

УДК 577.21:573.6:616.699-07(477)

<sup>1,2</sup>Жилкова Є. С., <sup>1</sup>Єгунькова О. В., <sup>1</sup>Феськов О. М., <sup>2</sup>Федота О. М.

## ОДНОНУКЛЕОТИДНІ ПОЛІМОРФІЗМИ G919A ТА A2039G ГЕНА *FSHR* У ЧОЛОВІКІВ З ТЯЖКИМИ ФОРМАМИ НЕПЛІДДЯ

<sup>1</sup>Центр Репродукції людини «Клініка професора Феськова О. М.», м. Харків<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

zhilkova@feskov.com.ua

Аналіз генетичних характеристик чоловіків з різними формами азооспермії показав, що 7,3% пацієнтів – гетерозиготи за мутацією delF508 гена *CFTR*, всі мають обструктивну форму. Аномалії каріотипу – 45, XY, rob (13; 21) (q10; q10), 46, XX, 47, XXY [18] / 46, XY [2]; 47, XXY – виявлені у 12,2% хворих. При секреторній формі азооспермії частота гомозигот GGAA, GGGG, AAAA у 1,8–3,2 рази вище теоретично очікуваної. Частота гомозигот за алелем дикого типу GGAA у 2,6 рази вище, ніж в контролі. У чоловіків з секреторною азооспермією виявлено прямий зв'язок між кількістю поліморфних алелів за SNP G919A гена *FSHR* і рівнем фолікулостимулюючого гормону,  $r_s = 0,49$ . Рівень фолікулостимулюючого гормону у частини хворих з секреторною формою знаходиться на верхній межі норми або її перевищує –19,07–33,42 мМЕ/мл, при обструктивній формі – знаходиться в межах норми. При обструктивній азооспермії фактична частота гетерозигот GGGG, GAAG, AAAA у 2–5,1, рази вище від очікуваної, гомозигот GGAA не виявлено.

**Ключові слова:** азооспермія; ген *FSHR*; ФСГ; G919A; A2039G.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами.** Робота виконана у рамках НДР медичного факультету ХНУ імені В. Н. Каразіна «Генетичні передумови розвитку та корекції спадкової патології на різних етапах онтогенезу людини та тварин», № держ. реєстрації 0116U005341, 2016–2017 рр.

**Вступ.** Згідно літературним даним, у 30% випадків причиною зниження фертильності у чоловіків є генетичні чинники – зміни каріотипу, генні мутації, мікроделеції AZF регіону Y хромосоми [1, 2]. Азооспермія (АЗС) та виражена олігозооспермія є найбільш важкими формами порушення сперматогенезу та діагностуються у 2% чоловіків зі зниженою фертильністю [3]. Виділяють обструктивну та секреторну форми азооспермії, які фактично є наслідком недиференційованої дисплазії сполучної тканини. В основі обструктивної форми азооспермії (ОА) лежить непрохідність сім'явивідних шляхів і інші вроджені аномалії, у результаті чого спермато-

зоїди не можуть потрапити в еякулят, проте чоловічі статеві клітини утворюються в достатній кількості. При секреторній азооспермії (СА) від самого початку порушується утворення сперматозоїдів в яєчках [4–6]. У структурі азооспермії частка ОА становить 25–30%, секреторної форми – 70% [7].

При обстеженні чоловіків з АЗС в Україні та за кордоном в першу чергу проводять аналіз каріотипу, дослідження мікроделецій AZF-регіону Y хромосоми і тестування мутацій гена *CFTR* [8–13].

З мутаціями гена *CFTR* асоційована вроджена двостороння відсутність сім'явивідної протоки (ВДВСП, CBAVD – Congenital bilateral absence of the vas deferens). За даними, наведеними вітчизняними авторами, чоловіче неплоддя пов'язано з мутаціями гена *CFTR* у 4,8–12,04% випадків, в залежності від регіону [12, 13]. У теперішній час в Україні частота гетерозиготного носійства мутацій гена *CFTR* становить 1 на 29, а частота муковісцидозу – 1 на 3364 новонароджених [14, 15]. У зв'язку з цим хворі, їхні члени сімей та родичі становлять групу ризику щодо зниження фертильності.

Частота мікроделецій довгого плеча Y-хромосоми серед чоловіків з неплоддям в Україні та країнах Європи складає від 1 до 35% [11, 12, 16]. Настільки широкий діапазон частоти мікроделецій може бути обумовлений впливом ряду факторів, наприклад, критеріями відбору пацієнтів для проведення молекулярно-генетичного аналізу, кількістю досліджуваних локусів Y хромосоми. Однак, у ряді випадків, етіологія азооспермії все одно залишається нез'ясованою.

Сучасні методи репродуктивної медицини дозволяють отримати сперматозоїди у чоловіків з АЗС шляхом проведення стимуляції сперматогенезу за допомогою гормональної терапії і подальшого хірургічного втручання. Актуальним є прогнозування ефекту гормональної стимуляції сперматогенезу. Перед початком стимуляції сперматогенезу у чоловіків з азооспермією важливо оцінити загальний рівень тестостерону та фолікулостимулюючого гормону (ФСГ). За літературними даними, біопсія показана тільки у випадках нормального розміру гонад та рівня ФСГ для диференційної діагностики ОА [17, 18].

Відповідно до сучасних уявлень про стратегії лікування чоловічого непліддя, стимуляція сперматогенезу гормональними препаратами не завжди дає позитивний результат. Це може бути пов'язано з алельним поліморфізмом генів, що кодують гормони або рецептори гормонів, задіяних в процесі сперматогенезу, наприклад, гена рецептора до фолікулостимулюючого гормону *FSHR* (follicle stimulating hormone receptor gene, 2p21, OMIM: 136435), який визначає рецептори до ФСГ, розташовані на поверхні клітин яєчників і тестикул. Літературні дані про зв'язок однонуклеотидних поліморфізмів G919A (Ala307Thr) і A2039G (Asn680Ser), розташованими у екзоні 10 гена *FSHR* з гормональним статусом чоловіків з порушеннями фертильності суперечливі. Так, згідно з результатами Grigogova M. (2010), однонуклеотидні заміни в гені *FSHR* ведуть до зниження рівня гормону ФСГ в крові у чоловіків з порушеннями репродуктивної функції [19]. У той же час, в роботі Pengo M. (2006) зв'язок між однонуклеотидними поліморфізмами гена *FSHR* і рівнем фолікулостимулюючого гормону в крові інфертильних пацієнтів не знайдено [20]. У проведених нами раніше дослідженнях було показано зв'язок однонуклеотидних поліморфізмів G919A і A2039G гена *FSHR* з підвищеним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів чоловіків, який у гомозигот за поліморфними алелями склав 36,5 – 39,3 % [21].

**Метою** даної роботи стало дослідження зв'язку поліморфних варіантів G919A і A2039G гена *FSHR* з азооспермією у чоловіків.

**Матеріали і методи дослідження.** Збір первинної інформації та лабораторні дослідження проводили в Центрі репродукції людини «Клініка професора Феськова О. М.» (м. Харків). За період 2012–2016 рр. було проаналізовано інформацію та біологічні зразки 1637 чоловіків зі зниженою фертильністю у віці від 19 до 67 років. Для всіх чоловіків був проведений мікроскопічний аналіз еякуляту з інтерпретацією параметрів фертильності згідно рекомендаціям ВООЗ від 2010 року [22].

За результатами мікроскопічного аналізу еякуляту було виявлено 41 чоловік з азооспермією віком від 22 до 45 років. Для пацієнтів з АЗС було проведено каріотипування, дослідження мікрodelецій AZF–локусу Y хромосоми, дослідження мутації delF508 гена *CFTR*, однонуклеотидних поліморфізмів G919A і A2039G гена *FSHR* та визначення рівня ФСГ і тестостерону у сироватці крові. Групу контролю склали 37 чоловіків віком  $33,8 \pm 4,7$  років, у яких характеристики еякуляту відповідали рекомендаціям ВООЗ від 2010 року [22].

Молекулярно-генетичний аналіз однонуклеотидних поліморфізмів G919A (Ala307Thr) і A2039G

(Asn680Ser) гена *FSHR*, мутації delF508 гена *CFTR* та мікрodelецій AZF–локусу Y хромосоми: sY84 (DYS273), sY86 (DYS148), sY127, sY134 (DYS224), sY254 (DAZ), sY255 (DAZ) і гена *SRY* як внутрішнього контролю проведено методом ПЛР та ПЛР у реальному часі. Виділення ДНК зі зразків периферійної крові проводилося за допомогою наборів для екстракції ДНК «NucleoSpin Blood» (Німеччина). RT-PCR виконано з використанням системи «ABI PRISM 7500 real-time PCR system» (США). Послідовність використаних праймерів відповідала рекомендаціям National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Для проведення цитогенетичних досліджень препарати хромосом отримували з лімфоцитів периферійної крові за стандартною методикою із застосуванням G-методу диференційного фарбування хромосом [23]. Результати цитогенетичного дослідження наведені відповідно до Міжнародної системи номенклатури цитогенетики людини [24].

Імуноферментний аналіз (ІФА) проведено з використанням планшетного напіваавтоматичного ІФА аналізатора «StatFax 4200» (США) для визначення рівня ФСГ та тестостерону у сироватці крові за стандартною методикою виробника.

При проведенні статистичного аналізу дані перевірені на відповідність закону нормального розподілу. Для виявлення зв'язку між поліморфними варіантами G919A і A2039G гена *FSHR* і рівнем гормонів ФСГ і тестостерону в сироватці крові проведено кореляційний аналіз за Спірменом. Для оцінки різниці рівня гормонів для різних груп використаний критерій Манна-Уїтні. Різниця в розподілі частот алелів і генотипів досліджена із застосуванням критерію  $\chi^2$ -квадрат. При проведенні множинних порівнянь введено поправку Бонферроні [25].

**Результати дослідження.** З 1637 чоловіків із зниженою репродуктивною функцією частка пацієнтів з висновком спермограми «азооспермія» складала 2,5% (N = 41), що співставно з даними Schlegel P. N., наведених для чоловіків, які проходили лікування безпліддя методами ДРТ в клініках США – до 3% чоловіків з порушеннями репродуктивної функції [3]. СА була виявлена нами у 60,9% (n = 25) осіб з загальної групи пацієнтів, середній вік яких складав  $32,2 \pm 4,1$  років. ОА було визначено у 39,1% (n = 16) чоловіків у середньому віці  $33,2 \pm 3,8$  років. Отримані результати подібні даним Американської Асоціації Урологів, 60% і 40%, відповідно [26].

Аномалії каріотипу були виявлені у 12,2 % (n = 5) чоловіків з АЗС. Відхилення у каріотипі діагностовано у 6,3 % (n = 1) осіб з ОА: 45,XY, rob(13; 21)(q10; q10) (**рис. 1**). Для пацієнтів з СА порушення каріотипу встановлені в 16,0 % (n = 4) випадків:

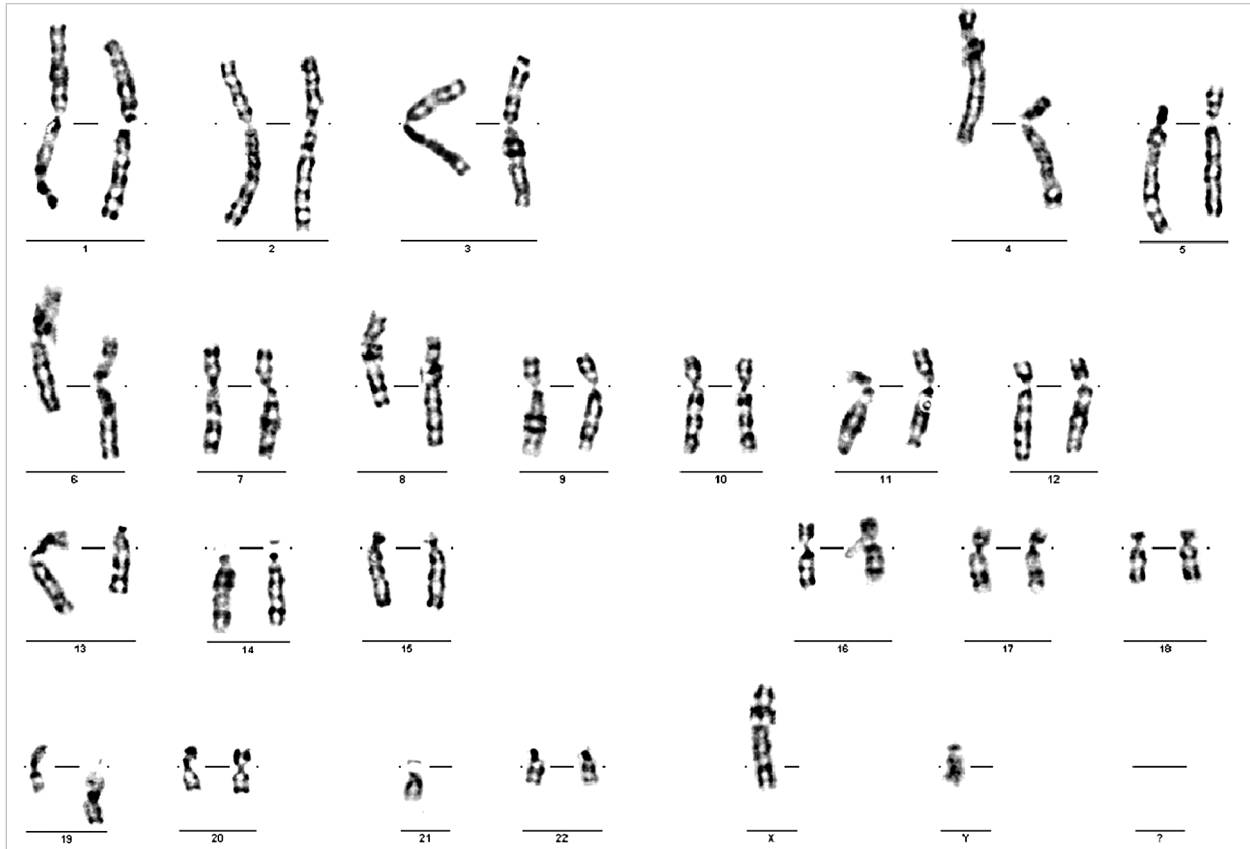


Рис. 1. Робертсонівська транслокація: 45,XY,der(13;21)(q10;q10).

46,XX (n = 1), 47,XXY [18] / 46,XY [2] (n = 1); 47,XXY (n = 2). Каріотип, характерний для синдрому Клайнфельтера (47,XXY), нами було визначено у 7,3% (n = 3) пацієнтів з АЗС, але тільки у чоловіків з СА, 12,0% (n = 3). Згідно з даними Jha C. B. (2007), синдром Клайнфельтера зустрічається у 4–6% безплідних чоловіків, у 11–14% чоловіків з АЗС [27].

Мутація *delF508* гена *CFTR* у гетерозиготному стані виявлена нами у 7,3% (n = 3) пацієнтів з АЗС, у 18,8% пацієнтів с ОА, відповідно (рис. 2). Частота мутантного алелю серед чоловіків з АЗС складала  $p_{delF508} = 0,038$ , серед чоловіків с ОА –  $p_{delF508} = 0,105$ , відповідно. У Західному регіоні України мутацію *delF508* гена *CFTR* у гетерозиготному стані виявлено у 12,96% чоловіків з дво- або одностороннім порушенням прохідності сім'явивідних протоків [11]. За даними Aston Q.A. (2012), серед чоловіків з ОА Тегерану та Ірану  $p_{delF508} = 0,943$  [28].

У нашому дослідженні у чоловіків з АЗС не було виявлено мікрделецій Y хромосоми. Ми порівняли отримані нами результати щодо мікрделецій AZF-локусу Y хромосоми з даними інших авторів для населення України. У роботі М. Я. Тиркус (2010), при дослідженні мікрделецій sY14, sY84, sY86, sY127, sY134, sY254, sY255 та гена SRY Y хромосоми у групі неплідних пацієнтів Західного

регіону України, мікрделеції AZF регіону Y хромосоми виявлено у 7,25 % обстежених [11]. Н. П. Веропотвелян (2012) показав, у результаті аналізу мікрделецій sY14, sY84, sY86, sY127, sY134, sY238, sY254, sY255Y хромосоми та гена SRY у групі неплідних чоловіків Центрального та Південно-Східного регіону України, що зазначені порушення виявлені у 11,5 % пацієнтів [16]. О. А. Фесай (2008) продемонструвала, що частота мікрделецій sY746, sY84, sY85, sY86, USP9Y, sY117, sY124, sY127, sY134, sY141, sY153, sY240, sY146, sY254, sY255, sY158, sY160 у групі неплідних чоловіків Центральної та Східної України становить 4,5 % [12]. Таким чином, отримані нами результати свідчать про необхідність подальших досліджень мікрделеції AZF регіону Y хромосоми, характерних для чоловіків зі зниженою фертильністю у Східній Україні.

Подальше дослідження проведено для 34 пацієнтів з нормальним каріотипом 46,XY при відсутності мутації *delF508* гена *CFTR*: 21 чоловік з секреторною та 13 – з обструктивною формами азооспермії. Частоти алелів і генотипів досліджуваних поліморфних варіантів гена *FSHR* у чоловіків зі зниженою фертильністю проаналізовано в залежності від форми азооспермії (табл. 1, 2).

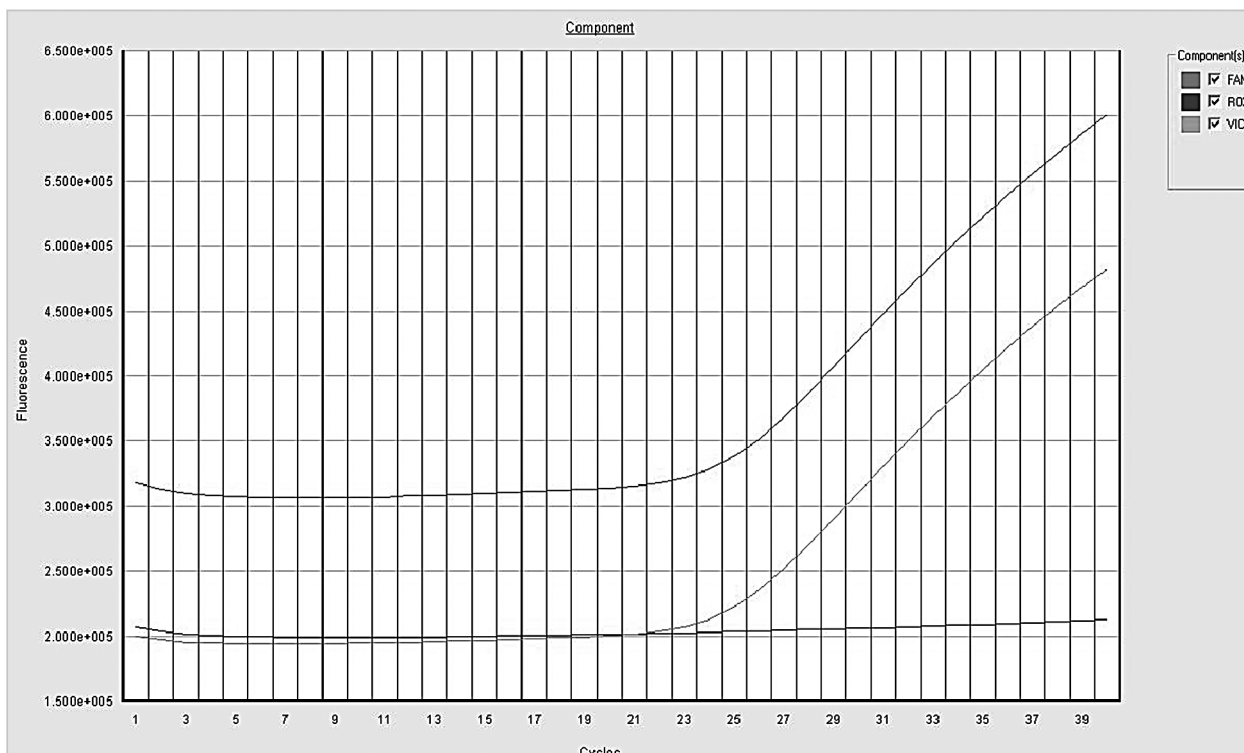


Рис. 2. Мутація delF508 гена *CFTR* у гетерозиготному стані (метод ПЛР у реальному часі).

Таблиця 1 – Частоти алелів поліморфних варіантів G919A й A2039 гена *FSHR* у чоловіків з секреторною та обструктивною формами азооспермії

| SNP    | Частоти алелів | Форма азооспермії |            | АЗС, загальна група (N=41) | Контрольна група |
|--------|----------------|-------------------|------------|----------------------------|------------------|
|        |                | Обструктивна      | Секреторна |                            |                  |
| G919A  | G              | 0,423             | 0,445      | 0,435                      | 0,393            |
|        | A              | 0,577             | 0,555      | 0,565                      | 0,607            |
| A2039G | A              | 0,577             | 0,685      | 0,615                      | 0,568            |
|        | G              | 0,423             | 0,315      | 0,385                      | 0,432            |

У контрольній групі відзначається відхилення від рівноваги за Харді-Вайнбергом вбік зміни числа окремих генотипів – чоловіків з генотипами GGGG, AAAA та AAGG виявлено у 3,7, 2 та 1,5 рази більше від теоретично очікуваного ( $df = 8$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 20,09$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 60,83$ ,  $p < 0,01$ ).

При секреторній формі АЗС фактичний розподіл генотипів за поліморфними варіантами A2039G і G919A статистично значущо не відрізняється ні від теоретично очікуваного ( $df = 2$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 5,99$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 5,51$ ,  $p > 0,05$ ;  $df = 2$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 5,99$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 2,39$ ,  $p > 0,05$ ), ні від розподілу генотипів у контрольній групі.

В той же час при проведенні аналізу за двома SNP одночасно при СА відмічається значуще відхилення від рівноваги – фактично гомозигот GGAA, GGGG, AAAA у 1,8, 2,4 та у 3,2 рази більше від теоретично очікуваного ( $df = 8$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 20,09$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 79,55$ ,  $p < 0,01$ ), та гомозигот за алелями дикого типу GGAA у 2,6 разів більше, ніж у контрольній групі ( $df = 1$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 3,84$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 4,46$ ,  $p <$

$0,05$ ). Отримані нами частоти генотипів за одноступеневим поліморфізмом G919A серед пацієнтів з СА співставні з даними інших авторів: 31,8%, 47,6% і 20,6% для чоловіків Ірану, і 17,9%, 53,4% і 28,7%, згідно з результатами, наведеними Lindgren I. для країн Євросоюзу [29, 30].

При ОА фактичний розподіл генотипів за обома поліморфними варіантами як при окремому їх аналізі, так і при одночасному, демонструє відхилення від рівноваги за Харді-Вайнбергом – чоловіків з генотипами GGGG, GAAG, AAAA у 5,1, 2,6 та у 2 рази більше від теоретично очікуваного ( $df = 2$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 9,21$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 9,436$ ,  $p < 0,01$ ;  $df = 2$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 9,21$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 9,436$ ,  $p < 0,01$ ;  $\chi^2_{\text{крит.}} = 20,09$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 75,789$ ,  $p < 0,01$ , відповідно). При цьому гомозигот за алелями дикого типу серед пацієнтів з обструктивною формою АЗС не виявлено.

Між чоловіками з ОА та контрольної групи виявлено значущу різницю за частотами генотипів за обома SNP гена *FSHR* ( $df = 2$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 11,35$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 9,21$ ,  $p < 0,01$ ;  $df = 2$ ,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 15,12$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 9,21$ ,

**Таблиця 2** – Розподіл генотипів поліморфних варіантів G919A й A2039 гена *FSHR* у чоловіків з секреторною та обструктивною формами азооспермії, n (%)

| SNP            | Генотипи | Форма азооспермії |          |                 |           | Контрольна група |           |
|----------------|----------|-------------------|----------|-----------------|-----------|------------------|-----------|
|                |          | Обструктивна      |          | Секреторна      |           | Факт.            | Теор.     |
|                |          | Факт.             | Теор.    | Факт.           | Теор.     |                  |           |
| G919A          | GG       | 1 (7,7)           | 2 (17,9) | 6 (28,6)        | 5 (19,8)  | 6 (16,3)         | 5 (15,0)  |
|                | GA       | 9 (69,2)          | 6 (48,8) | 7 (33,3)        | 10 (49,4) | 17 (45,9)        | 18 (47,8) |
|                | AA       | 3 (23,1)          | 5 (33,3) | 8 (38,1)        | 6 (30,8)  | 14 (37,8)        | 14 (36,8) |
| <i>p</i>       |          | < 0,01            |          | > 0,05          |           | > 0,05           |           |
| A2039G         | AA       | 3 (23,1)          | 5 (33,3) | 11 (52,4)       | 10 (46,9) | 13 (35,2)        | 12 (32,3) |
|                | AG       | 9 (69,2)          | 6 (48,8) | 7 (33,3)        | 9 (43,2)  | 16 (43,2)        | 18 (49,0) |
|                | GG       | 1 (7,7)           | 2 (17,9) | 3 (14,3)        | 2 (9,9)   | 8 (21,6)         | 7 (18,7)  |
| <i>p</i>       |          | < 0,01            |          | > 0,05          |           | > 0,05           |           |
| G919A / A2039G | GGAA     | 0                 | 1 (6,0)  | 3 (14,3)        | 2 (7,8)   | 2 (5,4)          | 2 (5,0)   |
|                | GAAA     | 0                 | 2 (16,2) | 0               | 3 (19,4)  | 1 (2,7)          | 6 (15,4)  |
|                | GGAG     | 0                 | 1 (8,8)  | 0               | 2 (9,4)   | 0                | 3 (7,6)   |
|                | GAAG     | 8 (61,5)          | 3 (24,0) | 7 (33,3)        | 4 (23,2)  | 16 (43,2)        | 9 (23,2)  |
|                | AAAA     | 3 (23,1)          | 1 (11,1) | 8 (38,1)        | 3 (12,0)  | 10 (27,0)        | 4 (11,9)  |
|                | AAAG     | 0                 | 2 (16,2) | 0               | 3 (14,4)  | 0                | 7 (18,0)  |
|                | GGGG     | 1 (7,7)           | 1 (3,2)  | 3 (14,3)        | 1 (2,8)   | 4 (10,8)         | 1 (2,9)   |
|                | GAGG     | 1 (7,7)           | 1 (8,8)  | 0               | 2 (7,0)   | 0                | 3 (9,0)   |
| AAGG           | 0        | 1 (6,0)           | 0        | 1 (4,3)         | 4 (10,8)  | 2 (6,9)          |           |
| <i>p</i>       |          | <i>p</i> < 0,01   |          | <i>p</i> < 0,01 |           | <i>p</i> < 0,01  |           |

Примітка: *p* – рівень значущості.

*p* < 0,01) та при одночасному їх аналізі (*df* = 8,  $\chi^2_{\text{факт.}} = 30,502$ ,  $\chi^2_{\text{крит.}} = 20,09$ , *p* < 0,01) – гомозигот за алелем дикого типу 919G/919G вдвічі менше, а гетерозигот 919G/919A – у 1,3 рази більше у порівнянні зі здоровими чоловіками. Крім того, у контрольній групі гомозигот за алелем дикого типу 2039A/2039A у 1,5 рази більше, а гетерозигот – 2039A/2039G у 1,6 разів менше, ніж серед пацієнтів з ОА. Отримані нами результати щодо частот алелів за поліморфним варіантом A2039G у хворих з ОА співставні з наведеними раніше даними Gharesi-Fard B. (2015) для чоловіків Ірану з обструктивною формою АЗС: *p*<sub>A</sub> = 0,471 і *q*<sub>G</sub> = 0,526 [30].

Досліджено рівень ФСГ у сироватці крові чоловіків з СА і ОА з різними генотипами (табл. 3).

У нормі рівень ФСГ у крові чоловіків становить 5–20 мМО/мл. Нами виявлено статистично значущу різницю у рівні ФСГ між контрольною групою та чоловіками з СА (*U*<sub>емпір.</sub> = 101, *U*<sub>критич.</sub> = 105, *p* < 0,01) та між контролем і пацієнтами з ОА (*U*<sub>емпір.</sub> = 62,5, *U*<sub>критич.</sub> = 75, *p* < 0,03). При цьому у половини чоловіків з СА рівень ФСГ у сироватці крові знаходиться на верхній межі стандартної норми або її

**Таблиця 3** – Показники рівню гормону ФСГ у чоловіків з секреторною та обструктивною формами азооспермії для різних генотипів G919A і A2039G гена *FSHR*, мМО/мл

| SNP            | Генотип | Рівень ФСГ            |             |                  |
|----------------|---------|-----------------------|-------------|------------------|
|                |         | Форма азооспермії     |             | Контрольна група |
|                |         | обструктивна          | секреторна  |                  |
| G919A          | GG      | 11,40±0,0 *           | 19,07±12,44 | 9,36±5,52        |
|                | GA      | 4,82±1,55 *           | 19,44±8,68  | 16,12±11,53      |
|                | AA      | 18,47±9,82            | 33,42±11,33 | 14,34±5,17       |
| A2039G         | AA      | 18,47±9,82            | 31,35±13,23 | 11,76±5,78       |
|                | AG      | 4,82±1,55 **          | 19,44±8,68  | 16,78±12,29      |
|                | GG      | 11,40±0,0 **          | 12,32±7,85  | 13,73±1,87       |
| <i>p</i>       |         | *, ** <i>p</i> < 0,05 |             |                  |
| G919A / A2039G | GGAA    | –                     | 25,81±18,39 | 3,84±0,0         |
|                | GAAA    | –                     | –           | 16,69±12,35      |
|                | GAAG    | 4,79±1,70*            | 19,44±8,68  | 10,43±0,0        |
|                | AAAA    | 18,47±9,82            | 33,42±11,33 | 15,12±7,39       |
|                | GGGG    | 11,40±0,0*            | 12,32±7,85  | 14,87±0,0        |
|                | GAGG    | 5,02±0,0              | –           | –                |
| AAGG           | –       | –                     | 13,17±2,24  |                  |
| <i>p</i>       |         | *, <i>p</i> < 0,05    |             |                  |

Примітка: *p* – рівень значущості.

перевищує, а при обструктивній формі азооспермії значення ФСГ у хворих з різними генотипами знаходяться в межах нормальних значень, відрізняю-

чись при цьому від показників здорових чоловіків з тими ж генотипами. Отримані нами результати співставні з даними, наведеними у літературі іншими авторами, згідно яких при ОА значення ФСГ лежать у межах норми, а при СА її перевищують [31, 32].

Знайдено позитивний зв'язок між кількістю поліморфних алелів за SNP G919A гена *FSHR* і рівнем гормону ФСГ для пацієнтів з СА ( $r_s = 0,49$ ,  $p < 0,05$ ), а також для чоловіків з ОА старше 35 років ( $r_s = 0,89$ ,  $p < 0,05$ ). Останнє може бути пов'язане з тим, що, згідно літературним даним, у чоловіків значення ФСГ протягом життя зазвичай залишаються незмінними, але можуть зростати в другій половині життя, та до 60 років [33].

Показники тестостерону, незалежно від форми азооспермії, у контрольній групі та серед пацієнтів з АЗС значущих відмінностей не мають. При дослідженні зв'язку між рівнем гормону тестостерону і кількістю поліморфних алелів G919A і A2039G гена *FSHR* у чоловіків з азооспермією, незалежно від її форми, коефіцієнт кореляції знаходиться в діапазоні від 0,03 до 0,41, та не є значущим.

**Обговорення.** Відомо, що у чоловіків від роботи фолікулостимулюючого гормону залежить нормальне функціонування і розвиток сім'яних каналців і сім'яників. Це пов'язане з впливом ФСГ на функціонування клітин Сертолі, які разом із статевими клітинами утворюють стінку звивистих сім'яних каналців. Клітини Сертолі повинні продукувати антимюллерів фактор ( $\beta$ -трансформуючий фактор росту), андрогензв'язуючий білок (АЗБ), активін та інгібін. У той же час утворення антимюллерівого фактору в клітинах Сертолі гальмується ФСГ, який вступає у зв'язок з ними за допомогою розташованих на їхніх мембранах спеціальних рецепторів [31, 32, 34]. Беручи до уваги виявлену різницю між частотами генотипів за проаналізованими SNP гена *FSHR* серед пацієнтів з ОА та у здорових чоловіків, і нормальні показники рівня ФСГ у хворих на ОА, можна припустити, що присутність поліморфних алелів за обома SNP гена *FSHR* у гетерозиготному стані робить внесок у порушення формування сім'явидних шляхів у плодів чоловічої статі під час ембріогенезу, впливає на функцію антимюллерівого фактору, під дією якого у процесі ембріогенезу у плодів чоловічої статі має відбутися регресія Мюллерівих протоків. Наявність дериватів Мюллерівих протоків веде до порушення чоловічої репродуктивної функції – у чоловіків з ОА, при нормальному рівні ФСГ у крові, зберігається процес утворення сперматозоїдів у яєчках, але вихід сперматозоїдів до еякуляту стає неможливим через механічну блокаду, що виникла під час ембріогенезу.

Можна припустити, що у чоловіків з секреторною формою азооспермії має місце зміна активно-

сті ФСГ-рецепторного комплексу, що пояснює більш високий рівень ФСГ у сироватці крові у таких пацієнтів. В той же час пацієнти з СА мають такий самий розподіл частот генотипів за обома проаналізованими SNP гена *FSHR*, як і здорові чоловіки, тому, ймовірно, рецепторна недостатність та розвиток СА обумовлені порушеннями іншої етіології. Оскільки відомо, що на сперматогенез впливає велика кількість факторів, як середовищних, так і генетичних, у в якості однієї з причин можна припустити невиявлені хромосомні зміни. Так, за даними Jha C. B. (2007) та Frühmesser A. (2011), практично у 13 % чоловіків з секреторною формою АЗС виявлено синдром Клайнфельтера, для якого характерна як повна дисомія хромосоми X (90–93% випадків), так і різні форми мозаїцизму з варіантами каріотипу 48,XXXY; 48,XXYY; 49,XXXXY [27, 35]. Крім того, до секреторної форми АЗС можуть призводити аутосомні інверсії та транслокації [11]. В той же час відсутність у пацієнтів з СА виявлених делецій AZF-локуса та зазначений рівень ФСГ узгоджуються з результатами Черних В.Б. (2003), згідно з якими дослідження рівня гормонів, у тому числі ФСГ, Т і інших, не показали будь-яких специфічних змін рівнів гормонів у пацієнтів з делеціями AZF-локусу. Проте, це питання вимагає додаткових досліджень, тому у пацієнтів з СА можна також припустити наявність інших мікроделецій Y-хромосоми, невиявлених при проведенні даного обстеження [13].

Для носіїв поліморфних алелів G919A та A2039G гена *FSHR* в генотипі з секреторною формою АЗС було б доцільно використовувати препарати рекомбінантного ФСГ, які містять найбільш активні фракції гормону, для успішного проведення стимуляції сперматогенезу пацієнтів і отримання у них в подальшому сперматозоїдів шляхом оперативного втручання [16, 29].

**Висновки.** Отримані результати дозволяють припустити генетичну гетерогенність азооспермії. Досліджені генетичні характеристики чоловіків з різними формами азооспермії. При секреторній формі азооспермії спостерігається збільшення частоти гомозигот GGAA, GGGG, AAAA в 1,8–3,2 рази відносно теоретично очікуваної та гомозигот за алелями дикого типу GGAA у 2,6 разів відносно контролю. Знайдено позитивний зв'язок між кількістю поліморфних алелів за SNP G919A гена *FSHR* і рівнем гормону фолікулостимулюючого гормону для чоловіків з секреторною азооспермією ( $r_s = 0,49$ ). Рівень фолікулостимулюючого гормону у частини хворих знаходиться на верхній межі стандартної норми або її перевищує. При обструктивній формі азооспермії відзначається збільшення частоти гетерозигот GGGG, GAAG, AAAA у 2–5,1, рази від теоретично очікуваної, гомозигот за алелями

дикого типу GGAA не виявлено. Значення фолікулоstimулюючого гормону у хворих на обструктивну форму знаходяться в межах нормальних значень. Отримані результати припускають подальше дослідження різних форм азооспермії для визначення її генетичної гетерогенності та формування стратегій лікування чоловічого непліддя.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати щодо обструктивної та секреторної форм АЗС припускають подальший аналіз генетичної гетерогенності азооспермії із залученням нових кандидатних генів. Необхідні подальші дослідження з метою виявлення мікрodelецій Y хромосоми, характерних для Східної України.

### Література

1. Krausz C. Genetic testing and counselling for male infertility / C. Krausz, C. Chianese // *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* – 2014. – № 21. – P. 244.
2. Ferlin A. Genetic causes of male infertility / A. Ferlin, B. Arredi, C. Foresta // *Reproductive Toxicology.* – 2006. – № 22. – P. 133–141.
3. Schlegel P. N. Causes of azoospermia and their management / P. N. Schlegel // *Reprod. Fertil. Dev.* – 2004. – Vol. 16, № 5. – P. 561–572.
4. Tiseo B. C. Surgical management of nonobstructive azoospermia / B. C. Tiseo, R. P. Hayden, C. Tanrikut // *Asian Journal of Urology.* – 2015. – Vol. 2, Issue 2. – P. 85–91.
5. Kumar R. Medical management of non-obstructive azoospermia / R. Kumar // *Clinics.* – 2013. – Vol. 68, Suppl. 1. – P. 75.
6. Sadeghi-Nejad H. Genetics of azoospermia: current knowledge, clinical implications, and future directions / H. Sadeghi-Nejad, F. Farrokhi // *Part I. Urol. J.* – 2006. – Vol. 3, № 4. – P. 193–203.
7. Baker K. Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results / K. Baker, E. Jr. Sabanegh // *Clinics (Sao Paulo).* – 2013. – Vol. 68, Suppl. 1. – P. 61–73.
8. Ramasamy R. Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome / R. Ramasamy, J. A. Ricci, G. D. Palermo, L. V. Gosden, Z. Rosenwaks, P. N. Schlegel // *J. Urol.* – 2009. – Vol. 182, № 3. – P. 1108–1113.
9. Noordam M. J. Gene copy number reduction in the azoospermia factor c (AZFc) region and its effect on total motile sperm count / M. J. Noordam, G. H. Westerveld, S. E. Hovingh [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2011. – № 20. – P. 2457–2463.
10. Poongothai J. Genetics of human male infertility / J. Poongothai, T.S. Gopenath, S. Manonayaki // *Singapore Med. J.* – 2009. – Vol. 50, № 4. – P. 336–347.
11. Тиркус М. Я. Внесок генетичних чинників у структуру ідіопатичного непліддя чоловіків Західного регіону України [Текст] : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.15 «Генетика (біологічні науки)» / М. Я. Тиркус ; Харк. нац. ун-т ім. В. Н. Каразіна. – Х., 2010. – 20 с.
12. Фесай О. А. Молекулярно-генетичний аналіз дефектів гена AZF Y-хромосоми та гена TPBM при чоловічому безплідді [Текст] / О. А. Фесай, В. М. Пампуха, О. О. Соловйов, Л. А. Лівшиць // *Біополімери і клітина.* – 2008. – Т. 24, № 3. – С. 231–237.
13. Черных В. Б. Анализ микрodelеций в локусе AZF у мужчин с бесплодием: совместный опыт исследований [Текст] / В. Б. Черных Л. Ф. Курило, Л. В. Шилейко [и др.] // *Мед. генетика.* – 2003. – Т. 2, № 8. – С. 367–379.
14. Лівшиць Л. А. Природа, походження та шляхи розповсюдження мутацій, що спричинюють моногенні спадкові захворювання : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня доктора біол. наук : спец. 03.00.26 «Молекулярна генетика» / Л. А. Лівшиць; Інститут молекулярної біології і генетики НАН України. – К., 2001. – 28 с. – укр.
15. Макух Г. В. Аналіз мутацій гена CFTR (TPBM) у хворих високого ризику муковісцидозу із Західного регіону України : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.15 «Генетика (біологічні науки)» / Г. В. Макух; НАН України. Ін-т клітин. біології та генет. інженерії. – К., 2001. – 16 с. – укр.
16. Веропотвелян Н. П. Аналіз микрodelеций в локусе AZF у мужчин с различными нарушениями сперматогенеза [Текст] / Н. П. Веропотвелян, Ю. С. Погуляй, С. А. Журавлева [и др.] // *Мед. аспекты здоровья мужчины.* – 2012. – Т. 3, № 5. – С. 74–77.
17. Matsumoto A. M. Stimulation of spermatogenesis with recombinant human follicle-stimulating hormone (follicle-stimulating hormone; GONAL-f): long-term treatment in azoospermic men with hypogonadotropic hypogonadism / A. M. Matsumoto, P. J. Snyder, S. Bhasin [et al.] // *Fertility and Sterility.* – 2009. – Vol. 92, № 3. – P. 979–990.
18. Grigorova M. Increased Prevalance of the –211 T allele of follicle stimulating hormone (FSH) beta subunit promoter polymorphism and lower serum FSH in infertile men / M. Grigorova, M. Punab, O. Poolamets // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2010. – № 95. – P. 100.
19. Grigorova M. Genetically determined dosage of follicle-stimulating hormone (FSH) affects male reproductive parameters / M. Grigorova, M. Punab, B. Zilaitienė // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – № 96. – P. 1534.
20. Pengo M. FSH receptor gene polymorphisms in fertile and infertile Italian men / M. Pengo, A. Ferlin, B. Arredi [et al.] // *Reprod. Biomed. Online.* – 2006. – Vol. 13, № 6. – P. 795–800.
21. Zhyilkova I. *FSHR* Gene polymorphisms causes male infertility [Text] / I. Zhyilkova, O. Feskov, O. Fedota // *Open J. Gen.* – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 1–8.

22. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [Text] / World Health Organization. – 5<sup>th</sup> ed. – Geneva, 2010. – 286 p.
23. Зерова-Любимова Т. Е. Стандарти аналізу препаратів хромосом людини (методичні рекомендації) / Т. Е. Зерова-Любимова, Н. Г. Горовенко. – К. : КМАПО ім. П.Л. Шупика, 2003. – 52 с.
24. Shaffer K. G. ISCN 2009. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature / K. G. Shaffer, M. L. Slovak, L. J. Campbell. – Basel : S. Karger, 2009. – 138 p.
25. Атраментова Л. О. Статистичні методи в біології [Текст]: підруч. для студентів біолог. спец. вищих навч. закладів / Л. О. Атраментова, О. М. Утевська. – Харьков : [б. в.], 2007. – 286 с. – Б. ц.
26. O'leary M. P. American Urological Association Gallup survey: Physician practice patterns, cryosurgery/brachytherapy, male infertility, female urology and insurance/professional liability / M. P. O'leary, N. H. Baum, W. W. Bohnert [et al.] // J. Urol. – 2004. – № 171. – P. 2363–2368.
27. Jha C. B. Karyotype revealed 47,XXY chromosome (Klinefelter syndrome): a case report / C. B. Jha, S. Dhungel, D. Rai // Nepal Med. Coll. J. – 2007. – Vol. 9, № 3. – P. 215–221.
28. Acton Q. A. Azoospermia: New Insights for the Healthcare Professional / Q. A. Acton // 2012 Edition on the vast information databases of Scholarly News. – Scholarly Editions, 2012. – 15 p.
29. Lindgren I. Association between follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms and reproductive parameters in young men from the general population / I. Lindgren, A. Giwercaman, J. Axellson // Pharmacogenesis and Genomics. – 2012. – Vol. 22, № 9. – P. 667–672.
30. Behrouz Ghareesi-Fard. The frequency of follicle stimulating hormone receptor gene polymorphisms in Iranian infertile men with azoospermia / Ghareesi-Fard Behrouz, Zahra Ghasemi, Saeed Shakeri [et al.] // Iran J. Reprod. Med. – 2015. – Vol. 13, № 11. – P. 673–678.
31. Walker W. H. FSH and testosterone signaling in Sertoli cells / W. H. Walker, J. Cheng // Reproduction. – 2005. – № 130. – P. 15–28.
32. Foresta C. Suppression of the high endogenous levels of plasma FSH in infertile men are associated with improved Sertoli cell function as reflected by elevated levels of plasma inhibin B / C. Foresta, A. Bettella, D. Spolaore [et al.] // Hum Reprod. – 2004. – Vol. 19, № 6. – P. 1431–1437.
33. Everaert K. Long term effects of micro-surgical testicular sperm extraction on androgen status in patients with non obstructive azoospermia / K. Everaert, I. De Croo, W. Kerckhaert [et al.] // BMC Urol. – 2006. – № 20. – P. 6–9.
34. Sykiotis G. P. Congenital idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: evidence of defects in the hypothalamus, pituitary, and testes / G. P. Sykiotis, X. H. Hoang, M. Avbelj [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2010. – Vol. 95, № 6. – P. 3019–3027.
35. Frühmesser A. Chromosomal variants in klinefelter syndrome / A. Frühmesser, D. Kotzot // Sex Dev. – 2011. – Vol. 5, № 3. – P. 109–123. doi: 10.1159/000327324.

## References

1. Krausz C, Chianese C. Genetic testing and counselling for male infertility. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21:244.
2. Ferlin A, Arredi B, Foresta C. Genetic causes of male infertility. *Reproductive Toxicology.* 2006;22:133–41.
3. Schlegel PN. Causes of azoospermia and their management. *Reprod Fertil Dev.* 2004;16(5):561–72.
4. Tiseo BC, Hayden RP, Tanrikut C. Surgical management of nonobstructive azoospermia. *Asian Journal of Urology.* 2015;2(Iss.2):85–91.
5. Kumar R. Medical management of non-obstructive azoospermia. *Clinics.* 2013;68(Suppl.1):75.
6. Sadeghi-Nejad H, Farrokhi F. Genetics of azoospermia: current knowledge, clinical implications, and future directions. Part I. *Urol J.* 2006;3(4):193–203.
7. Baker K, Sabanegh EJr. Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results. *Clinics (Sao Paulo).* 2013;68(Suppl.1):61–73.
8. Ramasamy R, Ricci JA, Palermo GD, Gosden LV, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome. *J Urol.* 2009;182(3):1108–13.
9. Noordam MJ, Westerveld GH, Hovingh SE, van Daalen SK, Korver CM, van der Veen F., van Pelt AM, Repping S. Gene copy number reduction in the azoospermia factor c (AZFc) region and its effect on total motile sperm count. *Hum Mol Genet.* 2011;20:2457–63.
10. Poonthai J, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J.* 2009;50(4):336–47.
11. Tirkus MYa. Vnesok genetichnikh chinnikiv u strukturu idiopatchnogo neplidyya cholovikiv Zakhidnogo regionu Ukraïni [avtoref]. *Khark. nats. Un-t im. V. N. Karazina;* 2010. 20 s.
12. Fesay OA, Pampukha VM, Solovyov OO, Livshits LA. Molekulyarno-genetichniy analiz defektiv gena AZF Y khromosomi ta gena TRBM pri cholovichomu bezplidii. *Biopolimeri i klitina.* 2008;24(3):231–7.
13. Chernykh VB, Kurilo LF, Shileyko LV, Shirshova LS, Chukhrova AL, Kovalevskaya TS, Polyakov AV, i dr. Analiz mikrodeletsiy v lokuse AZF u muzhchin s besplodiyem: sovместnyy opyt issledovaniy. *Med. genetika.* 2003;2(8):367–79.



14. Lívshits' LA. Priroda, pokhodzhennya ta shlyakhi rozpovsyudzhennya mutatsiy, shcho sprichinyuyut' monogenni spadkoví zakhvoryuvannya [avtoref]. Ínstitut molekulyarnoï bíologíi í genetiki NAN Ukraïni; 2001. 28 s.
15. Makukh GV. Analíz mutatsiy gena CFTR (TRBM) u khvorikh visokogo riziku mukovístidozu íz Zakhídnogo regiónu Ukraïni [avtoref]. NAN Ukraïni. Ín-t klítin. bíologíi ta genet. Ínzheneríi; 2001. 16 s.
16. Veropotvelyan NP, Pogulyay YuS, Zhuravleva SA, Veropotvelyan PN, Kodunov LA. Analiz mikrodeletsiy v lokuse AZF u muzhchin s razlichnymi narusheniyami. Med. aspekty zdorov'ya muzhchiny. 2012;3(5):74–7.
17. Matsumoto AM, Snyder PJ, Bhasin S, Martin K, Weber T, Winters S, Spratt D, et al. Stimulation of spermatogenesis with recombinant human follicle-stimulating hormone (follitropin alfa; GONAL-f): long-term treatment in azoospermic men with hypogonadotropic hypogonadism. Fertility and Sterility. 2009;92(3):979–90.
18. Grigorova M, Punab M, Poolamets O. Increased Prevalance of the –211 T allele of follicle stimulating hormone (FSH) beta subunit promoter polymorphism and lower serum FSH in infertile men. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95:100.
19. Grigorova M, Punab M, Zilaitienė B. Genetically determined dosage of follicle-stimulating hormone (FSH) affects male reproductive parameters. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:1534.
20. Pengo M, Ferlin A, Arredi B, Ganz F, Selice R, Garolla A, Foresta C. FSH receptor gene polymorphisms in fertile and infertile Italian men. Reprod Biomed Online. 2006;13(6):795–800.
21. Zhylykova I, Feskov O, Fedota O. *FSHR* Gene polymorphisms causes male infertility. Open J Gen. 2016;6(1):1–8.
22. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization. 5<sup>th</sup> ed. Geneva; 2010. 286 p.
23. Zerova-Lyubimova TE, Gorovenko NG. Standarti analízu preparatívkhromosom lyudini (metodichní rekomendatsíi). Kíiv's'ka medichna akademiya pislyadiplomnoï osvítí ím. P.L. Shupika. K.; 2003. 52 s.
24. Shaffer KG, Slovak ML, Campbell LJ. ISCN 2009. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger; 2009. 138 p.
25. Atramentova LO, Utevs'ka OM. Statistichní metody v bíologíi: pídruch. dlya studentív bíolog. spets. vishchikh navch. zakladív. Khar'kov; 2007. 286 s.
26. O'leary MP, Baum NH, Bohnert WW, Blizzard R, Bonney WW, Cooper TP. American Urological Association Gallup survey: Physician practice patterns, cryosurgery/brachytherapy, male infertility, female urology and insurance/professional liability. J Urol. 2004;171:2363–8.
27. Jha CB, Dhungel S, Rai D. Karyotype revealed 47,XXY chromosome (Klinefelter syndrome): a case report. Nepal Med Coll J. 2007;9(3):215–21.
28. Acton QA. Azoospermia: New Insights for the Healthcare Professional. 2012 Edition on the vast information databases of ScholarlyNews. ScholarlyEditions; 2012. 15 p.
29. Lindgren I, Giwercaman A, Axellson J. Association between follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms and reproductive parameters in young men from the general population. Pharmacogenetics and Genomics. 2012;22(9):667–72.
30. Behrouz Ghareh-Sardi, Zahra Ghasemi, Saeed Shakeri, Shabnam Behdin, Fatemeh Aghaei, Zahra Malek-Hosseini. The frequency of follicle stimulating hormone receptor gene polymorphisms in Iranian infertile men with azoospermia. Iran J Reprod Med. 2015;13(11):673–8.
31. Walker WH, Cheng J. FSH and testosterone signaling in Sertoli cells. Reproduction. 2005;130:15–28.
32. Foresta C, Bettella A, Spolaore D, Merico M, Rossato M, Ferlin A. Suppression of the high endogenous levels of plasma FSH in infertile men are associated with improved Sertoli cell function as reflected by elevated levels of plasma inhibin B. Hum Reprod. 2004;19(6):1431–7.
33. Everaert K, De Croo I, Kerckhaert W, Dekuyper P, Dhont M, Van der Elst J, De Sutter P, et al. Long term effects of micro-surgical testicular sperm extraction on androgen status in patients with non obstructive azoospermia. BMC Urol. 2006;20:6–9.
34. Sykiotis GP, Hoang XH, Avbelj M, Hayes FJ, Thambundit A, Dwyer A. Congenital idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: evidence of defects in the hypothalamus, pituitary, and testes. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(6):3019–27.
35. Frühmesser A, Kotzot D. Chromosomal variants in klinefelter syndrome. Sex Dev. 2011;5(3):109–23. doi: 10.1159/000327324.

УДК 577.21:573.6:616.699-07(477)

### ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ G919A И A2039G ГЕНА *FSHR* У МУЖЧИН С ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ БЕСПЛОДИЯ

**Жилкова Е. С., Егунькова Е. В., Феськов А. М., Федота А. М.**

**Резюме.** Анализ генетических характеристик мужчин с различными формами азооспермий показал, что 7,3% пациентов – гетерозиготы по мутации delF508 гена *CFTR*, все имеют обструктивную форму. Аномалии кариотипа – 45,XY, rob(13; 21)(q10; q10), 46,XX, 47,XXY [18] / 46,XY [2]; 47,XXY – обнаружены у

12,2% больных. При секреторной форме азооспермии частота гомозигот GGAA, GGGG, AAAA в 1,8–3,2 раза выше теоретически ожидаемой. Частота гомозигот по аллелям дикого типа GGAA в 2,6 раза выше, чем в контроле. У мужчин с секреторной азооспермией выявлена прямая связь между количеством полиморфных аллелей по SNP G919A гена *FSHR* и уровнем фолликулостимулирующего гормона,  $r_s = 0,49$ . Уровень фолликулостимулирующего гормона у части больных с секреторной формой находится на верхней границе нормы или ее превышает –19,07–33,42 мМЕ/мл, при обструктивной форме – находится в пределах нормы. При обструктивной азооспермии фактическая частота гетерозигот GGGG, GAAG, AAAA в 2–5,1, раза выше ожидаемой, гомозигот GGAA не обнаружено.

**Ключевые слова:** азооспермия; ген *FSHR*; ФСГ; G919A; A2039G.

UDC 577.21:573.6:616.699-07(477)

**SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS G919A AND A2039G OF *FSHR* IN MALES WITH SEVERE FORMS OF INFERTILITY**

*Zhyilkova I., Yegunkova O., Feskov O., Fedota O.*

**Abstract.** The responsibility of male factor in couple's infertility has been exponentially raised recently due to comprehensive evaluation of reproductive male function and improved diagnostic equipment. Despite this improvement in diagnosis, azoospermia is always the most challenging topic associated with infertility treatment. Several conditions that interfere with spermatogenesis and reduce sperm production and quality can lead to azoospermia. Azoospermia may also occur because of a reproductive tract obstruction. Optimal management of patients with azoospermia requires a full understanding of the disease etiology. Chromosomal disorders are encountered at a higher frequency in the infertile compared with the fertile population. These chromosome alterations can currently be diagnosed in 15% of azoospermic and 5% of oligospermic men and represent one of the most common genetic defects in infertile men. Therefore, it is important that these men undergo genetic testing prior to the use of their sperm for ART.

*The aim* of the research was to investigate of polymorphic links of G919A and A2039G of *FSHR* with azoospermia in men.

*Materials and methods.* During 2012–2016 information and biological samples of 1637 men with decreased infertility were analyzed. Microscopic analysis of ejaculate with parameters of fertility according to WHO from 2010 was done.

*Results.* Analysis of genetic characteristics of men with various forms of azoospermia showed that 7.3% of patients were heterozygous for the *CFTR* gene mutations delF508 and all of them have obstructive form. Abnormalities in karyotype – 45, XY, rob(13; 21)(q10; q10), 46,XX, 47,XXY [18] / 46,XY [2]; 47,XXY – were found in 12.2% of patients. In the form of non-obstructive azoospermia the frequency of homozygotes GGAA, GGGG, AAAA is in 1.8–3.2 times higher than theoretically expected. The frequency of homozygous with wild type alleles GGAA is in 2.6 times higher than in controls. In men with non-obstructive azoospermia a direct correlation between the number of polymorphic alleles for the SNP G919A of *FSHR* gene and levels of follicle-stimulating hormone was found out, as  $r_s = 0,49$ . The level of FSH in some patients with non-obstructive form is on the upper limit or higher comparing with normal values –19,07–33,42 mIU/mL, and in obstructive form FSH level is in the normal range. For obstructive azoospermia the actual frequency of heterozygotes GGGG, GAAG, AAAA is in 2–5,1, times higher than expected. GGAA homozygotes were not found in group of men with obstructive azoospermia.

*Conclusion.* Thus, a precise diagnosis of azoospermia and systematic evaluation of the patient to establish the disease etiology is necessary to establish appropriate management options and to determine the associated cost benefits, risks and prognosis for treatment success. Clinicians should also provide adequate counseling for the couple and generous support for patients with severe male factor infertility.

**Keywords:** azoospermia; *FSHR* gene; FSH; G919A; A2039G.

Стаття надійшла 03.03.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування