На правах рукописи



Аракелян Нелли Арамовна

Молекулярно-генетические механизмы репродуктивного и пострепродуктивного старения и долголетия у плацентарных млекопитающих

1.5.7. Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Федеральная территория «Сириус»

2026

Работа выполнена в Научном центре генетики и наук о жизни Автономной некоммерческой образовательной организации высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус»»

Научный руководитель:
Рогаев Евгений Иванович, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, Автономная некоммерческая образовательная организация высшего образования «Научно-технологический университет «Сириус»»

Защита состоится «17» декабря 2026 г. в 11:00 на заседании диссертационного совета НТУ.1.5.7.33 в АНОО ВО «Университет «Сириус» по адресу: 354340, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте АНОО ВО «Университет «Сириус»: siriusuniversity.ru/sveden/science/obyavleniya-o-zashchitakh

Автореферат разослан «16» ноября 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук  Поценковская Э.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Продолжительность жизни и темпы старения значительно различаются между видами, что отражает разнообразие жизненных стратегий, сформировавшихся в ходе эволюции. Эти различия рассматриваются в контексте основных эволюционных теорий старения, в которых особое внимание уделяется связи между поддержанием жизнеспособности организма и размножением. Согласно этим представлениям, естественный отбор действует на признаки, определяющие как выживание, так и репродуктивный успех, а распределение ресурсов между размножением и поддержанием соматических функций рассматривается как один из факторов, влияющих на продолжительность жизни. Однако современные исследования показывают, что эта взаимосвязь значительно сложнее, чем простой компромисс между плодовитостью и долголетием, и обусловлена взаимодействием множества физиологических и молекулярных механизмов.

Формирование и длительное сохранение репродуктивной функции зависят от качества половых клеток, стабильности генома, нормального прохождения клеточного цикла и согласованной регуляции метаболических, клеточных и тканевых процессов. Многие из этих процессов одновременно имеют важное значение для поддержания жизнеспособности организма в целом. Экспериментальные исследования также показывают, что состояние репродуктивной системы может влиять на продолжительность жизни, а ряд механизмов регуляции старения участвует в поддержании качества половых клеток и репродуктивной функции. Таким образом, некоторые механизмы, участвующие в поддержании репродуктивной функции, могут быть одновременно связаны с поддержанием жизнеспособности и долголетия организма.

Несмотря на имеющиеся данные, остается открытым вопрос о молекулярно-генетической основе различий в продолжительности репродуктивного и пострепродуктивного периодов у млекопитающих. В частности, недостаточно изучены генетические факторы и биологические процессы, связанные с длительным сохранением репродуктивной функции и пострепродуктивным долголетием. Особую ценность для решения этой задачи представляют виды млекопитающих, различающиеся по репродуктивным признакам и продолжительности жизни. Сравнительное исследование таких видов позволяет выявлять генетические изменения, связанные с особенностями репродуктивной биологии, и получать представление о молекулярных основах различных репродуктивных стратегий.

Целью исследования является идентификация и сравнительный анализ молекулярно-генетических факторов, связанных с сохранением, регуляцией и нарушением репродуктивной функции, а также с пострепродуктивным долголетием у плацентарных млекопитающих.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Провести сравнительно-геномный анализ плацентарных млекопитающих (Placentalia) для выявления геномных регионов с признаками ускоренной эволюции у видов с длительным сохранением репродуктивной функции.
2. Выполнить полногеномный анализ самок соболя (*Martes zibellina*) с репродуктивным долголетием и высокой плодовитостью в сравнении с контрольными группами фермерских и диких самок.
3. Провести сравнительно-геномный анализ представителей семейства куньих (Mustelidae) для выявления геномных регионов с признаками ускоренной эволюции у видов с отложенной имплантацией эмбриона.
4. Провести сравнительно-геномный анализ зубатых китов (Odontoceti) для выявления геномных регионов с признаками ускоренной эволюции у видов с продолжительным пострепродуктивным периодом.
5. Провести поиск и аннотацию редких генетических вариантов у женщин с нарушениями репродуктивной функции.

Научная новизна исследования

В работе впервые получены комплексные данные о геномных особенностях млекопитающих, включая человека, характеризующихся различной продолжительностью репродуктивного и пострепродуктивного периодов, а также другими особенностями репродуктивной биологии. У филогенетически удаленных видов плацентарных млекопитающих с длительным сохранением репродуктивной функции впервые выявлены общие консервативные геномные регионы с признаками ускоренной эволюции. Впервые проведен популяционно-геномный анализ самок соболя с повышенной плодовитостью и сохранением репродуктивной функции в позднем возрасте в сравнении с контрольными группами фермерских и диких самок и выявлены геномные регионы с признаками отбора и генетические варианты, различающиеся по встречаемости между группами. У представителей семейства куньих с отложенной имплантацией впервые выявлены общие геномные регионы с признаками ускоренной эволюции. У женщины с нарушением репродуктивной функции выявлен и охарактеризован редкий миссенс-вариант в гене *ZP4* p.(Leu342Pro). У представителей парвотряда зубатых китов с продолжительным пострепродуктивным периодом впервые выявлены общие геномные регионы с признаками ускоренной эволюции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты расширяют представления о молекулярно-генетических основах репродуктивного и пострепродуктивного долголетия у плацентарных млекопитающих. Сопоставление данных о длительном сохранении и регуляции репродуктивной функции, о ее генетически обусловленных нарушениях, а также о пострепродуктивном долголетии позволяет рассматривать эти явления в рамках общей проблемы взаимосвязи репродуктивного и соматического старения. Кандидатные генетические варианты, обнаруженные у соболей, представляют интерес для дальнейшего изучения репродуктивного долголетия и практического использования в селекционной работе. Результаты исследования редких кандидатных вариантов, выявленных у женщин с нарушениями функции ооцитов, могут быть использованы при интерпретации результатов молекулярно-генетической диагностики женского бесплодия.

Методология и методы исследования

Для достижения цели исследования и решения поставленных задач был использован комплекс современных молекулярно-генетических, популяционно-генетических и биоинформатических методов. В работе использовали полногеномное секвенирование и секвенирование по Сэнгеру, анализ генетических вариантов, анализ популяционной структуры с помощью ADMIXTURE и метода главных компонент, оценку межгрупповой генетической дифференциации (F_{ST}) и нуклеотидного разнообразия (π), сравнительно-геномный анализ эволюционно консервативных и ускоренных регионов, функциональную и регуляторную аннотацию, статистический анализ и *in silico* оценку функциональной значимости генетических вариантов.

Положения, выносимые на защиту

1. Куньи (Mustelidae) с отложенной имплантацией эмбриона характеризуются общими геномными регионами с признаками ускоренной эволюции.
2. Фермерские самки соболя (*Martes zibellina*, Mustelidae) с репродуктивным долголетием и высокой плодовитостью отличаются от контрольных фермерских самок по наличию миссенс-вариантов в генах *ASPM* и *VGLL4*, функции которых связаны с регуляцией репродуктивных процессов.
3. Для групп плацентарных млекопитающих, характеризующихся повышенной продолжительностью репродуктивного или пострепродуктивного периодов, выявлены общие внутри каждой группы геномные регионы с признаками ускоренной эволюции.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием современных молекулярно-генетических, сравнительно-геномных, популяционно-генетических, биоинформатических и статистических методов исследования, контролем качества исходных данных, применением соответствующих методов статистической оценки, использованием сравнительных групп и сопоставлением результатов с внешними генетическими и функциональными данными.

Результаты диссертационной работы были представлены на шести научных конференциях и форумах: XV Международной конференции мКАРМ «Краеугольные аспекты репродуктивной медицины» (Москва, 2023), XXXIII Ежегодной международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (Нижний Новгород, 2023), Международной конференции мКАРМ «Краеугольные аспекты репродуктивной медицины» (Москва, 2025), XV Международной мультиконференции «Биоинформатика регуляции и структуры геномов / системная биология» (BGRS/SB-2026, Новосибирск, 2026), Международной научной конференции молодых ученых OpenBio-2026 (Кольцово, 2026) и II Форуме генетических технологий «Сириус. ТехноГенетика» (Сириус, 2026).

Личный вклад автора

Основная часть представленных в диссертации исследований выполнена автором самостоятельно. Автором проведен сравнительно-геномный анализ эволюционно ускоренных регионов, связанных с репродуктивным долголетием у плацентарных млекопитающих, отложенной имплантацией у куньих и длительным пострепродуктивным периодом у зубатых китов, а также выполнены функциональная аннотация и биологическая интерпретация результатов. Проведено полногеномное секвенирование самок соболя с репродуктивным долголетием и женщины с нарушением функции ооцитов, выполнены биоинформатический анализ данных и интерпретация выявленных вариантов. Автором также выполнен интегративный анализ результатов исследований и внесен непосредственный вклад в подготовку научных публикаций по теме диссертации.

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов и заключения. Работа изложена на 150 страницах, содержит 39 рисунков, 3 таблицы и 8 приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В соответствии с поставленными задачами исследование проводили по пяти основным направлениям (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Общий дизайн исследования молекулярно-генетических механизмов репродуктивного и пострепродуктивного долголетия у млекопитающих

Первое направление было посвящено исследованию длительного сохранения репродуктивной функции у представителей отрядов приматов, хищных и китопарнокопытных. Сравнительно-геномный анализ проводили путем сопоставления видов, различающихся по возрастной динамике репродуктивной функции. Второе направление включало полногеномный анализ самок соболя с репродуктивным долголетием и высокой плодовитостью в сравнении с контрольными группами. Третье направление было посвящено исследованию регуляции сроков репродуктивного процесса на примере отложенной имплантации. Представителей семейства куньих с отложенной имплантацией сравнивали с видами отряда хищных без данного фенотипа. В четвертом направлении исследовали пострепродуктивное долголетие путем сравнительно-геномного анализа видов зубатых китов с продолжительным пострепродуктивным периодом и видов, для которых наличие такого периода не установлено. Пятое направление было посвящено изучению генетических факторов репродуктивных нарушений и включало молекулярно-генетический анализ клинических случаев нарушения созревания ооцитов и формирования блестящей оболочки у человека. На заключительном этапе дополнительно проводили сопоставление результатов геномных исследований на уровне генов, биологических процессов и молекулярных путей. Также оценивали представленность генов, в которых у женщин с

нарушениями репродуктивной функции выявлены кандидатные варианты, среди генов, идентифицированных в рамках других направлений исследования.

3.1. Эволюционно ускоренные геномные регионы у плацентарных млекопитающих (Placentalia) с длительным сохранением репродуктивной функции

Для трех межвидовых сравнительно-геномных исследований, выполненных в рамках настоящей работы, использовали единую схему выявления эволюционно ускоренных геномных регионов (Рисунок 2). Исходными данными служило множественное выравнивание 470 геномов млекопитающих, доступное в UCSC Genome Browser в координатах референсной сборки генома человека GRCh38/hg38. В соответствии с рассматриваемым фенотипом виды разделяли на исследуемую и фоновую группы. Консервативные геномные элементы выявляли по последовательностям фоновых видов с помощью программы phastCons. В дальнейший анализ включали элементы длиной не менее 50 п. н. Скорость нуклеотидных замен оценивали отдельно для каждого исследуемого вида с использованием RPHAST. Ускорение эволюции оценивали относительно ожидаемой скорости нуклеотидных замен, рассчитанной на основе филогенетической модели с учетом родственных связей видов и длин ветвей дерева. Эволюционно ускоренными считали регионы, для которых было выявлено статистически значимое ускорение эволюции при уровне ложных открытий (False Discovery Rate, FDR) не более 5 % (Рисунок 2).

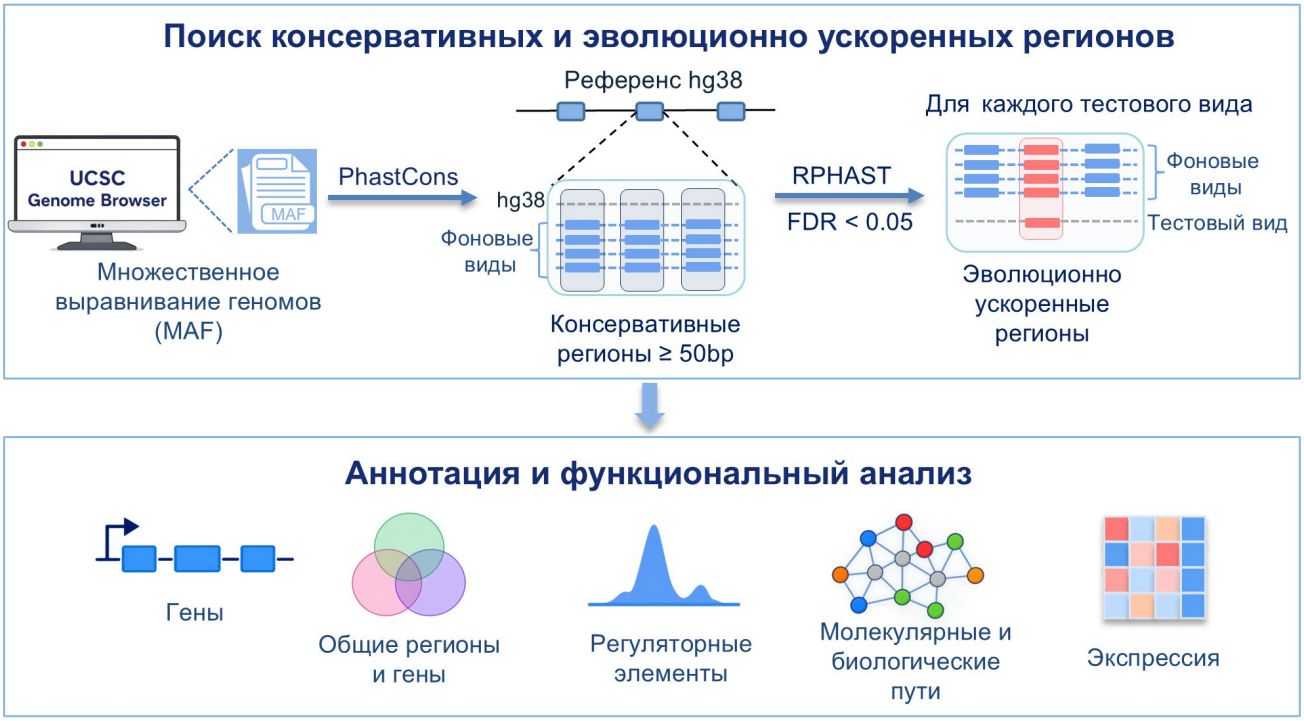


Рисунок 2 – Дизайн сравнительно-геномного анализа для идентификации эволюционно ускоренных регионов и их функциональной характеристики

Для снижения влияния возможных артефактов выравнивания проводили дополнительный контроль качества выявленных геномных регионов с исключением потенциально проблемных участков.

Для исследования длительного сохранения репродуктивной функции сравнивали виды плацентарных млекопитающих с поздним началом репродуктивного старения или его слабо выраженными признаками и виды с выраженным возрастным снижением репродуктивной функции. В исследуемую группу вошли шесть видов: панамский белолицый капуцин (*Cebus capucinus imitator*), белохвостый олень (*Odocoileus virginianus*), полосатый мангуст (*Mungos mungo*), пятнистая гиена (*Crocuta crocuta*), северный морской слон (*Mirounga angustirostris*) и финвал (*Balaenoptera physalus*). Фоновую группу составили восемь видов, характеризующихся возрастным снижением репродуктивных показателей самок и отобранных с учетом филогенетического родства с видами исследуемой группы (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Филогенетическое дерево исследованных видов плацентарных млекопитающих. Розовым цветом выделены виды тестовой группы с длительным сохранением репродуктивной функции, голубым – виды фоновой группы

По последовательностям восьми видов фоновой группы было определено 1 409 178 консервативных аутосомных регионов длиной не менее 50 п. н. Далее для каждого из шести исследуемых видов оценивали наличие признаков ускоренной эволюции этих регионов. Количество эволюционно ускоренных регионов у отдельных видов варьировало от 7 750 до 13 354.

При сопоставлении геномных координат было обнаружено 150 эволюционно ускоренных регионов (ЭУР), общих как минимум для трех из шести исследуемых видов. Для этих 150 регионов определяли гены, с которыми они непосредственно перекрывались, а также гены, в предполагаемых регуляторных областях которых они расположены. Границы регуляторных областей определяли с учетом расположения сайтов начала транскрипции соседних генов. В первом случае было выявлено 63 гена, во втором – 250 генов.

Дополнительно определяли общие для исследуемых видов гены, учитывая расположение ЭУР в пределах генов и их предполагаемых регуляторных областей независимо от совпадения координат самих ЭУР. В результате было выявлено 149 генов, в пределах которых ЭУР присутствовали у всех шести исследуемых видов, и 960 генов, в предполагаемых регуляторных областях которых ЭУР были обнаружены у каждого из шести видов (Рисунок 4). Функциональный анализ генов, общих для всех шести исследуемых видов, показал обогащение категориями генной онтологии (GO), связанными с развитием нервной системы, репродуктивными и эндокринными процессами.

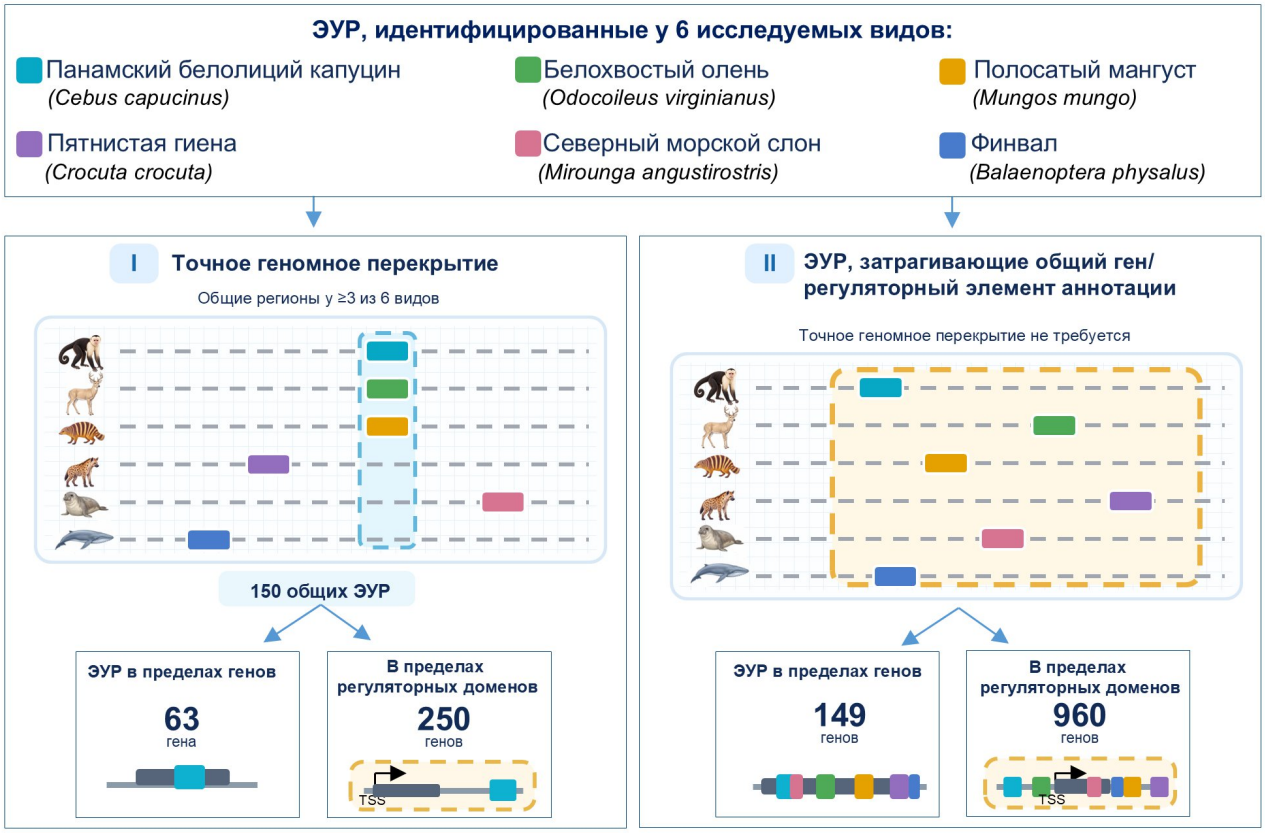


Рисунок 4 – Схематическое представление двух подходов к определению генов с эволюционно ускоренными регионами. I – сопоставление ЭУР, общих по геномным координатам не менее чем для трех из шести исследуемых видов. II – сопоставление на уровне генов независимо от совпадения координат ЭУР у разных видов. Цветами обозначены исследуемые виды. Расположение ЭУР показано условно

Среди выявленных генов особый интерес представляли *ZBTB20*, *FANCL* и *ZFHX3*, участвующие в нейроэндокринной регуляции, репарации ДНК и мейотическом созревании ооцитов соответственно. В пределах гена *ZBTB20* ЭУР обнаружены у всех шести видов, в том числе регионы с совпадающими геномными координатами не менее чем у трех видов, а в предполагаемых регуляторных областях *FANCL* и *ZFHX3* выявлено не менее пяти ЭУР у каждого вида.

Таким образом, сравнительно-геномный анализ позволил выявить гены, участвующие в регуляции репродуктивной функции и потенциально значимые для ее длительного сохранения.

3.2. Генетические факторы репродуктивного долголетия у соболя (*Martes zibellina*)

Для поиска генетических факторов, связанных с длительным сохранением репродуктивной функции и высокой плодовитостью, были проанализированы данные полногеномного секвенирования 53 соболей (*Martes zibellina*). В выборку вошли 32 животных из природных популяций (далее – дикие) и 21 соболь клеточного разведения из зверохозяйств (далее – фермерские). Среди фермерских животных были восемь самок, у которых, по данным многолетних наблюдений, продолжительность репродуктивного периода составляла от 8 до 19 лет, а средний размер помета – около четырех щенков. Для выявления генетических особенностей, связанных с изучаемым фенотипом, сравнивали геномы восьми самок с репродуктивным долголетием и семи самок контрольной фермерской группы. Дополнительное сравнение проводили с 17 самками из природных популяций.

Для оценки генетической структуры исследуемых животных проанализировали 487 768 несцепленных однонуклеотидных вариантов (ОНВ). Анализ методом главных компонент (PCA) показал, что самки с репродуктивным долголетием располагались вблизи остальных фермерских соболей и не образовывали отдельного кластера.

Для поиска геномных регионов, потенциально связанных с репродуктивным долголетием и плодовитостью, использовали показатели межгрупповой генетической дифференциации (F_{ST}) и нуклеотидного разнообразия (π). Анализ проводили в скользящих окнах размером 50 тыс. п. н. с шагом 25 тыс. п.н. В качестве кандидатных рассматривали геномные окна, в которых повышенная дифференциация между группами сочеталась со сниженным нуклеотидным разнообразием у исследуемых самок. В результате сравнения с контрольными фермерскими самками было выделено 1166 кандидатных геномных регионов, в пределах которых выявлено 419 генов. При дополнительном сравнении с дикими самками было выявлено 1054 кандидатных региона, связанных с 281 геном.

При сопоставлении двух наборов генов было выявлено 73 гена, общих для обоих сравнений. На основании литературных данных среди выявленных генов были выделены кандидаты, участвующие в поддержании овариального резерва, мейотическом созревании ооцитов, репарации ДНК и процессах старения. Так, *SYCP2L* участвует в поддержании запаса примордиальных ооцитов, *PALB2* – в репарации двунитевых разрывов ДНК, *PLK1* является одним из ключевых регуляторов мейотического созревания ооцитов, а *CXCR4* участвует в регуляции перехода примордиальных фолликулов к росту. Отдельного внимания заслуживает

ген *ELOVL2*, изменения метилирования которого с возрастом являются одним из наиболее воспроизводимых молекулярных маркеров старения.

На следующем этапе исследования был проведен полногеномный поиск кандидатных однонуклеотидных вариантов, потенциально связанных с репродуктивным долголетием и высокой плодовитостью у соболя. Отбирали варианты, альтернативный аллель которых присутствовал не менее чем у шести из восьми самок с репродуктивным долголетием, тогда как не менее пяти из семи контрольных самок были гомозиготны по референсному аллелю. Заданным критериям соответствовали 89 804 однонуклеотидных варианта. Из них 657 локализовались в кодирующих последовательностях генов, включая 220 миссенс-вариантов (Рисунок 5).

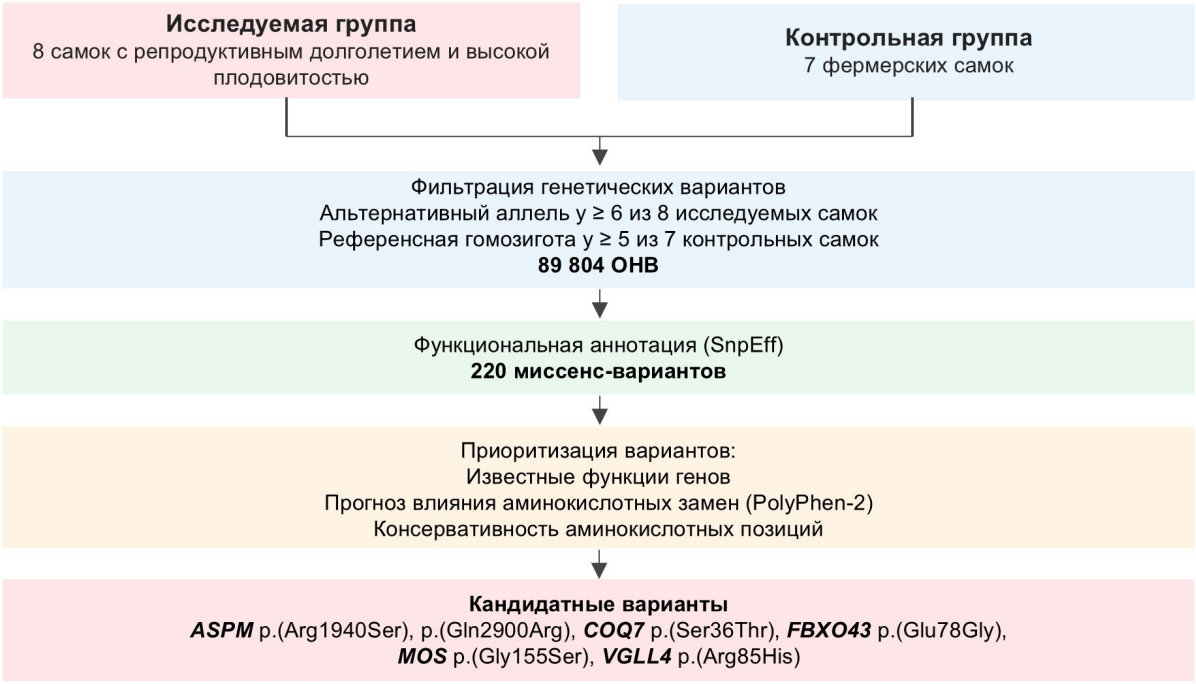


Рисунок 5 – Схема отбора и функциональной характеристики кандидатных миссенс-вариантов, потенциально связанных с репродуктивным долголетием у соболя

С учетом известных функций генов, результатов прогнозирования функциональных последствий аминокислотных замен с помощью PolyPhen-2 и эволюционной консервативности аминокислотных позиций были выделены варианты в генах *ASPM* p.(Arg1940Ser) и p.(Gln2900Arg), *MOS* p.(Gly155Ser), *VGLL4* p.(Arg85His), *COQ7* p.(Ser36Thr) и *FBXO43* p.(Glu78Gly).

Для миссенс-вариантов в генах *ASPM*, *COQ7* и *VGLL4* у исследуемых самок наблюдались более высокие частоты альтернативных аллелей по сравнению с обеими группами сравнения. При этом альтернативные аллели рассматриваемых вариантов в генах *ASPM* и *VGLL4* у контрольных фермерских самок не выявлены. Затронутые аминокислотные позиции характеризовались высокой эволюционной консервативностью (Рисунок 6).

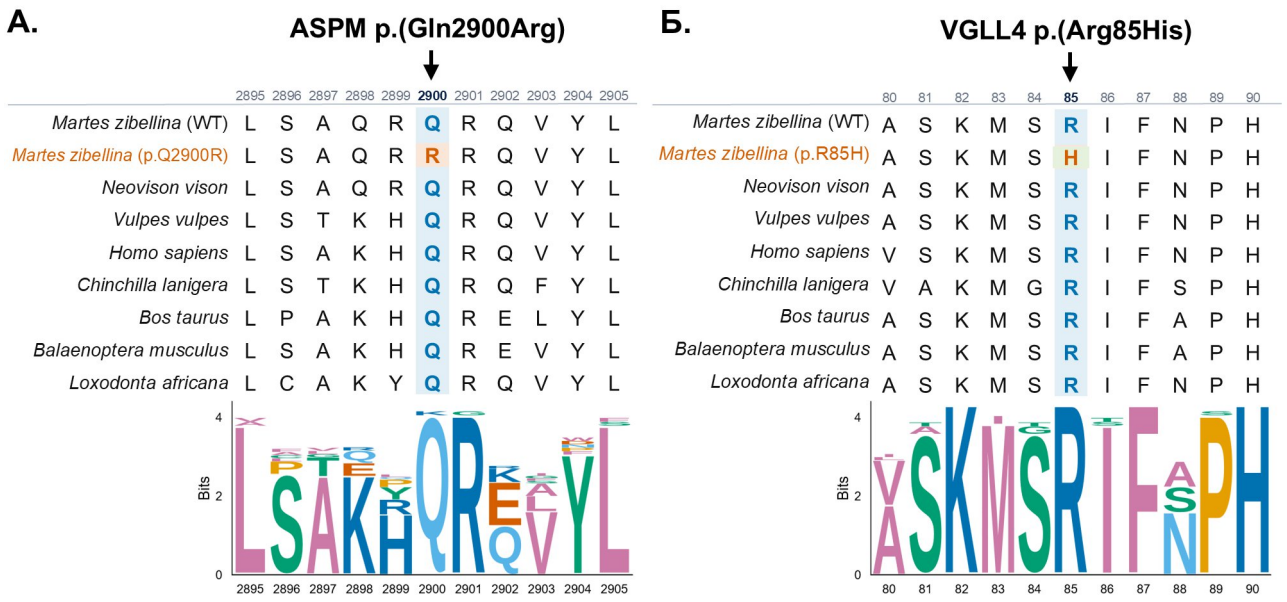


Рисунок 6 – Эволюционная консервативность аминокислотных позиций вариантов ASPM p.(Gln2900Arg) (А) и VGLL4 p.(Arg85His) (Б). Представлены фрагменты множественного выравнивания белковых последовательностей млекопитающих и соответствующие логотипы последовательностей. Стрелками обозначены позиции аминокислотных замен.

Дополнительное сопоставление геномных координат приоритетных миссенс-вариантов и кандидатных регионов отбора показало, что варианты *COQ7* p.(Ser36Thr) и *VGLL4* p.(Arg85His) локализованы в пределах регионов с признаками отбора.

Таким образом, проведенный анализ позволил выделить кандидатные гены и генетические варианты, потенциально значимые для длительного сохранения репродуктивной функции у соболя.

3.3. Эволюционно-генетические механизмы отложенной имплантации у куньих (Mustelidae)

Для исследования молекулярно-генетических особенностей отложенной имплантации сравнивали представителей отряда Хищные (*Carnivora*) с наличием и отсутствием этого репродуктивного механизма. В исследуемую группу включили пять представителей семейства Куньи (Mustelidae) с отложенной имплантацией: соболя (*Martes zibellina*), канадскую выдру (*Lontra canadensis*), северного калана (*Enhydra lutris kenyoni*), горностая (*Mustela erminea*) и американскую норку (*Neovison vison*). Фоновую группу составили 32 вида отряда Хищные, включая четырех представителей семейства Куньи без отложенной имплантации.

По последовательностям фоновых видов было определено 1 406 990 консервативных аутосомных регионов длиной не менее 50 п. н. Число выявленных ЭУР у отдельных исследуемых видов варьировало от 3544 до 6037. При сопоставлении геномных координат выявлено 59 ЭУР, общих не менее чем для трех из пяти исследуемых видов. Дополнительно было выявлено 665

генов, в предполагаемых регуляторных областях которых ЭУР присутствовали у всех пяти видов независимо от совпадения геномных координат. Функциональный анализ этих генов показал обогащение категориями GO, связанными с эмбриональным развитием, клеточной адгезией, развитием репродуктивной системы и сигнальными путями WNT и Hippo.

Среди генов, выявленных при аннотации общих ЭУР, особый интерес представляли *MTNR1B*, связанный с мелатониновой регуляцией, *CALCRL*, *DKK2* и *PRKG1*, участвующие в подготовке эндометрия к имплантации, а также *BMP2K*, потенциально значимый для раннего эмбрионального развития.

Для дополнительной приоритизации кандидатных генов результаты сравнительно-геномного анализа сопоставили с опубликованными транскриптомными данными матки и яичников американской норки в период задержки имплантации и после возобновления развития бластоцисты**.** Среди генов-кандидатов с дифференциальной экспрессией особый интерес представляли *FZD3, VIPR2, ORC4, TPST1* и *NR5A2*, функции которых связаны с регуляцией репродуктивного цикла, ранним эмбриональным развитием и имплантацией (Рисунок 7).

Таким образом, сравнительно-геномный анализ куньих позволил выделить гены-кандидаты, потенциально значимые для регуляции отложенной имплантации.

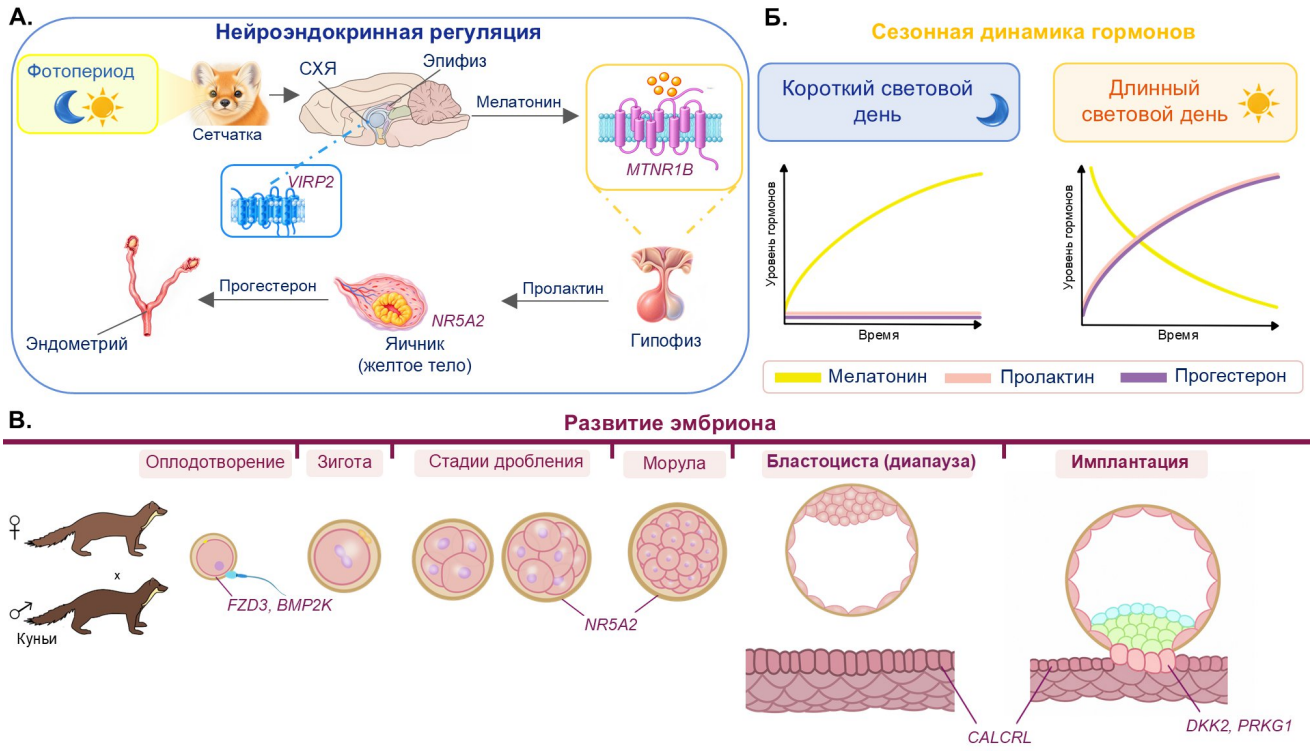


Рисунок 7 – Схематическое представление механизмов регуляции эмбриональной диапаузы и имплантации у куньих и предполагаемой функциональной связи выявленных кандидатных генов с нейроэндокринной регуляцией, ранним эмбриональным развитием и имплантацией: А – нейроэндокринная регуляция репродуктивного цикла; Б – сезонная динамика уровней мелатонина, пролактина и прогестерона при различной продолжительности светового дня; В – основные этапы раннего эмбрионального развития и имплантации с указанием кандидатных генов, связанных с выявленными эволюционно ускоренными регионами

3.4. Молекулярно-генетические причины нарушений репродуктивной функции при патологии ооцитов у человека

В рамках клинико-генетического исследования было проведено полногеномное секвенирование двух женщин с первичным бесплодием, у одной из которых наблюдалась полная остановка созревания ооцитов на стадии метафазы I, а у другой – аномальная морфология блестящей оболочки ооцитов. Средняя глубина покрытия составила 19,78× и около 19× соответственно. Для дальнейшего анализа отбирали варианты в кодирующих последовательностях генов с частотой альтернативного аллеля менее 1 % по данным базы gnomAD. При приоритизации миссенс-вариантов учитывали прогнозы их функциональных последствий по SIFT и PolyPhen-2, эволюционную консервативность аминокислотных позиций и известные функции генов.

При анализе генома женщины с остановкой созревания ооцитов были отобраны семь миссенс-вариантов в семи генах. Наибольший интерес представлял редкий гетерозиготный миссенс-вариант c.527C>T в гене *TUBB8*, приводящий к аминокислотной замене p.(Ser176Leu) в консервативном ГТФазном домене β-тубулина. Аминокислотный остаток Ser176 расположен в области взаимодействия тубулиновых гетеродимеров, что позволяет предположить негативное влияние выявленной замены на сборку микротрубочек, необходимых для формирования мейотического веретена. Секвенирование по Сэнгеру подтвердило наследование варианта от отца (Рисунок 8).

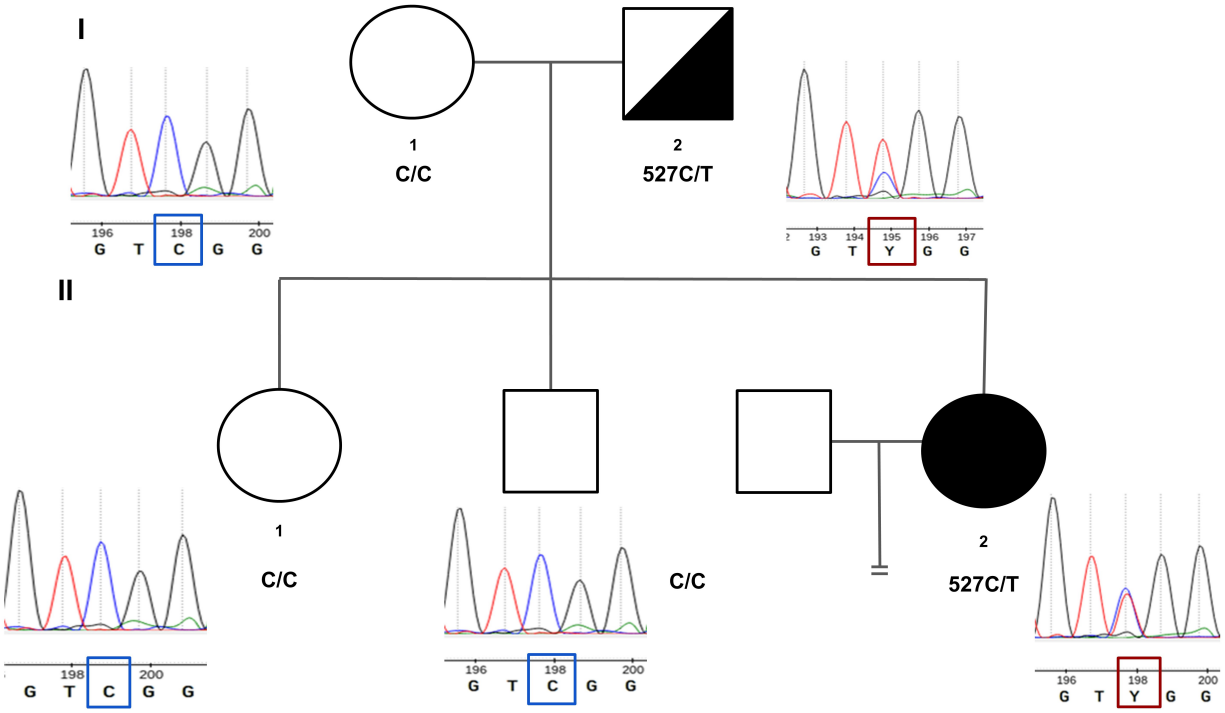


Рисунок 8 – Результаты секвенирования по Сэнгеру пробанда и членов ее семьи для варианта *TUBB8* c.527C>T

Отсутствие клинических проявлений у отца согласуется с особенностями экспрессии *TUBB8*, характерной для ооцитов и ранних эмбрионов, но не для мужских половых клеток. Совокупность клинических и молекулярно-генетических данных позволила рассматривать выявленный вариант как наиболее вероятную генетическую причину наблюдаемого нарушения созревания ооцитов.

У женщины с аномальной морфологией блестящей оболочки ооцитов был выявлен крайне редкий гетерозиготный миссенс-вариант c.1025T>C в гене *ZP4*, приводящий к аминокислотной замене p.(Leu342Pro) с прогнозируемым повреждающим действием. Аминокислотная замена затрагивает эволюционно консервативную позицию ZP-C-субдомена белка, участвующего в формировании фибриллярного матрикса блестящей оболочки ооцита. Сравнение пространственных структур референсного белка и белка с аминокислотной заменой, предсказанных с помощью AlphaFold 3, выявило локальные структурные различия (Рисунок 9). Полученные данные позволяют рассматривать выявленный вариант как возможный генетический фактор нарушения структуры блестящей оболочки ооцитов.

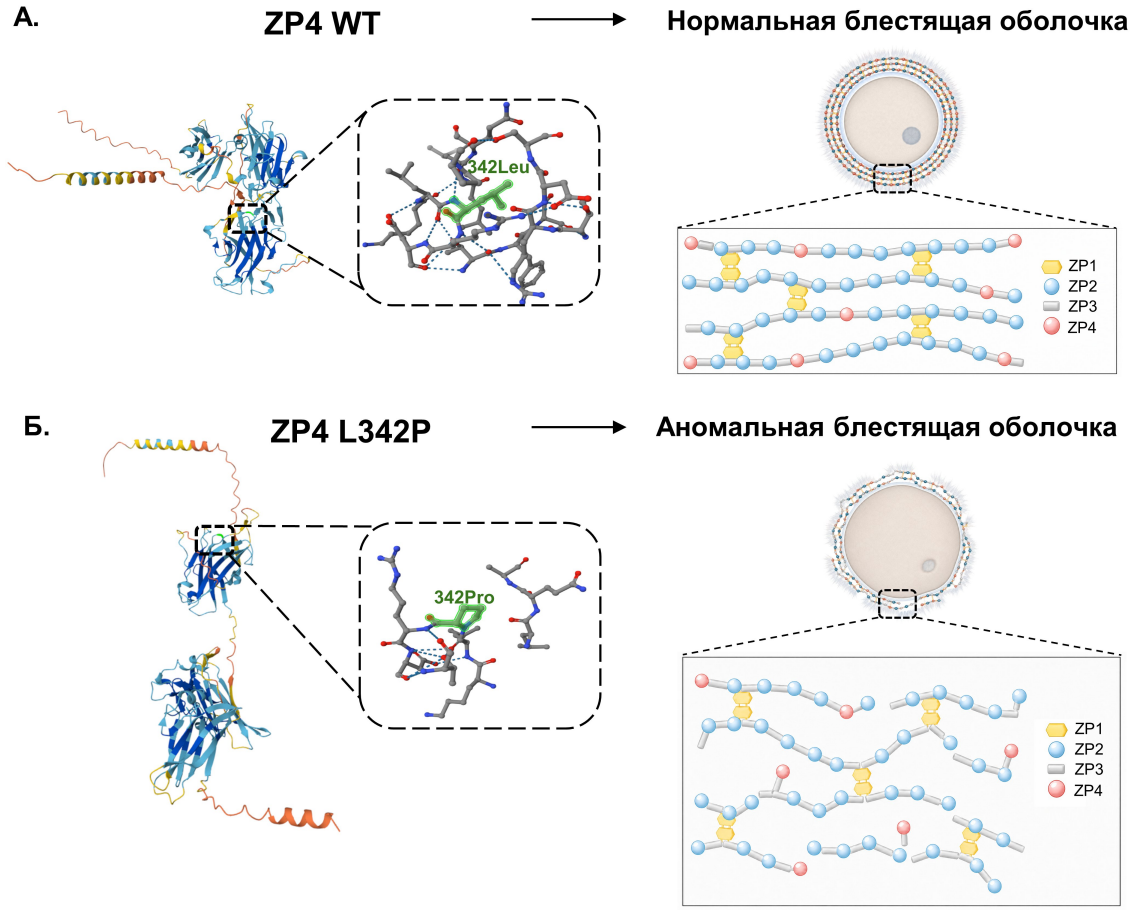


Рисунок 9 – Предполагаемое влияние аминокислотной замены p.(Leu342Pro) на пространственную структуру белка ZP4 по результатам моделирования с использованием AlphaFold 3. А – пространственная структура белка ZP4 дикого типа (WT) и схематическое изображение нормальной организации блестящей оболочки ооцита; Б – пространственная структура белка ZP4 с заменой p.(Leu342Pro) и схематическое изображение предполагаемого нарушения организации блестящей оболочки. Пунктирными рамками выделены локальное

окружение аминокислотного остатка в положении 342 и участки структуры блестящей оболочки

3.5. Эволюционно-генетические механизмы пострепродуктивного долголетия у зубатых китов (*Odontoceti*)

Для выявления молекулярно-генетических факторов, связанных с пострепродуктивным долголетием, были проанализированы косатка (*Orcinus orca*), нарвал (*Monodon monoceros*) и белуха (*Delphinapterus leucas*) – три вида зубатых китов, для которых наличие менопаузы и продолжительного пострепродуктивного периода подтверждено демографическими данными. В качестве фоновой группы использовали шесть видов зубатых китов, у которых наличие такого периода не установлено.

В геномах фоновых видов было определено 1 005 583 эволюционно консервативных аутосомных региона длиной не менее 50 п. н. (Рисунок 10).

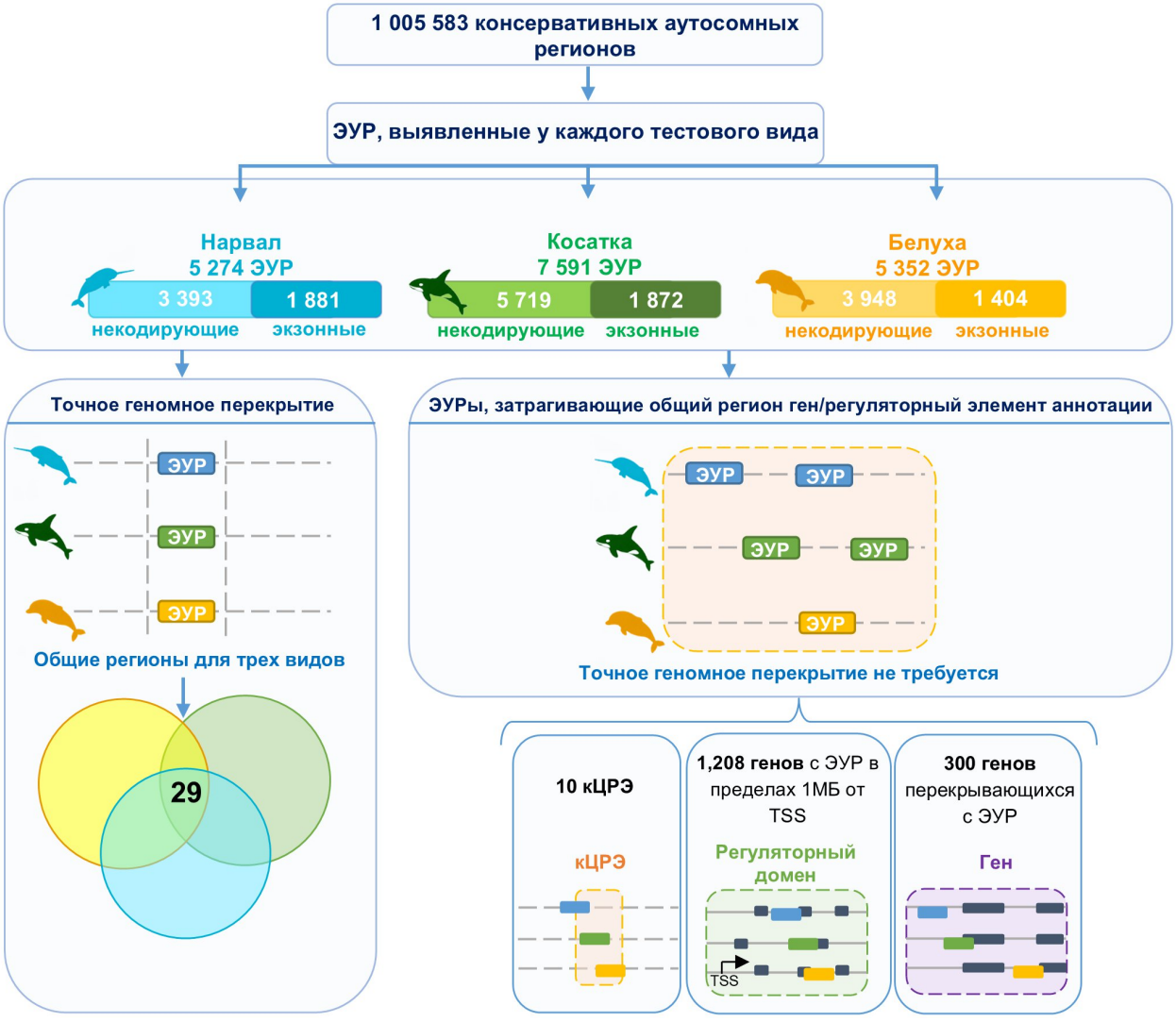


Рисунок 10 – Схема выявления эволюционно ускоренных регионов у зубатых китов с пострепродуктивным долголетием и основные результаты их сравнительного анализа и геномной аннотации

Среди них выявлено 7591 ЭУР у косатки, 5274 – у нарвала и 5352 – у белухи. При межвидовом сопоставлении обнаружено 29 ортологичных регионов, характеризующихся статистически значимым ускорением эволюции у всех трех исследуемых видов.

Среди генов, перекрывающихся с общими ЭУР, особый интерес представляли *DNM1L* и *BIRC6*. Согласно опубликованным данным, нарушение функции *DNM1L* в ооцитах мышей сопровождается возрастными нарушениями созревания фолликулов и овуляции, а варианты гена *BIRC6* связаны с преждевременной недостаточностью яичников.

Для оценки регуляторного потенциала ЭУР анализировали изменения предсказанных сайтов связывания транскрипционных факторов у исследуемых видов относительно консенсусной последовательности фоновых видов. В общих ЭУР выявлено 290 случаев изменения предсказанных сайтов связывания у всех трех исследуемых видов. Из них 34 изменения выявлены при использовании обеих баз данных мотивов транскрипционных факторов – JASPAR 2024 и HOCOMOCO, включая 25 случаев предполагаемой утраты и 9 случаев предполагаемого появления сайтов связывания. При сопоставлении общих ЭУР с опубликованными данными ChIP-seq о распределении гистоновых модификаций в печени обыкновенного дельфина (*Delphinus delphis*) выявлено четыре региона, перекрывающихся с участками, обогащенными H3K4me3. Кроме того, 10 из 29 общих ЭУР перекрывались с кандидатными цис-регуляторными элементами, аннотированными в геноме человека.

Независимо от совпадения геномных координат ЭУР было выявлено 300 генов, в пределах которых ускоренные регионы присутствовали у всех трех видов, и 1208 генов, в предполагаемых регуляторных областях которых ЭУР обнаружены у каждого вида. Функциональный анализ показал статистически значимое обогащение категориями GO, связанными преимущественно с развитием нервной системы, организацией синапсов и регуляцией нейрональной передачи сигналов. Для набора из 1208 генов также выявлено значимое обогащение категориями, связанными с развитием репродуктивной и эндокринной систем. Анализ тканевой специфичности экспрессии на основе данных человека выявил обогащение генами с преимущественной экспрессией в коре головного мозга.

Выявлено 25 генов, в предполагаемых регуляторных доменах которых у каждого из трех исследуемых видов присутствовало не менее пяти ЭУР. Среди них особый интерес представляли *MEF2C, TCF4, BCL11A, MEIS2, CADM1, NTRK3* и *QKI*, связанные с развитием и функционированием нервной системы. Согласно опубликованным экспериментальным данным, рецептор NTRK3 также участвует в регуляции ранних этапов фолликулогенеза. Нарушение функции *MEF2C* у мышей сопровождается усилением воспалительного ответа микроглии.

Таким образом, сравнительно-геномный анализ выявил общие ЭУР, часть которых перекрывалась с участками генома, обладающими признаками регуляторной активности, и гены-

кандидаты, представляющие интерес для дальнейшего изучения молекулярно-генетических особенностей пострепродуктивного долголетия.

3.6. Интегративный анализ геномных исследований

Для сопоставления результатов четырех геномных исследований животных сформировали наборы из 1244 генов по результатам исследования зубатых китов, 1209 генов – плацентарных млекопитающих с длительным сохранением репродуктивной функции, 753 генов – куньих с отложенной имплантацией и 419 генов – соболя. При сравнении трех межвидовых наборов выявлен 161 общий ген (Рисунок 11).



Рисунок 11 – Диаграмма Венна, отражающая пересечения наборов генов, полученных по результатам трех межвидовых сравнительно-геномных исследований куньих, зубатых китов и других плацентарных млекопитающих

Функциональный анализ общих генов выявил обогащение категориями GO, связанными с эмбриональным развитием, формированием гонад, репродуктивной и нервной систем. При включении в анализ набора генов соболя выявлено пять генов, общих для всех четырех исследований: *APAF1, ATP11B, EPHA3, MMS22L* и *TMCO5A*.

На следующем этапе результаты геномных исследований животных сопоставили с результатами клинико-генетического исследования женщин с патологией ооцитов. Гены *TUBB8* и *ZP4*, в которых были выявлены миссенс-варианты, не входили ни в один из ранее сформированных наборов генов. При интерпретации данного результата следует учитывать приматоспецифичность гена *TUBB8*.

Таким образом, для каждого из исследованных репродуктивных признаков выявлены преимущественно различающиеся геномные особенности. Однако сопоставление результатов исследований позволило выделить общие гены и биологические процессы, представляющие

интерес для дальнейшего изучения взаимосвязи репродуктивной функции и старения у млекопитающих.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей диссертационной работе проведено комплексное исследование молекулярно-генетических факторов, связанных с сохранением, регуляцией и нарушением репродуктивной функции, а также с пострепродуктивным долголетием у плацентарных млекопитающих.

Сравнительно-геномный анализ филогенетически удаленных видов с поздним началом репродуктивного старения или его слабо выраженными признаками позволил выявить общие геномные регионы с признаками ускоренной эволюции. Среди генов, выявленных при аннотации ЭУР, особый интерес представляли *ZBTB20*, *FANCL* и *ZFHX3*, участвующие в нейроэндокринной регуляции, репарации ДНК и мейотическом созревании ооцитов соответственно.

Генетические особенности репродуктивного долголетия исследовали также на внутривидовом уровне на примере соболя. У самок с репродуктивным долголетием и высокой плодовитостью выявлены признаки отбора в генах, участвующих в поддержании овариального резерва (*SYCP2L*), репарации ДНК (*PALB2*) и мейотическом созревании ооцитов (*PLK1*). Особый интерес представляют миссенс-варианты в генах *ASPM* p.(Arg1940Ser) и p.(Gln2900Arg), *COQ7* p.(Ser36Thr) и *VGLL4* p.(Arg85His), частоты альтернативных аллелей которых были выше у исследуемых самок по сравнению с фермерскими и дикими самками.

Одной из особенностей репродуктивной биологии соболя и ряда других представителей семейства куньих является отложенная имплантация эмбриона. У исследованных видов куньих с отложенной имплантацией выявлены общие ЭУР. Функциональный анализ генов, выявленных при аннотации ЭУР, показал обогащение категориями, связанными с эмбриональным развитием, клеточной адгезией и регуляцией плюрипотентности. Сопоставление результатов сравнительно-геномного анализа с опубликованными транскриптомными данными американской норки позволило выделить гены-кандидаты *FZD3, VIPR2, ORC4, TPST1* и *NR5A2*, потенциально значимые для регуляции репродуктивного цикла и имплантации.

Взаимосвязь репродуктивного и соматического старения представляет особый интерес у видов с продолжительным пострепродуктивным периодом. У косатки, нарвала и белухи выявлены общие геномные регионы с признаками ускоренной эволюции, часть которых может представлять собой цис-регуляторные элементы. Среди генов, перекрывающихся с общими ЭУР, особый интерес представляли *DNM1L* и *BIRC6*, для которых в литературе описана связь с нарушениями репродуктивной функции. Вместе с тем преобладание функциональных категорий, связанных с развитием нервной системы и синаптической передачей, позволяет рассматривать

выявленные гены в качестве кандидатов для дальнейшего изучения механизмов поддержания функций нервной системы при пострепродуктивном долголетии.

Для изучения молекулярно-генетических причин нарушений репродуктивной функции у человека проведено исследование женщин с патологией ооцитов. Выявлены редкие миссенс-варианты в генах *TUBB8* (c.527C>T) и *ZP4* (c.1025T>C), предположительно нарушающие формирование мейотического веретена и структурную организацию блестящей оболочки ооцитов соответственно.

Результаты проведенных исследований отражают разнообразие геномных особенностей млекопитающих с различными репродуктивными фенотипами. Вместе с тем функциональная характеристика 161 гена, общего для трех межвидовых исследований, позволила выделить биологические процессы, связанные с эмбриональным развитием, формированием репродуктивной и нервной систем. Дальнейшее изучение этих генов представляет интерес для понимания взаимосвязи репродуктивного и соматического старения.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с экспериментальной оценкой функциональной значимости выявленных генетических вариантов и регуляторных элементов, расширением сравнительных выборок видов и проверкой кандидатных вариантов соболя в независимых популяциях. Полученные данные также могут быть использованы при разработке генетических подходов к селекции соболя и интерпретации результатов молекулярно-генетической диагностики женского бесплодия.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительно-геномный анализ филогенетически удаленных видов плацентарных млекопитающих (Placentalia) с длительным сохранением репродуктивной функции выявил 150 общих геномных регионов с признаками ускоренной эволюции. Выявленные регионы связаны с генами, участвующими в функционировании репродуктивной и эндокринной систем.
2. У самок соболя с репродуктивным долголетием и высокой плодовитостью выявлены признаки селекции в 73 генах, в том числе связанных с регуляцией репродуктивной функции. Приоритизация вариантов позволила выделить гены *VGLL4*, *COQ7* и *ASPM*, в которых выявлены миссенс-варианты, чаще встречавшиеся у исследуемых самок, чем в группах сравнения.
3. Сравнительно-геномный анализ представителей семейства куньих (Mustelidae) с отложенной имплантацией эмбриона выявил 59 общих геномных регионов с признаками ускоренной

эволюции. Выявленные регионы связаны с генами, участвующими в эмбриональном развитии, клеточной адгезии и поддержании плюрипотентности.

4. Сравнительно-геномный анализ зубатых китов (Odontoceti) с продолжительным пострепродуктивным периодом выявил 29 общих геномных регионов с признаками ускоренной эволюции. Выявленные регионы связаны с генами, участвующими в развитии нервной системы, синаптической передаче и регуляции межклеточных взаимодействий.
5. У женщин с остановкой созревания ооцитов и аномалией блестящей оболочки ооцитов выявлены миссенс-варианты в генах *TUBB8* (c.527C>T) и *ZP4* (c.1025T>C) соответственно.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. **Arakelyan N. A.,** Manakhov A. D., Izotova G. V., Abramova M. N., Rogaev E. I. Identification of Accelerated Regions Associated with Extended Post-Reproductive Lifespan in Toothed Whales // Frontiers in Ecology and Evolution. 2026. Vol. 14. Article 1911090. DOI: 10.3389/fevo.2026.1911090.
2. **Arakelyan N.A.,** Grigorenko A.P., Petrova V.M., Vasilevskaya E., Islamgulov D.V., Dolgikh A.V., Manakhov A.D. The Identification of Genetic Factors Contributing to Human Oocyte Maturation Arrest Using Whole-Genome Sequencing // Russian Journal of Genetics. 2025. Vol. 61. No. 6. P. 736–740. DOI: 10.1134/S1022795425700267.
3. **Arakelyan N.,** Reshetov D., Yakovenko S., Kosorukova I., Islamgulov D., Andreeva T. An Extremely Rare *ZP4* Missense Variant in a Patient with Abnormal Zona Pellucida Morphology and Female Infertility: A Case Report // Reports. 2026. Vol. 9. No. 3. Article 260. DOI: 10.3390/reports9030260.
4. **Arakelyan N.A.,** Kupriyanova D.A., Vasilevska J., Rogaev E.I. Sexual dimorphism in immunity and longevity among the oldest old // Frontiers in Immunology. 2025. Vol. 16. Article 1525948. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1525948.
5. **Arakelyan N. A.,** Vasilevska J., Rogaev E. I. The Effects of Assisted Reproductive Technologies on De Novo Mutations // Acta Naturae. 2025. Vol. 17. No. 2. P. 4–14. DOI: 10.32607/actanaturae.27589.
6. Vasilevska J., **Arakelyan N.A.,** Kungurtseva A.L., Vitebskaya A.V., Rogaev E.I. Brain Dysfunction in Genetically Determined Accelerated Aging Syndromes // Aging and Disease. 2026. DOI: 10.14336/AD.2026.0370.