококон-

сервативная группа катионных пептидов, богатых цистеином, с низкой молекулярной массой, конститутивно вырабатываемых лейкоцитами и эпителиальными клетками слизистых оболочек, а также клетками микроглии, астроцитами и сперматозоидами [10–12]. Спектр функций β -дефензинов включает такие процессы, как обеспечение прямого противомикробного действия, хемотаксиса, клеточной дифференцировки, оплодотворения и др. [13, 14].

В мужском репродуктивном тракте экспрессия β -дефензинов обнаружена в простате, семенниках, а также в плазматической мембране сперматозоидов, где они осуществляют функцию локальной защиты от инфекций, формируя своеобразный антимикробный щит вокруг мужских половых клеток [3]. Также белки этого семейства обеспечивают успешное продвижение

сперматозоидов по женскому репродуктивному тракту, капацитацию и защищают их от агрессивного действия факторов иммунной системы женщины [15, 16].

Противомикробный пептид HBD1 широко экспрессируется эпителиальными клетками слизистых оболочек [17]. Было показано, что сперматозоиды на всех стадиях развития, от сперматоцитов 1-го порядка до поздних сперматид, экспрессируют HBD1, а также этот дефензин присутствует в семенной жидкости и на поверхности эякулированных сперматозоидов [18].

Среди многочисленных компонентов гликокаликса сперматозоидов выделяют белок HBD26, который принадлежит системе врожденного иммунитета [19]. Спектр функций данного белка также охватывает процессы иммунной защиты и успешного оплодотворения яйцеклетки [20]. В последние годы был идентифицирован полиморфный маркер гена *DEFB126* rs11468374, представляющий собой делецию 2 нуклеотидов во 2-м экзоне. Высказано предположение, что данная мутация приводит к снижению подвижности сперматозоидов и их способности к миграции в цервикальном канале, а также она ассоциирована с развитием бесплодия [19].

Снижение подвижности сперматозоидов, также называемое астенозооспермией, является частой причиной бесплодия и составляет около 18 % случаев недостаточной фертильности у мужчин [21, 22]. Существуют единичные данные, согласно которым пептиды семейства β -дефензинов оказывают влияние на уровень подвижности мужских половых клеток, однако их точная роль в патогенезе мужского бесплодия до конца не изучена [3].

Цель настоящего исследования – изучение роли β -дефензинов HBD1 и HBD26 в патогенезе снижения мужской репродуктивной функции неустановленного генеза. Для достижения цели были исследованы уровни экспрессии генов *DEFB1* и *DEFB126* в клетках подвижной фракции эякулята пациентов с идиопатическим бесплодием и группы здоровых доноров, а также уровни концентрации белков HBD1, HBD26 в семенной жидкости указанных групп мужчин, изучена ассоциация этих показателей с показателем подвижности сперматозоидов испытуемых.

Отдельной задачей нашего исследования стало изучение ассоциации носительства неблагоприятного аллеля *del* гена *DEFB126* (rs11468374) с уровнем его экспрессии в сперматозоидах и концентрацией его белкового продукта в семенной жидкости пациентов с бесплодием.

Материал и методы

Пациенты. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом при ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пиро-

гова Минздрава России (протокол заседания № 192 от 27 января 2020 г.). В установленном порядке пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании и согласие на обработку персональных данных, после чего были получены образцы эякулята.

В исследование были включены 88 доноров эякулята. В основную группу вошли 65 пациентов с диагнозом «идиопатическое бесплодие» (средний возраст – $38,6 \pm 4,5$ года). Группу сравнения составили 23 здоровых донора эякулята репродуктивного возраста (средний возраст – $32,8 \pm 4,7$ года).

Критерии включения в основную группу: мужской фактор бесплодия неустановленного генеза, отсутствие инфекционных процессов со стороны урогенитального тракта, подписание информированного согласия на участие в исследовании, репродуктивный возраст участников исследования (28–45 лет).

Критерии исключения из основной группы: хронические заболевания и их обострения, гидроцеле, варикоцеле паховой грыжи и других заболеваний, негативно влияющих на репродуктивную функцию, установленный женский фактор бесплодия в паре, употребление алкоголя и курение.

В группу сравнения включали доноров с нормальными параметрами спермограммы, без нарушений со стороны репродуктивной системы, соматических заболеваний, обострения хронических заболеваний на момент участия в эксперименте.

Материал для исследования был получен из клиники репродуктивной медицины «ВитроКлиник» (руководитель сети центров репродукции, врач-репродуктолог, к.м.н. Базанов П.А.), где пациенты консультировались или участвовали в программах вспомогательных репродуктивных технологий по причине бесплодия.

Лабораторные исследования. Образцы спермы были получены на 2–6-й день воздержания. После разжижения эякулята проведена оценка параметров спермограммы: объем, концентрация (млн/мл), подвижность (%) и морфология сперматозоидов в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по исследованию и обработке эякулята [22]. Показатель подвижности сперматозоидов складывается из процентного количества клеток категории А, передвигающихся по поступательной траектории с высокой скоростью, и клеток категории Б, также двигающихся прямолинейно, но с меньшей скоростью, и в норме, согласно рекомендациям ВОЗ, этот показатель составляет 50 %. При снижении этого показателя < 40 % диагностировалась астенозооспермия [22].

Далее с использованием коммерческого набора SPERMGRAD™ (Vitrolife Sweden AB, Швеция) в соответствии с протоколом производителя методом центрифугирования эякулята в градиенте плотностей (45 и 90 % растворы SpermGrad) отделяли фракцию подвижных сперматозоидов от семенной жидкости, округлых клеток, лейкоцитов, дегенерирующих половых клеток и клеточного дебриса.

После определения параметров эякулята и выделения подвижной фракции сперматозоидов биоматериал в течение 1 ч транспортировали в лабораторию кафедры иммунологии МБФ, где из полученной фракции сперматозоидов выделяли нуклеиновые кислоты с использованием набора реактивов для выделения ДНК/РНК методом аффинной сорбции на частицах силикагеля «АмплиПРАИМ Рибо-сорб» («ИнтерЛабСервис», Россия) в соответствии с протоколом производителя. Полученные образцы хранили при -70°C .

Для исследования уровня экспрессии генов дефенинов проводили постановку реакции обратной транскрипции (ОТ) с использованием набора для ОТ («Синтол», Россия) для синтеза копий кДНК на основе выделенной матричной РНК. Затем полученную кДНК использовали в постановке полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Реакционную смесь готовили из реактивов «Набора для проведения ПЦР-РВ в присутствии интеркалирующего красителя SYBR Green I» («Синтол», Россия) согласно рекомендациям фирмы-производителя. ПЦР проводили в амплификаторе Rotor-Gene Q (QIAGEN Hiden, Германия). Необходимые для реакции праймеры были синтезированы фирмой «Синтол» (Россия). Последовательности праймеров представлены в табл. 1.

Экспрессию генов *DEFB1*, *DEFB126* оценивали по методу $2^{-\Delta\Delta C_t}$ относительно уровня экспрессии гена домашнего хозяйства β -актина *ACTB* [23, 24].

Концентрацию белка HBD1 в семенной жидкости оценивали с использованием коммерческого набора реагентов для количественного определения β -дефенина 1 методом твердофазного иммуноферментного анализа (HBD1 кат. № SEB373Hu, Cloud-Clone Corp., Houston, США; поставщик BioChemMack, Москва, Россия), концентрацию пептида HBD26 – с использованием коммерческого набора реагентов для количественного определения β -дефенина 126 методом твердофазного иммуноферментного анализа (HBD26 кат. № SEQ483Hu, Cloud-Clone Corp., Houston, США; поставщик BioChemMack, Москва, Россия). Анализ проводили в соответствии с методикой, описанной в инструкции. Результаты учитывали на микропланшетном фотометре Anthos 2020 (Biochrom, Великобритания) при длине волны 450 нм. Диапазон детекции концентрации для HBD1 составлял 0,312–20 нг/мл, минимальная определяемая концентрация для данного набора – $< 0,124$ нг/мл. Учитывая, что предполагаемая концентрация белка HBD1, согласно данным литературы, в образцах превышает 20 нг/мл, образцы предварительно были разведены в 20 раз [5].

Рис. 1. Экспрессия гена *DEFB1* в сперматозоидах мужчин с идиопатическим бесплодием и здоровых доноров

Здесь и на рис. 2–4: Гр.1 – пациенты с идиопатическим бесплодием с нормозооспермией или незначительной астенозооспермией (41–50 %); Гр.2 – пациенты с идиопатическим бесплодием с умеренно выраженной астенозооспермией (30–40 %); Гр.3 – пациенты с идиопатическим бесплодием с тяжелой степенью астенозооспермии (0–29 %).

Для HBD26, согласно инструкции производителя, диапазон детекции концентрации составил 7,8–500 пг/мл, минимальная определяемая концентрация составляет $< 3,0$ пг/мл. Образцы предварительно были разведены в 10 раз.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2016, STATISTICA 10.0 и GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, США). Исследуемые группы сравнивали с использованием непараметрического аналога дисперсионного анализа – критерия Краскела–Уоллиса и *U*-критерия Манна–Уитни. Уровень значимости принимали $p \leq 0,05$ [25].

Результаты

На первом этапе исследования были проанализированы показатели подвижности сперматозоидов пациентов с идиопатическим бесплодием ($n = 65$), по результатам этого анализа участники исследования были разделены на 3 подгруппы в зависимости от степени выраженности астенозооспермии:

Таблица 1. Последовательности праймеров для исследования экспрессии генов дефенинов *DEFB1*, *DEFB126*

Название гена	Прямая последовательность	Обратная последовательность
<i>DEFB1</i>	GCAGTGGAGGGCAATGTCTC	TTCCCTCTGTAACAGGTGCCTT
<i>DEFB126</i>	TTTCTGTGTCCAGACAAAGACTAC	GTAGGAGCCATCGAAGACATCG
<i>ACTB</i>	CACCATTGGCAATGAGCGGTTTC	AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT

Рис. 2. Экспрессия гена *DEFB126* в сперматозоидах мужчин с идиопатическим бесплодием и здоровых доноров

- 1) пациенты с нормозооспермией или с незначительно выраженной астенозооспермией ($n = 18$; 41–50 %);
- 2) пациенты с умеренно выраженной астенозооспермией ($n = 31$; 30–40 %);
- 3) пациенты с тяжелой степенью астенозооспермии ($n = 16$; 1–29 %).

Было показано, что подвижность сперматозоидов доноров здоровой группы ($n = 23$) достоверно выше

Рис. 4. Концентрации пептида HBD26 в семенной жидкости мужчин с идиопатическим бесплодием и здоровых доноров

Рис. 3. Концентрации пептида HBD1 в семенной жидкости мужчин с идиопатическим бесплодием и здоровых доноров

этого показателя среди пациентов с бесплодием 3-й подгруппы ($p < 0,001$).

Далее были исследованы уровни экспрессии генов *DEFB1* и *DEFB126* в сперматозоидах пациентов в соответствии с разделением их на подгруппы. Было продемонстрировано, что экспрессия гена *DEFB1* достоверно снижена в исследуемых подгруппах в сравнении со здоровыми донорами: в 1,8 раза в 1-й подгруппе ($p < 0,01$), в 3 раза во 2-й подгруппе ($p < 0,01$) и в 4,5 раза в 3-й подгруппе ($p < 0,001$) (рис. 1).

Достоверное снижение экспрессии гена *DEFB126* также было выявлено во всех исследуемых подгруппах: в 1-й подгруппе – в 3,76 раза ($p < 0,001$), во 2-й подгруппе – в 8,06 раза ($p < 0,0001$) и в 3-й подгруппе – в 15,37 раза ($p < 0,0001$) в сравнении с группой здоровых доноров (рис. 2).

На следующем этапе работы мы оценивали уровни пептидов HBD1 и HBD26 в семенной жидкости пациентов. Было выявлено, что концентрация пептида HBD1 снижается в 1,4 раза в 1-й подгруппе пациентов ($p < 0,01$), во 2-й подгруппе – в 1,69 раза ($p < 0,001$) и в 3-й подгруппе – в 2,7 раза ($p < 0,0001$) в сравнении с группой здоровых доноров (рис. 3).

При изучении концентрации β-дефензина HBD26 были получены следующие результаты: в 1-й подгруппе пациентов наблюдалось достоверное снижение в 1,75 раза ($p < 0,01$), во 2-й подгруппе – в 3,95 раза ($p < 0,001$) и в 3-й – в 13,83 раза ($p < 0,0001$) в сравнении с группой фертильных доноров (рис. 4).

Особую задачу нашего исследования представляло изучение ассоциации носительства неблагоприятного аллеля *del* гена *DEFB126* (rs11468374) с уровнем его экспрессии в сперматозоидах и концентрацией его белкового продукта в семенной жидкости у пациентов с бесплодием.

Таблица 2. Частоты распределения аллелей и генотипов полиморфного маркера rs11468374 гена *DEFB126* в обследуемых группах мужчин

Обследуемая группа	Аллель		Генотип					
	<i>wt</i>	<i>del</i>	<i>wt/wt</i>		<i>wt/del</i>		<i>del/del</i>	
	%	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Мужчины с бесплодием	52	48	14	21	39	60	12	19
Группа сравнения	82	17	15	65,2	8	34,8	0	0

Среди обследованных мужчин с идиопатическим бесплодием ($n = 65$) носителями мутантного аллеля в гетерозиготном состоянии (генотип *DEFB126 wt/del*) были 39 мужчин, в гомозиготном состоянии (*DEFB126 del/del*) – 12 мужчин, не выявлена мутация (*DEFB126 wt/wt*) у 14 пациентов. Среди доноров группы сравнения ($n = 23$) мутация в гетерозиготном состоянии выявлена у 8 мужчин, генотип дикого типа выявлен у 15 человек. Носителей мутации в гомозиготном положении (*DEFB126 del/del*) среди здоровых мужчин, участвовавших в исследовании, не обнаружено. Наблюдаемое распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера rs11468374 гена *DEFB126* среди обследованных соответствовало ожидаемому распределению Харди–Вайнберга ($\chi^2 = 2,62$; $p = 0,104$ в основной группе и $\chi^2 = 1,01$; $p = 0,31$ в группе сравнения). У пациентов с нарушением фертильной функции в сравнении с группой здоровых доноров частота встречаемости мутантного аллеля *del* в популяции возрастает в 2,8 раза – с 17 до 48 % (табл. 2). Носительство мутантного аллеля *del* статистически значимо ассоциировано с повышенным риском нарушения фертильной функции ($\chi^2 = 14,67$; $p < 0,001$; ОШ = 6,83; 95 % ДИ 2,409–19,366).

Также нами было показано, что носительство неблагоприятного аллеля *del* гена *DEFB126* достоверно ассоциировано со снижением концентрации дефенина в семенной жидкости пациентов с генотипом *DEFB126 wt/del* в 2,7 раза ($p < 0,0001$), а у пациентов с генотипом *DEFB126 del/del* – в 14,69 раза ($p < 0,0001$) в сравнении со здоровыми донорами эякулята, имеющими

генотип *DEFB126 wt/wt*. Примечательно, что у пациентов, не являющихся носителями мутации, снижены концентрации пептида в семенной жидкости в 2 раза ($p < 0,001$) в сравнении с донорами генотипа *DEFB126 wt/wt*. Также наблюдалась тенденция к снижению уровня концентрации пептида среди здоровых доноров с генотипом *DEFB126 wt/del*, разница со здоровыми донорами генотипа *DEFB126 wt/wt* составила 1,2 раза ($p < 0,08$) (рис. 5).

При изучении влияния мутации rs11468374 гена *HBD126* на уровень его экспрессии были получены следующие результаты. У мужчин – носителей мутации в гомозиготном положении (генотип *DEFB126 del/del*) экспрессия была снижена в 19,59 раза в сравнении со здоровыми донорами генотипа *DEFB126 wt/wt* ($p < 0,0001$). Также было выявлено, что экспрессия в группе пациентов с генотипом *DEFB126 wt/del* достоверно снижена в 4,76 раза в сравнении с донорами с генотипом *DEFB126 wt/wt* ($p < 0,0001$). Наблюдалась тенденция к снижению уровня экспрессии в группе здоровых доноров с генотипом *DEFB126 wt/del* в 1,3 раза ($p < 0,2$) в сравнении с донорами с генотипом *DEFB126 wt/wt*. В группе бесплодных пациентов с генотипом *DEFB126 wt/wt* уровень экспрессии гена *DEFB126* снижен в 3,24 раза в сравнении с группой здоровых мужчин с таким же генотипом ($p < 0,0001$) (рис. 6).

Обсуждение

Лечение и диагностика идиопатического бесплодия – крайне непростая задача вследствие неустанов-

Рис. 5. Концентрация пептида HBD26 в семенной жидкости пациентов с бесплодием и здоровых доноров в зависимости от генотипа

Рис. 6. Экспрессия гена *DEFB126* в сперматозоидах пациентов с бесплодием и здоровых доноров в зависимости от генотипа

ленной этиологии заболевания. Хотя развитие и применение вспомогательных репродуктивных технологий снижает количество бесплодных семей, эта проблема не теряет своей актуальности во всем мире [26].

Известно, что у мужчин с диагностированным идиопатическим бесплодием при обследовании не выявляются анатомические или функциональные патологии репродуктивной системы, однако в параметрах спермограммы наблюдаются отклонения от нормы [22]. К снижению мужской фертильной функции способно привести воздействие многочисленных факторов, в числе которых инфекционные процессы урогенитального тракта, образование антиспермальных аутоантител, травмы, гормональные или метаболические нарушения, онкологические заболевания, воздействие радиации, тепла или химических реагентов [27]. В последние годы появляется все больше работ, исследующих влияние факторов врожденного иммунитета на процессы репродукции [4–6].

Противомикробные пептиды представляют собой первую линию врожденной защиты организма, однако спектр выполняемых ими функций не ограничен борьбой с патогенами [28]. Проведены исследования на животных, демонстрирующие влияние β -дефензинов на функции сперматозоидов, однако подобные работы, касающиеся человека, на сегодняшний день довольно малочисленны [29, 30]. Перед нами стояла задача оценить влияние пептидов семейства β -дефензинов на фертильную функцию сперматозоидов мужчин с идиопатическим бесплодием.

В работе мы измеряли концентрации пептида HBD1 в группах пациентов с разными степенями тяжести астенозооспермии. Согласно полученным данным, у пациентов снижение концентрации HBD1 в семенной жидкости возрастает в зависимости от степени тяжести астенозооспермии (см. рис. 3). Аналогичные данные были получены в исследованиях зарубежных авторов: пациенты с олигоастенозооспермией и лейкоцитоспермией имели более низкие уровни концентрации пептида HBD1 в семенной жидкости по сравнению с пациентами с нормальными параметрами спермограммы [4, 5]. В совокупности эти данные подтверждают важное влияние β -дефензина HBD1 на подвижность сперматозоидов как основную характеристику их фертильной функции.

Нами впервые была оценена экспрессия гена *HBD1* в сперматозоидах мужчин с идиопатическим бесплодием. Было показано, что, как и концентрация пептида HBD1 в семенной жидкости, экспрессия его гена в сперматозоидах снижается тем сильнее, чем более выражена степень тяжести астенозооспермии (см. рис. 1, 3). Вероятным объяснением полученных результатов может служить тот факт, что молекулы HBD1 взаимодействуют с хемокиновым рецептором CCR6 и запускают мобилизацию ионов кальция, обеспечивая подвижность сперматозоидов [31].

Сперматозоиды млекопитающих покрыты тонким слоем гликокаликса, структура которого претерпевает изменения в ходе клеточного развития и созре-

вания [32]. Молекулы, входящие в его структуру, обеспечивают выживание, успешную миграцию и капацитацию сперматозоидов, а также защиту от патогенов и факторов иммунной системы женского репродуктивного тракта. Одним из наиболее значимых компонентов гликокаликса сперматозоидов является противомикробный пептид HBD26 [33]. Изучение ассоциации носительства неблагоприятного аллеля *del* гена *DEFB126* (rs11468374) с нарушением репродуктивной функции сперматозоидов стало особой задачей нашей работы.

В данной работе нами впервые проведено комплексное исследование роли противомикробного пептида HBD26 в патогенезе мужского бесплодия на 3 уровнях: на уровне структуры гена, на уровне его экспрессии и на уровне белковой молекулы пациентов с астенозооспермией. Показано, что по отношению к группе сравнения концентрация дефензина HBD26 снижается во всех исследуемых группах в зависимости от степени тяжести астенозооспермии (см. рис. 4). В ходе исследования мы также обнаружили достоверное снижение уровня экспрессии гена *DEFB126* во всех исследуемых группах пациентов (см. рис. 2).

В работах ряда исследователей обсуждается возможная роль β -дефензина HBD26 в развитии идиопатической формы мужского бесплодия [19]. Присутствие двунауклеотидной делеции во 2-м экзоне гена *DEFB126* (rs11468374) ведет к образованию молекул β -дефензина со значительно редуцированным количеством сайтов О-гликозилирования и, как следствие, к формированию дефектной структуры гликокаликса клеток [34]. Как сообщают в своей работе T.L. Tollner и соавт., мутантный аллель *del* гена *DEFB126* встречается с высокой частотой как в европейской (0,47), так и в китайской (0,45) популяциях [34].

В проведенном нами исследовании среди мужчин московской популяции частота встречаемости мутантного аллеля составила 0,48, что сопоставимо с частотой встречаемости этого аллеля в европейской популяции (см. табл. 2). Частота встречаемости мутантного гомозиготного генотипа *DEFB126 del/del* среди мужчин московской популяции в проведенной нами работе составила 0,19, такой же показатель был получен для британской и китайской популяций [34]. Во всех исследованных популяциях, в том числе в нашей работе, распределение аллелей гена *DEFB126* соответствует закону Харди–Вайнберга. Таким образом, можно сделать вывод о том, что мутация гена *DEFB126* является широко распространенным полиморфизмом в различных популяционных когортах. Вероятно, большое количество гетерозигот, несущих мутантный аллель, объясняет снижение уровней как экспрессии гена, так и концентрации этого β -дефензина в сперматозоидах и семенной жидкости. Также важно отметить, что в проведенном нами исследовании в группе здоровых доноров не обнаружено носителей генотипа *DEFB126 del/del*, а у носителей мутации в гетерозиготном положении подвижность сперматозоидов была ниже в сравнении с донорами с генотипом *DEFB126 wt/wt*. Это подтверж-

дает тот факт, что носительство мутантного аллеля ассоциировано с нарушением фертильной функции. Однако у пациентов с бесплодием, имеющих генотип *DEFB126 wt/wt*, также наблюдалось снижение как экспрессии гена в сперматозоидах, так и концентрации пептида HBD26 в семенной жидкости. Вероятно, имеют место дополнительные факторы, влияющие на экспрессию этого дефензина как на генетическом, так и на пептидном уровне, что требует последующего изучения.

Заключение

Проведенные на сегодняшний день исследования в области влияния β -дефензинов на фертильную функцию сперматозоидов значительно расширяют область наших знаний о роли врожденного иммунитета в процессах мужской репродукции. Разработан новый подход к оценке факторов врожденного иммунитета эякулята, который заключается в оценке экспрессии генов противомикробных пептидов β -дефензинов HBD1 и HBD26, экспрессирующихся на поверхности сперматозоидов,

и концентрации их белковых продуктов в семенной жидкости лиц с астенозооспермией, а также в определении полиморфного маркера rs11468374 гена *DEFB126*. Это даст возможность осуществлять диагностику и контроль проводимого лечения, а также выявить предрасположенность к снижению фертильной функции.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования – Ганковская Л.В., сбор и обработка материала – Хасанова Е.М., Греченко В.В.; статистическая обработка – Хасанова Е.М.; написание текста – Хасанова Е.М.; редактирование – Свитич О.А.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Центру высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (руководитель центра д-р биол. наук Ребриков Д.В.) за возможность использования молекулярно-генетических технологий.

Литература

- Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015; 13 (1): 37. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1>
- Voisin A., Saez F., Drevet J.R., Guiton R. The epididymal immune balance: a key to preserving male fertility. *Asian J. Androl.* 2019; 21 (6): 531–9. DOI: http://doi.org/10.4103/aja.aja_11_19
- Dorin J.R., Barratt C.L. Importance of β -defensins in sperm function. *Mol. Hum. Reprod.* 2014; 20 (9): 821–6. DOI: <http://doi.org/10.1093/molehr/gau050>
- Diao R., Fok K.L., Chen H. et al. Deficient human β -defensin 1 underlies male infertility associated with poor sperm motility and genital tract infection. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6 (249): 249ra108. DOI: <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009071> PMID: 25122636
- Zupin L., Polesello V., Martinelli M. et al. Human β -defensin 1 in follicular fluid and semen: impact on fertility. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36 (4): 787–97. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10815-019-01409-w> PMID: 30712073; PMCID: PMC6504998
- Бахарева И.В., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Свитич О.А., Романовская В.В., Кузнецов П.А., Магомедова А.М., Дворецкая Е.В. Прогностическое значение экспрессии генов молекул врожденного иммунитета (TLR2, TLR4 и HBD1) при невынашивании беременности. *Лечащий врач.* 2012; 9.
- Valore E.V., Park C.H., Quayle A.J., Wiles K.R., McCray P.B. Jr, Ganz T. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J. Clin. Invest.* 1998; 101 (8): 1633–42. DOI: <http://doi.org/10.1172/JCI1861> PMID: 9541493; PMCID: PMC508744
- Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011: 640 с.
- Мусин Х.Г. Антимикробные пептиды – потенциальная замена традиционным антибиотикам. *Инфекция и иммунитет.* 2018; 8 (3): 295–308. DOI: <http://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-295-308>
- Williams W.M., Torres S., Siedlak S.L. et al. Antimicrobial peptide β -defensin-1 expression is upregulated in Alzheimer's brain. *J. Neuroinflamm.* 2013; 10: 898. DOI: <http://doi.org/10.1186/1742-2094-10-127> PMID: 24139179; PMCID: PMC3817866
- Schneider J.J., Unholzer A., Schaller M., Schäfer-Korting M., Korting H.C. Human defensins. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2005; 83 (8): 587–95. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00109-005-0657-1> Epub 2005 Apr 9. PMID: 15821901
- Becknell B., Spencer J.D., Carpenter A.R. et al. Expression and antimicrobial function of beta-defensin 1 in the lower urinary tract. *PLoS One.* 2013; 8 (10): e77714. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0077714> PMID: 24204930; PMCID: PMC3804605
- Pazgier M., Hoover D.M., Yang D., Lu W., Lubkowski J. Human beta-defensins. *Cell. Mol. Life Sci.* 2006; 63 (11): 1294–313. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00018-005-5540-2> PMID: 16710608
- Коновалова М.В., Зубарева А.А., Луценко Г.В., Свищевская Е.В. Антимикробные пептиды в норме и при патологиях (ОБЗОР) // *Прикладная биохимия и микробиология* 2018; 3: 236–43.
- Yudin A. et al. Beta-defensin 22 is a major component of the mouse sperm glycocalyx. *Reproduction.* 2008; 136 (6): 753–65. DOI: <http://doi.org/10.1530/REP-08-0164>
- Yudin A.I. et al. ESP13.2, a member of the beta-defensin family, is a macaque sperm surface-coating protein involved in the capacitation process. *Biol. Reprod.* 2003; 69 (4): 1118–28. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.103.016105>
- Prado-Montes de Oca E. Human beta-defensin 1: a restless warrior against allergies, infections and cancer. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010; 42 (6): 800–4. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.01.021> PMID: 20100591
- Com E., Bourgeon F., Evrard B., Ganz T. et al. Expression of antimicrobial defensins in the male reproductive tract of rats, mice, and humans. *Biol. Reprod.* 2003; 68 (1): 95–104. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.102.005389> PMID: 12493700
- Tollner T.L., Bevins C.L., Cherr G.N. Multifunctional glycoprotein DEFB126 – a curious story of defensin-clad spermatozoa. *Nat. Rev. Urol.* 2012; 9 (7): 365–75. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrurol.2012.109> PMID: 22710670
- Boroujeni P.B., Ebrahimian S., Abedini M. et al. The role of DEFB126 variation in male infertility and assisted reproductive technique outcome. *Reprod. Biomed. Online.* 2019; 39 (4): 649–57. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.05.012> PMID: 31474436
- Curi S.M., Ariagno J.I., Chenlo P.H. et al. Asthenozoospermia: analysis of a large population. *Arch. Androl.* 2003; 49: 343–9. DOI: <http://doi.org/10.1080/01485010390219656>
- World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. World Health Organization, 2010.
- Меркушова Е.Д., Хасанова Е.М., Ганковская Л.В. Гиперэкспрессия генов инфламмосомного комплекса NLRP1 и цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-18 в биоптатах пораженной и непораженной кожи больных с псориазом. *Иммунология.* 2021; 42 (1): 21–8. DOI: <http://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-1-21-28>
- Ребриков Д.В., Саматов Г.А., Трофимов Д.Ю. и др. ПЦР «в реальном времени». Д.В. Ребриков (ред.). Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009: 215 с.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва : Практика, 1998: 459 с.

26. Лебедев Г.С., Голубев Н.А., Шадеркин И.А., Шадеркина В.А., Аполихин О.И., Сивков А.В., Комарова В.А. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000–2018 годы. Экспериментальная и клиническая урология. 2019; (4): 4–12.
 27. Matzuk M.M., Lamb D.J. The biology of infertility: research advances and clinical challenges. *Nat. Med.* 2008; 14 (11): 1197–213. DOI: <http://doi.org/10.1038/nm.f.1895> Epub 2008 Nov 6. PMID: 18989307; PMCID: PMC3786590.
 28. Semple F., Dorin J.R. Beta-defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? *J. Innate Immun.* 2012; 4 (4): 337–48. DOI: <http://doi.org/10.1159/000336619>
 29. Zhao Y., Diao H., Ni Z., et al. The epididymis-specific antimicrobial peptide b-defensin 15 is required for sperm motility and male fertility in the rat (*Rattus norvegicus*). *Cell. Mol. Life Sci.* 2011; 68 (4): 697–708. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00018-010-0478-4>
 30. Com E., Bourgeon F., Evrard B., et al. Expression of antimicrobial defensins in the male reproductive tract of rats, mice, and humans. *Biol. Reprod.* 2003; 68 (1): 95–104. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.102.005389> PMID: 12493700;
 31. Caballero-Campo P., Buffone M.G., Benencia F., Conejo-García J.R., Rinaudo P.F., Gerton G.L. A role for the chemokine receptor CCR6 in mammalian sperm motility and chemotaxis. *J. Cell. Physiol.* 2014; 229 (1): 68–78. DOI: <http://doi.org/10.1002/jcp.24418>
 32. Tecle E., Gagneux P. Sugar-coated sperm: unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx. *Mol. Reprod. Dev.* 2015; 82 (9): 635–50. DOI: <http://doi.org/10.1002/mrd.22500> PMID: 26061344; PMCID: PMC4744710.
 33. Tollner T.L., Yudin A.I., Treece C.A., Overstreet J.W., Cherr G.N. Macaque sperm coating protein DEFB126 facilitates sperm penetration of cervical mucus. *Hum. Reprod.* 2008; 23 (11): 2523–34. DOI: <http://doi.org/10.1093/humrep/den276> PMID: 18658160.
 34. Tollner T.L., Venners S.A., Hollox E.J., et al. A common mutation in the defensin DEFB126 causes impaired sperm function and subfertility. *Sci. Transl. Med.* 2011; 3 (92): 92ra65. DOI: <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002289>
-
- ## ■ References
1. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2015; 13 (1): 37. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1>
 2. Voisin A., Saez F., Drevet J.R., Guiton R. The epididymal immune balance: a key to preserving male fertility. *Asian J. Androl.* 2019; 21 (6): 531–9. DOI: http://doi.org/10.4103/aja.aja_11_19
 3. Dorin J.R., Barratt C.L. Importance of β -defensins in sperm function. *Mol. Hum. Reprod.* 2014; 20 (9): 821–6. DOI: <http://doi.org/10.1093/molehr/gau050>
 4. Diao R., Fok K.L., Chen H., et al. Deficient human β -defensin 1 underlies male infertility associated with poor sperm motility and genital tract infection. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6 (249): 249ra108. DOI: <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009071> PMID: 25122636;
 5. Zupin L., Polesello V., Martinelli M., et al. Human β -defensin 1 in follicular fluid and semen: impact on fertility. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36 (4): 787–97. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10815-019-01409-w> PMID: 30712073; PMCID: PMC6504998.
 6. Bakhareva I.V., Gankovskaya L.V., Koval'chuk L.V., Svitich O.A., Romanovskaya V.V., et al. The forecasting importance of the expression of the genes of the molecules of the innate immunity (TLR2, TLR4 and HBD1) with miscarriage of pregnancy. *Lechaschi Vrach.* 2012; 9. (in Russian)
 7. Valore E.V., Park C.H., Quayle A.J., Wiles K.R., McCray P.B. Jr, Ganz T. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J. Clin. Invest.* 1998; 101 (8): 1633–42. DOI: <http://doi.org/10.1172/JCI1861> PMID: 9541493; PMCID: PMC508744;
 8. Koval'chuk L.V., Gankovskaya L.V., Meshkova R.Ya. Clinical immunology and allergology with the basics of general immunology. Moscow: GEOTAR-Media, 2014: 640 p. (in Russian);
 9. Musin Kh.G. Antimicrobial peptides – a potential replacement for traditional antibiotics. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2018; 8 (3): 295–308. DOI: <http://doi.org/10.15789/2220-7619-2018-3-295-308> (in Russian)
 10. Williams W.M., Torres S., Siedlak S.L., et al. Antimicrobial peptide β -defensin-1 expression is upregulated in Alzheimer's brain. *J. Neuroinflamm.* 2013; 10: 898. DOI: <http://doi.org/10.1186/1742-2094-10-127> PMID: 24139179; PMCID: PMC3817866.
 11. Schneider J.J., Unholzer A., Schaller M., Schäfer-Korting M., Korting H.C. Human defensins. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2005; 83 (8): 587–95. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00109-005-0657-1> Epub 2005 Apr 9. PMID: 15821901.
 12. Becknell B., Spencer J.D., Carpenter A.R., et al. Expression and antimicrobial function of beta-defensin 1 in the lower urinary tract. *PLoS One.* 2013; 8 (10): e77714. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0077714> PMID: 24204930; PMCID: PMC3804605.
 13. Pazgier M., Hoover D.M., Yang D., Lu W., Lubkowski J. Human beta-defensins. *Cell. Mol. Life Sci.* 2006; 63 (11): 1294–313. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00018-005-5540-2> PMID: 16710608.
 14. Konovalova M.V., Lutsenko G.V., Svirshchevskaya E.V., Zubareva A.A. Antimicrobial peptides in health and disease (review). *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2018; 54 (3): 236–43. (in Russian)
 15. Yudin A., et al. Beta-defensin 22 is a major component of the mouse sperm glycocalyx. *Reproduction.* 2008; 136 (6): 753–65. DOI: <http://doi.org/10.1530/REP-08-0164>
 16. Yudin A.I., et al. ESP13.2, a member of the beta-defensin family, is a macaque sperm surface-coating protein involved in the capacitation process. *Biol. Reprod.* 2003; 69 (4): 1118–28. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.103.016105>
 17. Prado-Montes de Oca E. Human beta-defensin 1: a restless warrior against allergies, infections and cancer. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010; 42 (6): 800–4. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.01.021> PMID: 20100591.
 18. Com E., Bourgeon F., Evrard B., Ganz T., et al. Expression of antimicrobial defensins in the male reproductive tract of rats, mice, and humans. *Biol. Reprod.* 2003; 68 (1): 95–104. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.102.005389> PMID: 12493700.
 19. Tollner T.L., Bevins C.L., Cherr G.N. Multifunctional glycoprotein DEFB126 — a curious story of defensin-clad spermatozoa. *Nat. Rev. Urol.* 2012; 9 (7): 365–75. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrurol.2012.109> PMID: 22710670.
 20. Boroujeni P.B., Ebrahimian S., Abedini M., et al. The role of DEFB126 variation in male infertility and assisted reproductive technique outcome. *Reprod. Biomed. Online.* 2019; 39 (4): 649–57. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.05.012> PMID: 31474436.
 21. Curi S.M., Ariagno J.I., Chenlo P.H., et al. Asthenozoospermia: analysis of a large population. *Arch. Androl.* 2003; 49: 343–9. DOI: <http://doi.org/10.1080/01485010390219656>
 22. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. World Health Organization, 2010.
 23. Merkusheva E.D., Khasanova E.M., Gankovskaya L.V. Hyperexpression of NLRP1 inflammasome complex and cytokines IL-1 β , IL-18 genes in biopsies of lesion and healthy skin of patients with psoriasis. *Immunologiya.* 2021; 42 (1): 58–65. DOI: <http://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-1-21-28> (in Russian)
 24. Rebrikov D.V., Samatov G.A., Trofimov D.Yu., et al. «Real-time» PCR. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2009: 215 p. (in Russian)
 25. Glants S. Medical-Biological Statistics. Moscow: Praktika, 1998: 459 p. (in Russian)
 26. Lebedev G.S., Golubev N.A., Shaderkin I.A., Shaderkina V.A., Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Komarova V.A. Male infertility in the Russian Federation: statistical data for 2000–2018. *Experimental and clinical urology.* 2019; (4): 4–12. (in Russian)
 27. Matzuk M.M., Lamb D.J. The biology of infertility: research advances and clinical challenges. *Nat. Med.* 2008; 14 (11): 1197–213. DOI: <http://doi.org/10.1038/nm.f.1895> Epub 2008 Nov 6. PMID: 18989307; PMCID: PMC3786590.
 28. Semple F., Dorin J.R. Beta-defensins: multifunctional modulators of infection, inflammation and more? *J. Innate Immun.* 2012; 4 (4): 337–48. DOI: <http://doi.org/10.1159/000336619>
 29. Zhao Y., Diao H., Ni Z., et al. The epididymis-specific antimicrobial peptide b-defensin 15 is required for sperm motility and male fertility in the rat (*Rattus norvegicus*). *Cell. Mol. Life Sci.* 2011; 68 (4): 697–708. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00018-010-0478-4>
 30. Com E., Bourgeon F., Evrard B., et al. Expression of antimicrobial defensins in the male reproductive tract of rats, mice, and humans. *Biol. Reprod.* 2003; 68 (1): 95–104. DOI: <http://doi.org/10.1095/biolreprod.102.005389> PMID: 12493700;

31. Caballero-Campo P., Buffone M.G., Benencia F., Conejo-García J.R., Rinaudo P.F., Gerton G.L. A role for the chemokine receptor CCR6 in mammalian sperm motility and chemotaxis. *J. Cell. Physiol.* 2014; 229 (1): 68–78. DOI: <http://doi.org/10.1002/jcp.24418>

32. Tecle E., Gagneux P. Sugar-coated sperm: unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx. *Mol. Reprod. Dev.* 2015; 82 (9): 635–50. DOI: <http://doi.org/10.1002/mrd.22500> PMID: 26061344; PMCID: PMC4744710.

33. Tollner T.L., Yudin A.I., Treece C.A., Overstreet J.W., Cherr G.N. Macaque sperm coating protein DEFB126 facilitates sperm penetration of cervical mucus. *Hum. Reprod.* 2008; 23 (11): 2523–34. DOI: <http://doi.org/10.1093/humrep/den276> PMID: 18658160.

34. Tollner T.L., Venners S.A., Hollox E.J., et al. A common mutation in the defensin DEFB126 causes impaired sperm function and subfertility. *Sci. Transl. Med.* 2011; 3 (92): 92ra65. DOI: <http://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002289>

Сведения об авторах

Хасанова Елена Минсалимовна – аспирант, ассистент каф. иммунологии МБФ, мл. науч. сотр. лаб. экспериментальной онкологии ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: joimolino@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6735-4693>

Ганковская Людмила Викторовна – д-р мед. наук, проф., зав. каф. иммунологии МБФ ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: lygan@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0003-1271-3078>

Греченко Вячеслав Владимирович – канд. мед. наук, доцент каф. иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: v.grechenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2582-3372>

Свитич Оксана Анатольевна – член-корр. РАН, д-р мед. наук, проф., директор ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» Минобрнауки России; проф. каф. иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: svitichoa@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>

Authors' information

Elena M. Khasanova – PhD Student, Assistant of Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty, Junior Researcher of Experimental Oncology Lab., N.I. Pirogov RNRMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: joimolino@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6735-4693>

Lyudmila V. Gankovskaya – MD, PhD, Prof., Head of the Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty of N.I. Pirogov RNRMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: lygan@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0003-1271-3078>

Vyacheslav V. Grechenko – PhD, Associate Prof. of the Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty of N.I. Pirogov RNRMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: v.grechenko@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2582-3372>

Oxana A. Svitich – Corr. member of RAS, MD, PhD, Prof., Director of I.I. Mechnikov RIVS of the MSHE of Russia; Prof. of the Immunology Chair, Med.-Biol. Faculty of N.I. Pirogov RNRMU, MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: svitichoa@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>