

**ТИРКУС М. Я.**

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»,

Україна, 79008, м. Львів, вул. Лисенка 31-а, ORCID: 0009-0006-9353-4707, e-mail: marta\_t@ukr.net

**ДОСЛІДЖЕННЯ РОЛІ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ G919A ТА A2039G  
ГЕНА РЕЦЕПТОРА ФОЛІКУЛОСТИМУЛЮЮЧОГО ГОРМОНУ *FSHR*  
В ГЕНЕЗІ ЧОЛОВІЧОГО НЕПЛІДДЯ**

**Мета.** Встановити розподіл генотипів поліморфних варіантів G919A і A2039G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* серед чоловіків з азооспермією. **Методи.** Виділення та очищення ДНК проводили методом висолування. Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* проводили, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції. Для ідентифікації поліморфних варіантів гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* застосовували метод рестрикційного аналізу продуктів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) відповідних послідовностей. Електрофорез продуктів ПЛР проводили в 2 % агарозному гелі. **Результати.** Враховуючи, що ідіопатичне непліддя в переважній більшості зумовлене генетичними чинниками, видавалось необхідним проведення комплексу цито- та молекулярно-генетичних досліджень у групі чоловіків з азооспермією. Верифіковано генетичну компоненту у 28 осіб з азооспермією, що становить 40 %. Проведено молекулярно-генетичні дослідження та встановлено розподіл генотипів поліморфних варіантів A919G і A2039G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* серед чоловіків з азооспермією. **Висновки.** Встановлено дещо вищу частоту гомозиготних генотипів GG поліморфних варіантів A919G і A2039G рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* серед чоловіків з азооспермією у порівнянні з групою фертильних чоловіків.

**Ключові слова:** азооспермія, ген рецептора *FSHR*, ідіопатичне непліддя, молекулярно-генетичне дослідження, фолікулостимулюючий гормон.

Приблизно у п'яти відсотків чоловіків репродуктивного віку спостерігаються різноманітні відхилення кількісних або якісних показників сперми, які призводять до непліддя. Близько третини таких випадків відносять до ідіопатичного непліддя, причини виникнення якого до кінця не з'ясовані. Згідно з сучасними даними,

ідіопатичне непліддя у чоловіків значною мірою (на 30–50 %) зумовлене генетичними чинниками, серед яких виділяють кількісні та структурні порушення хромосом, мікрodelеції Y хромосоми [1], а також функціональні дефекти білків, що виникають внаслідок мутацій цілої низки генів, серед яких провідне місце займають мутації гена трансмембранного регуляторного білка муковісцидозу [2]. До цього слід додати потребу врахування особливостей генетичної структури окремих популяцій, яка передбачає певні відмінності в розподілі генетичних маркерів схильності до чоловічого непліддя [3].

Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) – глікопротеїдний гонадотропний гормон, що синтезується базофільними клітинами передньої долі гіпофіза. До настання статевої зрілості рівень ФСГ в крові низький. Під час статевого дозрівання починається циклічна секреція гонадотропінів, яка запускає розвиток статевих залоз і секрецію статевих гормонів. Регуляція секреції ФСГ здійснюється переважно гонадоліберином гіпоталамуса, статевими гормонами й інгібіном. У чоловіків ФСГ впливає на розвиток насінних каналців, збільшує концентрацію тестостерону, стимулює утворення і дозрівання сперми в яєчках і сприяє продукції андрогензв'язуючого білка. Після статевого дозрівання рівень ФСГ у чоловіків відносно постійний [4].

Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) – складається з двох субодиниць  $\alpha$  та  $\beta$ .  $\alpha$ -субодиниця складається з 92 амінокислот і ідентична у лютеїнізуючого гормону (ЛГ), хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) та тиреотропного гормону (ТТГ).  $\beta$ -субодиниця складається з 111 амінокислот специфічних для ФСГ і визначає його біологічну дію та відповідає за взаємодію з рецептором ФСГ. Крім білкової частини, до складу глікопротеїду також входять фруктоза, галлактоза, галактозамін, глюкозамін та саліцилова кислота, остання дуже важлива для біологічного розпаду ФСГ. Гени, що кодують  $\alpha$

© ТИРКУС М. Я.

і  $\beta$  субодиниці ФСГ розташовуються в різних хромосомах (6p21.1-23 та 11p13 відповідно) [5].

ФСГ посилює вироблення андрогензв'язуючого білка клітинами Сертолі яєчок шляхом зв'язування з рецепторами ФСГ на їх базолатеральних мембранах і має вирішальне значення для ініціації сперматогенезу. У чоловіків ФСГ стимулює сперматогенез як незалежно від тестостерону, так і за механізмом, який частково збігається з тестостероном. Сперматогенез відбувається на стадіях проліферації та дозрівання, що вимагає аутокринних, паракринних та ендокринних стимулів, які гарантуються як ФСГ, так і тестостероном [6].

Провідна роль ФСГ у сперматогенезі наступна: визначення кількості клітин Сертолі, сперматогоніальна проліферація, а також метаболічна та структурна підтримка, стимуляція мейотичної прогресії до стадії сперматид, метаболізм і транспорт поживних речовин до статевих клітин. Залежна від дози концентрація ФСГ сперматозоїдів і покращення загальної кількості сперматозоїдів були описані в мета-аналізі [7]. Згідно з даними авторів, чим вища доза ФСГ використовувалася, тим більшим було збільшення виробництва сперми. Таким чином, дані свідчать про те, що високі дози ФСГ можуть бути корисними для стимуляції клітин Сертолі, забезпечуючи сильнішу підтримку проліферації та дозрівання зародкових клітин.

Цей ефект узгоджується зі знанням про те, що ФСГ діє на ранніх стадіях сперматогенезу, і припускає, що стимуляція, необхідна для отримання тривалого поліпшення кінцевого продукту, тобто сперматозоїдів, повинна охоплювати більше ніж один сперматогенний цикл. Нарешті, кінцева точка для оцінки ефективності ФСГ залишається складною.

Нещодавні дослідження підтвердили ефективність ФСГ у покращенні параметрів сперми та/або частоти вагітності у пацієнтів з нормогонадотропним олігозооспермічним безпліддям. Крім того, терапія ФСГ перед АРТ довела свою ефективність у збільшенні частоти настання вагітності та частоти запліднення у пацієнтів із зупинкою дозрівання сперматозоїдів і у пацієнтів із азооспермією, які пройшли тестикулярну екстракцію сперми (TESE) [8, 9]. У деяких дослідженнях також повідомлялося про зниження швидкості фрагментації ДНК сперми у пацієнтів, які отримували ФСГ [10], що свідчить про те, що ця терапія може покращити якість сперми, а також концентрацію сперми.

Сучасні методи репродуктивної медицини дають змогу отримати сперматозоїди у чоловіків із азооспермією шляхом стимуляції сперматогенезу шляхом гормональної терапії та подальшого хірургічного втручання. Таким чином, актуальним є прогнозування ефекту гормональної стимуляції сперматогенезу. Перед початком стимуляції у чоловіків з азооспермією важливо оцінити загальний рівень тестостерону та фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) [11]. Але 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 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 A919G (Ala307Thr) і A2039G (Asn680Ser), розташованими у 10 екзоні гена *FSHR*, з гормональним статусом чоловіків з порушеннями фертильності суперечливі. Також, показано зв'язок однонуклеотидних поліморфізмів A919G і A2039G гена *FSHR* з підвищеним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів чоловіків, який у гомозигот за поліморфними алелями склав 36,5–39,3 %.

Тому, метою цієї роботи було встановити асоціацію поліморфних варіантів A919G і A2039G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* з порушенням сперматогенезу у чоловіків.

### Матеріали і методи

Обстеженню підлягало 70 чоловіків, які звернулися у Львівський міжобласний медико-генетичний центр з діагнозом чоловіче непліддя та порушенням процесів сперматогенезу, а саме азооспермією (відсутність сперматозоїдів у еякуляті). Вік пацієнтів склав 25–43 роки. Всі обстежувані чоловіки мали багаторічне непліддя незрозумілого генезу, а показники спермограми практично не піддавалися корекції. У якості контролю сформовано групу 20 чоловіків, у яких двоє і більше дітей, без репродуктивних порушень в анамнезі та випадків ЕКЗ.

Всім особам досліджуваної групи з лейкоцитів периферійної крові проводили виділення та очищення ДНК методом висолювання [12]

для подальших молекулярно-генетичних досліджень.

Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* проводили, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія). Специфічність ПЛР-продуктів визначали послідовністю специфічних праймерів, температурою відпау та складом реакційного буфера.

Наявність гена *SRY* та мікрodelеції *AZF* регіону *Y* хромосоми визначали за допомогою двох мультилокусної ПЛР, у кожній із яких ампліфікували фрагменти трьох *AZF* (*AZFa*, *AZFb* та *AZFc*) регіонів та гена *SRY*. Досліджували мікрodelеції *Y* хромосоми *AZF* регіону в наступних STS локусах: *sY14*, *sY84*, *sY86*, *sY127*, *sY134*, *sY254*, *sY255* [1].

Молекулярно-генетичні дослідження часткових *AZFc* регіону проводили в наступних STS локусах: *sY1161*, *sY1191*, *sY1201*, *sY1206*, *sY1291* за допомогою двох мультилокусних реакцій для вище вказаних STS локусів [3].

Для ідентифікації мутацій гена *TPBM* застосовували метод рестрикційного аналізу продуктів ПЛР відповідних послідовностей [2].

Для ідентифікації поліморфних варіантів *A919G* (*AhdI*) та *A2039G* (*BsrI*) гена *FSHR* застосовували метод рестрикційного аналізу продуктів ПЛР відповідних послідовностей [4]. У роботі використовували ендонуклеази рестрикції *AhdI* та *BsrI* виробництва фірми «Fermentas» (Вільнюс).

Електрофорез тотальної ДНК та продуктів ПЛР проводили в 2 % агарозному гелі в камері для горизонтального електрофорезу «MGU-202T». Для розділення продуктів ПЛР з малою молекулярною вагою проводили електрофорез ДНК у 10 % поліакриламідному гелі, приготованому на трис-боратному буфері в камері для вертикального електрофорезу «HELICON».

Електрофореграми сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі «ECX-15.M». Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин і на основі цього детектували розміри отриманих фрагментів. Результати сканування гелів знімали цифровою камерою «Gel Imager» через червоний світлофільтр на ультрафіолетовому транслюмінаторі при довжині хвилі 256 нм. Обробку зображень здійснювали на комп'ютері за допомогою програм Adobe Photoshop CS та Gel Explorer 2.0.

## Результати та обговорення

Враховуючи, що ідіопатичне непліддя в переважній більшості зумовлене генетичними чинниками, видавалось необхідним проведення комплексу цито- та молекулярно-генетичних досліджень у групі неплідних чоловіків. З відомих генетичних передумов непліддя загально-визнаними є зміни в каріотипі, які проявляються у вигляді кількісних чи структурних порушень хромосом. Причиною генетично зумовлених порушень будови та функціонування чоловічої статеві сфери дуже часто є зміни в *Y* хромосомі. Ще однією відомою причиною генетично детермінованого чоловічого непліддя, пов'язаного з вродженим дво- або одностороннім порушеннями прохідності або відсутністю сім'явивідних протоків є мутації гена *TPBM*, які призводять до ізольованої генітальної форми муковісцидозу.

Цитогенетичні дослідження проводили за допомогою аналізу GTG- та CBG – диференційно забарвлених препаратів метафазних хромосом, отриманих з культури лімфоцитів периферійної крові. Отримані результати засвідчили, що у 12 (17,1 %) осіб встановлені аномалії каріотипу, а саме дисомії по *X* хромосомі (каріотип 47,XXY), дисомії по *Y* хромосомі (каріотип 47, XYY), делецію довгого плеча *Y* хромосоми (46,Xdel(Y)(q11)[23]/45) та робертсонівську транслокацію (45,XY,der(13;14)(q10;q10).

З метою з'ясування частоти мікрodelецій *AZF* регіону *Y* хромосоми серед чоловіків з аспермією проводили молекулярно-генетичні дослідження мікрodelецій *AZF* регіону та гена *SRY* *Y*-хромосоми. Для даного дослідження проводили дві мультилокусні реакції для трьох *AZF* регіонів та контрольного фрагмента гена *SRY*. Мультилокусна реакція А дозволяє аналізувати наступні локуси: *SRY*(472 п.н.), *sY254* (400 п. н.), *sY86* (320 п. н.), *sY127* (274 п. н.). Мультилокусна реакція В дозволяє аналізувати локуси *SRY* (472 п. н.), *sY84* (326 п. н.), *sY134* (301 п. н.), *sY255* (126 п. н.).

Спектр мікрodelецій *AZF* регіону *Y* хромосоми у групі неплідних чоловіків – всього 7 випадків (10 %), є наступним: мікрodelеції субрегіону *AZFa* (*sY84*, *sY86*), мікрodelеції субрегіону *AZFb* (*sY127*, *sY134*), мікрodelеції субрегіонів *AZF(b+c)* (*sY127*, *sY134*, *sY254*, *sY255*) та мікрodelеції субрегіону *AZFc* (*sY254*, *sY255*).

Також, з досліджувальної групи осіб з аспермією було виключено 6 осіб з частковими

делеціями AZFc регіону Y-хромосоми різного спектра – gr/gr, b2/b3, b1/b3.

Оскільки для гена *ТРБМ* характерним є значний генетичний поліморфізм, наступним етапом дослідження було проведення молекулярно-генетичного аналізу гена *ТРБМ*. Для вибору спектра мутацій, які ввійшли в панель молекулярно-генетичного дослідження мутацій гена *ТРБМ* чоловіків з підозрою на атипову форму муковісцидозу, увійшли мутації поширені серед хворих на МВ в Західному регіоні України та мутації, характерні для *CFTR*-related disorders (атипової форми МВ). У результаті сукупного молекулярно-генетичного та клінічного аналізу у 3 осіб (4,2 %) верифіковано чоловіче неплоддя, зумовлене мутаціями гена *ТРБМ* – генітальну форму МВ.

Назагал, верифіковано генетичну компоненту у 28 осіб з аспермією, що становить 40 %.

У чоловічому організмі фолікулостимулюючий гормон контролює розвиток і функції сім'яних канальців, особливо сперматогенез. Для даного обстеження відібрано чоловіків з азооспермією, без порушень каріотипу, мікроделецій AZF регіону Y хромосоми, часткових делецій AZFc регіону Y-хромосоми та мутацій гена *ТРБМ*. Таким чином, для подальших досліджень сформована вибірка у кількості 42 осіб. У

якості контролю сформовано групу 20 чоловіків, у яких двоє і більше дітей, без репродуктивних порушень в анамнезі та випадків ЕКЗ.

Проведено молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів A919G (AhdI) гена *FSHR* у 42 чоловіків з порушенням сперматогенезу. Досліджувані варіанти гена: A919G (заміна нуклеотиду аденіну на гуанін в некодуєчій ділянці гену). У результаті ПЛП реакції синтезуються A919G генотипи: GG-генотип 577 п. н., 403 п. н., 174 п. н.; GA-генотип 577 п. н., 403 п. н., 174 п. н. та 143 п. н.; AA-577 п. н., 403 п. н., 143 п. н. відповідно. Електрофореграму молекулярно-генетичного дослідження поліморфізму A919G наведено на рис. 1.

У результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу та подальших статистичних обрахунків між досліджуваною групою чоловіків з порушенням сперматогенезу та контрольною групами встановлено, що відмінності у співвідношенні генотипів/алелів A919G (AhdI) гена *FSHR* статистично вірогідних значень ( $p > 0,05$ ), як і показники відношення шансів OR. Обчислені показники відношення шансів у досліджуваних групах залежно від комбінації генотипів/алелів локусу A919G (AhdI) гена *FSHR* наведено у табл. 1.

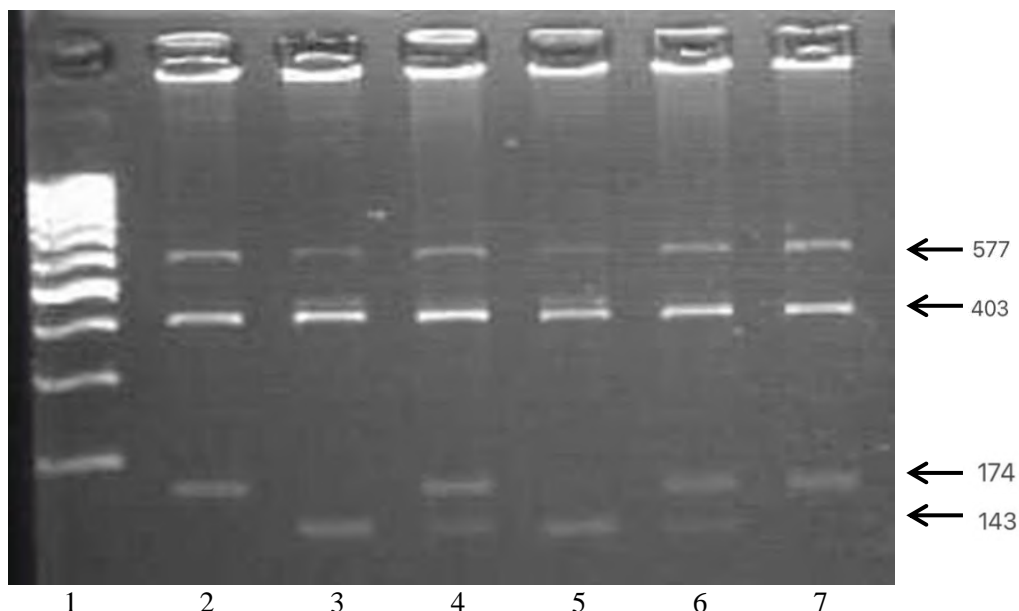


Рис. 1. Електрофореграма рестрикційного аналізу продуктів ПЛП поліморфізму A919G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* (2% агарозний гель): 1 – маркери молекулярної ваги; 4, 6 – AG-генотип; 3, 5, – GG-генотип. 2, 7 – AA-генотип.

Таблиця 1. Частота генотипів/алелів поліморфного локусу A919G гена *FSHR* у досліджуваних групах

Генотипи/алелі <i>FSHR</i> A919G (AhdI)	Частота, %		$\chi^2$	p	OR	
	Дослідна група, n = 42	Контрольна група, n = 20			знач.	95% CI
GG	0,286	0,15	1,71	0,42	2,26	0,56 – 9,17
GA	0,357	0,50			0,55	0,18 – 1,63
AA	0,357	0,35			0,38	0,12 – 1,23
G	0,464	0,40	0,45	0,50	1,30	0,60 – 2,79
A	0,536	0,60				

Примітки: n – кількість осіб, P – значимість відмінностей між контрольною і дослідною групами, OR (odds ratio) – коефіцієнт відношення шансів.

Як свідчать результати, наведені на табл. 1, серед осіб дослідницької групи (чоловіки з азооспермією) у 28,6 % виявлено гомозиготний генотип GG поліморфізму A919G (Ala307Thr) гена рецептора *FSHR*, у контрольній групі частота цього генотипу становить 15 %, що у двічі нижче.

Проведено молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів A2039G (BsrI) гена *FSHR* у 42 чоловіків з порушенням сперматогенезу. Досліджувані варіанти гена: A2039G (заміна нуклеотиду аденіну на гуанін в некодуєчій ділянці гена). В результаті ПЛП реакції синтезуються A2039G генотипи: GG-генотип 217 п. н. та 88 п. н.; GA-генотип 305 п. н., 217 п. н. та 88 п. н.; AA-305 п. н. відповідно. Електрофореграму молекулярно-генетичного дослідження поліморфізму A2039G наведено на рис. 2.

У результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу та подальших статистичних обчислень між досліджуваною групою чоловіків з порушенням сперматогенезу та контрольною групами встановлено, що відмінності у співвідношенні генотипів/алелів A2039G (BsrI) гена *FSHR* статистично вірогідних значень ( $p > 0,05$ ), як і показники відношення шансів OR. Обчислені показники відношення шансів у досліджуваних групах залежно від комбінації генотипів/алелів локусу A2039G (BsrI) гена *FSHR* наведено у табл. 2.

Як свідчать результати, наведені на табл. 2, серед осіб дослідницької групи у 23,8 % виявлено гомозиготний генотип GG поліморфізму A2039G (Asn680Ser) гена рецептора *FSHR*, у контрольній групі частота цього генотипу становить 15 %, що є дещо нижчою.

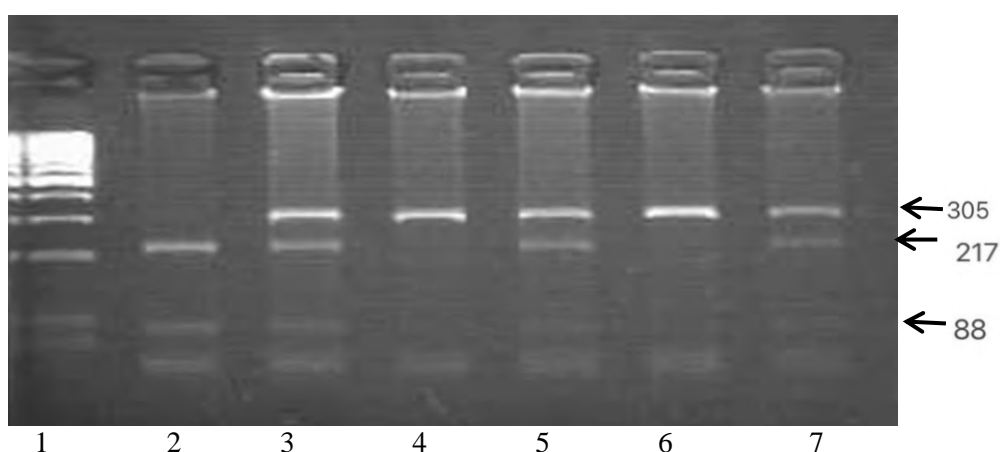


Рис. 2. Електрофореграма рестрикційного аналізу продуктів ПЛП поліморфізму A2039G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* (2 % агарозний гель): 1 – маркери молекулярної ваги; 3, 5, 7 – AG-генотип; 2 – GG-генотип. 4, 6 – AA-генотип.

Таблиця 2. Частота генотипів/алелів поліморфного локусу A2039G гена *FSHR* у досліджуваних групах

Генотипи/алелі <i>FSHR</i> A2039G (BsrI)	Частота, %		$\chi^2$	P	OR	
	Дослідна група, n = 42	Контрольна група, n = 20			знач.	95% CI
GG	0,238	0,15	1,68	0,43	1,77	0,42 – 3,71
GA	0,333	0,50			0,50	0,16 – 1,48
AA	0,429	0,35			1,39	0,46 – 4,19
G	0,405	0,40	0,003	0,96	1,02	0,47 – 2,72
A	0,595	0,60				

Примітки: n – кількість осіб, P – значимість відмінностей між контрольною і дослідною групами, OR (odds ratio) – коефіцієнт відношення шансів.

Відповідно до сучасних уявлень про стратегії лікування чоловічого непліддя, стимуляція сперматогенезу гормональними препаратами не завжди дає позитивний результат. Існує припущення, що це може бути пов'язано з алельним поліморфізмом генів, що кодують гормони або рецептори гормонів, залучених в процесі сперматогенезу, таких як однонуклеотидні поліморфізми A919G (Ala307Thr) та A2039G (Asn680Ser) фолікулостимулюючого гормону *FSHR*, який визначає рецептори до ФСГ, розташовані на поверхні клітин яєчників і тестикул. Також встановлено зв'язок однонуклеотидних поліморфізмів A919G і A2039G гена *FSHR* з підвищеним рівнем фрагментації ДНК сперматозоїдів чоловіків, який у гомозигот за поліморфними алелями склав 36,5-39,3 %.

Таким чином, дослідження цих поліморфізмів може бути корисним у виборі пацієнтів-кандидатів для лікування ФСГ і для пояснення деяких випадків відсутності відповіді на терапію.

### Висновки

1. Серед осіб дослідницької групи проведено комплекс цито- та молекулярно-генетичних досліджень найвагоміших генетичних чинників порушення сперматогенезу.

2. Верифіковано генетичну компоненту у 28 осіб з азооспермією, що становить 40 %.

3. Проведено молекулярно-генетичні дослідження та встановлено розподіл генотипів поліморфних варіантів A919G і A2039G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* серед чоловіків з ідіопатичним непліддям.

4. Встановлено значно вищу частоту гомозиготних генотипів GG поліморфних варіантів A919G і A2039G гена рецептора фолікулостимулюючого гормону *FSHR* серед чоловіків з азооспермією у порівнянні з групою фертильних чоловіків.

### References

- Krausz C, Hoefsloot L., Simoni M., Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014. Vol. 2 (1). P. 5–19. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00173.x.
- Dequeker E., Stuhmann M., Morris M. A. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders – updated European recommendations. *European Journal of Human Genetics*. 2009. Vol. 17. P. 51–65. doi: 10.1038/ejhg.2008.136.
- Digumarthi V. S., Sudhakar, Rupin Shah, Rahul K. Gajbhiye. Genetics of Male Infertility – Present and Future: A Narrative Review. *J Hum Reprod Sci*. 2021. Vol. 14 (3). P 217–227. doi: 10.4103/jhrs.jhrs\_115\_21.
- Ghahesi-Fard B., Ghasemi Z., Shakeri S., Behdin S., Aghaei F., Malek-Hosseini Z. The frequency of follicle stimulating hormone receptor gene polymorphisms in Iranian infertile men with azoospermia. *Iran J Reprod Med*. 2016. Vol. 13 (11). P. 673–678.
- Zheng J., Mao J., Cui M., Liu Z., Wang X., Xiong S., Min Nie., Xueyan Wu Novel FSHbeta mutation in a male patient with isolated FSH deficiency and infertility. *Eur J Med Genet*. 2017. Vol. 60. P. 335–339. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.04.004.
- Barbonetti A., Calogero A. E., Balercia G. The use of follicle stimulating hormone (FSH) for the treatment of the infertile man: position statement from the Italian Society of Andrology and Sexual Medicine (SIAMS). *J Endocrinol Invest*. 2018. Vol. 41. P. 1107–1122. doi: 10.1007/s40618-018-0843-y.

7. Stanton P. G. Regulation of the blood-testis barrier. *Semin Cell Dev Biol.* 2016. Vol. 59. P. 166–173. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.06.018.
8. Cannarella R., La Vignera S., Condorelli R. A., Mongioi L. M., Calogero A. E. FSH dosage effect on conventional sperm parameters: a meta-analysis of randomized controlled studies. *Asian J Androl.* 2020. Vol. 22 (3). P. 309–316. doi: 10.4103/aja.aja\_42\_19.
9. Cocci A., Cito G., Russo G. I., Capece M., Falcone M., Timpano M., Effectiveness of highly purified urofollitropin treatment in patients with idiopathic azoospermia before testicular sperm extraction. *Urologia.* 2018. Vol. 85. P. 19–21. doi: 10.5301/uj.5000253.
10. Zhylkova I., Feskov O., Fedota O. FSHR Gene Polymorphisms Causes Male Infertility. *Open Journal of Genetics.* 2016. Vol. 6, № 1. P. 1–8. doi: 10.4236/ojgen.2016.61001.
11. Garolla A, Ghezzi M, Cosci I, Sartini B., Bottacin A., Engl B., Andrea Di Nisio., Foresta C. FSH treatment in infertile males candidate to assisted reproduction improved sperm DNA fragmentation and pregnancy rate. *Endocrine.* 2017. Vol. 56. P. 416–425. doi: 10.1007/s12020-016-1037-z.
12. Method for separation of DNA from leucocytes of peripheral human blood: patent: 32044 Ukraine : G01N33/49. № u200801896 ; application: 14.02.2008 ; published: 25.04.2008, Bull. № 8.

## TYRKUS M.

*Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences,  
Ukraine, 79000, Lviv, Lysenko str. 31-a*

### STUDY OF THE ROLE OF POLYMORPHIC VARIANTS G919A AND A2039G OF THE FOLLICLE STIMULATING HORMONE RECEPTOR GENE *FSHR* IN THE GENESIS OF MALE INFERTILITY

**Aim.** To determine the distribution of genotypes of polymorphic variants G919A and A2039G of the gene *FSHR* (follicle-stimulating hormone receptor) among men with azoospermia. **Methods.** DNA from peripheral blood leukocytes was isolated and purification using a modified salting out method. Extracted DNA was amplified by Polymerase chain reaction (PCR). The PCR products were subsequently digested with the restriction enzyme for identify polymorphic variants of the follicle-stimulating hormone receptor gene *FSHR*. Electrophoresis of PCR products was performed in a 2 % agarose gel. **Results.** Given that idiopathic infertility is overwhelmingly caused by genetic factors, it seemed necessary to conduct a set of cytological and molecular genetic studies in a group of men with azoospermia. The genetic component was verified in 28 men with azoospermia, which is 40 % of all subjects. Molecular genetic studies were performed and the distribution of genotypes of polymorphic variants A919G and A2039G of the *FSHR* gene among men with azoospermia was determined. **Conclusions.** A slightly higher frequency of homozygous genotypes GG of polymorphic variants A919G and A2039G of the follicle stimulating hormone receptor gene *FSHR* was found among men with azoospermia compared to the group of fertile men.

**Keywords:** azoospermia, receptor gene *FSHR*, idiopathic infertility, molecular genetic research, follicle-stimulating hormone.