

## ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЛЕЦИОННОЙ МУТАЦИИ 2bp del ГЕНА FSHB СРЕДИ МУЖЧИН С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

Д. С. Иргашев<sup>1</sup>, Ш. С. Гасанова<sup>1</sup>, К. Т. Бобоев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>СП ООО «Doctor-D-IVF», Ташкент,

<sup>2</sup>Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии, Ташкент, Узбекистан

**Ключевые слова:** мужское бесплодие, полиморфизма 2bp del гена FSHB, фолликулостимулирующий гормон, олигоазооспермия.

**Tayanch so'zlar:** erkaklar bepustligi, FSHB genining 2bp del polimorfizmi, follikulani ogohlantiruvchi gormon, oligoazospermiya.

**Key words:** male infertility, 2bp del polymorphism of the FSHB gene, follicle-stimulating hormone, oligoazoospermia.

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) относится к гонадотропинам, играющим важную роль в репродукции человека. К настоящему времени в гене FSHB выявлено достаточно много полиморфизмов и мутационных изменений, которые оказывают значительное влияние на половое развитие и на уровень ФСГ в крови. Проведен анализ роли полиморфизма 2bp del гена FSHB в формировании мужского бесплодия. Исследование проведено на выборках из 140 пациентов с различными клиническими формами мужского бесплодия и 155 условно-здоровых фертильных мужчин. Полученные результаты показали, что выявленный негативный эффект гетерозиготного варианта p.Val79GlufsTer27 гена FSHB на развитие азооспермии согласуется с концепцией, подтверждающей наличие ассоциативных связей между аллельным вариантом 2bp del с развитием мужского бесплодия.

## REPRODUKTIV BUZILISHLARI BO'LGAN ERKAKLARDA FSHB GENI 2bp del DELETION MUTASIYASINI O'RGANISH

D. S. Irgashev<sup>1</sup>, Sh. S. Gasanova<sup>1</sup>, K. T. Boboev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>QK MChJ "Doctor-D-IVF", Toshkent,

<sup>2</sup>Respublika ixtisoslashtirilgan ilmiy-amaliy Gematologiya tibbiyot markazi, Toshkent, O'zbekiston

Follikulani ogohlantiruvchi gormon (FSH) insonning ko'payishida muhim rol o'ynaydigan gonadotropindir. Bugungi kunga qadar FSHB genida ko'plab polimorfizmlar va mutatsiyali o'zgarishlar aniqlangan, ular jinsiy rivojlanishga va qondagi FSH darajasiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi. FSHB genining 2bp del polimorfizmining erkaklar bepustligi rivojlanishidagi o'rni tahlil qilindi. Tadqiqot erkaklar bepustligining turli klinik shakllariga ega bo'lgan 140 nafar bemor va 155 shartli sog'lom fertil erkaklar namunasi bo'yicha o'tkazildi. Olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, FSHB genining p.Val79GlufsTer27 geterozigota variantining azospermiya rivojlanishiga aniqlangan salbiy ta'siri erkaklarning bepustligi rivojlanishi bilan 2bp del allel varianti o'rtasida assotsiativ aloqalar mavjudligini tasdiqlovchi kontseptsiyaga mos keladi.

## STUDY OF THE 2bp del DELETION MUTATION OF THE FSHB GENE AMONG MEN WITH REPRODUCTIVE SYSTEM DISORDERS

D. S. Irgashev<sup>1</sup>, Sh. S. Gasanova<sup>1</sup>, K. T. Boboev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>JV LLC "Doctor-D-IVF", Tashkent,

<sup>2</sup>Republican specialized scientific and practical medical center of hematology, Tashkent, Uzbekistan

Follicle-stimulating hormone (FSH) is a gonadotropin that plays an important role in human reproduction. To date, a lot of polymorphisms and mutational changes have been identified in the FSHB gene, which have a significant impact on sexual development and on the level of FSH in the blood. The role of the 2bp del polymorphism of the FSHB gene in the development of male infertility was analyzed. The study was conducted on a sample of 140 patients with various clinical forms of male infertility and 155 conditionally healthy fertile men. The obtained results showed that the revealed negative effect of the heterozygous variant p.Val79GlufsTer27 of the FSHB gene on the development of azoospermia is consistent with the concept confirming the presence of associative links between the 2bp del allelic variant with the development of male infertility.

**Актуальность.** Как известно, фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), наряду с лютеинизирующим гормоном (ЛГ) и хорионическим гонадотропином (ХГЧ), относится к гонадотропинам, играющим важную роль в репродукции человека. ФСГ является регулятором формирования и работоспособности семенных канатиков, а также, выработки сперматозоидов в мужских половых железах (яичках). Недостаточность ФСГ в организме у мужчин формирует патологический процесс – олигоазооспермию, при нормальном уровне концентрации тестостерона в крови.

К настоящему времени в гене FSHB выявлено достаточно много полиморфизмов и мутационных изменений, которые оказывают значительное влияние на половое развитие и на

уровень ФСГ в крови [3, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 14.].

Нами был проведен поиск генетической мутации (делеции) 2bp del, rs5030646 гена FSHB, ассоциированной с недостаточностью ФСГ и соответственно, с нарушением фертильной системы мужчин.

Данная делеция возникает во второй и третьей нуклеотидных последовательностях экзона 3 в гене FSHB (2bp del) и передается аутосомно-рецессивным путем. Вследствие данной мутации изменяется последовательность аминокислотных кодонов с 61 по 86 - GTG (val) на GAG (glu) с последующим преждевременным стоп-кодоном и развитием олигоазоспермии [1, 2, 5, 8, 12].

**Цель работы.** Оценка роли полиморфизма 2bp del гена FSHB в формировании мужского бесплодия.

**Материалы и методы.** В исследование включены 140 мужчин с бесплодием. Из них: 35 (25,0 %) составили пациенты с азооспермией, 105 (75,5 %) - пациенты без азооспермии. В контрольную группу включили 155 фертильных мужчин.

Генотипирование полиморфного локуса 2bp del гена FSHB осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RotorGene Q, Quagen, Германия), предварительно выделив геномной ДНК из образцов крови с помощью набора реагентов «Рибо-преп» («ИнтерЛабСервис», Россия). Анализ ассоциаций данного локуса был проведен при помощи сравнения двух выборок по типу «случай-контроль».

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакет программы OpenEpi V.9.2. Оценка отклонения распределений генотипов локуса 2bp del гена FSHB от распределения Харди–Вайнберга проводилась с использованием модифицированного критерия хи-квадрат Пирсона. Расчет данных производились с использованием онлайн-программы «Hardy –Weinberg equilibrium calculator».

**Результаты и обсуждение.** Из исследованных 140 пациентов с мужским бесплодием и 155 здоровых контроля мутационный вариант встречался только в гетерозиготном состоянии у 1 мужчин (0,7 %) в подгруппе пациентов с азооспермией (2,9 %). При этом следует отметить, что у пациентов были обнаружены делеции в гене AZF типа sY1192 (AZFc), неспецифические хромосомные изменения: обструкция семявыносящего протока и слабо-выраженный гипогонадизм. Не исключено, что бесплодие в данном случае также может быть связано с этими генетическими изменениями.

Гомозиготный генотип 2631TGdel, Val61del2bp/87Ter гена FSHB в исследованной группе и в подгруппах пациентов не был выявлен.

Аллельная частота данной мутации в общей группе пациентов с мужским бесплодием оказалась крайне низкой и составила 0,005 (таблица 1, рис. 1,2). Эти данные свидетельствуют о крайне низкой частоте фактически выявленных гетерозигот, и соответственно о низком уровне гетерозиготности данного локуса в нашей популяции. К настоящему времени отсутствуют достоверные данные о негативном эффекте гетерозиготного генотипа 2bp del, rs5030646 гена FSHB в отношении развития нарушения репродуктивной функции у мужчин.

К настоящему времени о данной мутации сообщалось в четырех исследованиях, в которых она была обнаружена, в общей сложности у четырех пациентов с дефицитом ФСГ, в том числе у трех пациентов в гомозиготном варианте [Matthews et al., 1993; Matthews et al. 1997; Phillip et al. 1998] и в одном случае в сложном гетерозиготном состоянии [Layman et

Таблица 1.

**Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма 2bp del в гене FSHB в группах пациентов и контроля (rs5030646).**

Группа	Частота распределения:									
	аллелей				генотипов					
	TG		del-TG		TG/TG		TG/del-TG		del-TG/del-TG	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Основная группа, n=140	279	99,6	1	0,3	139	99,3	1	0,7	0	-
С азооспермией, n=35	68	97,1	2	2,9	34	97,1	1	2,9	0	-
Без азооспермии, n=105	210	100,0	0	-	105	100,0	0	-	0	-
Контрольная группа, n=155	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-

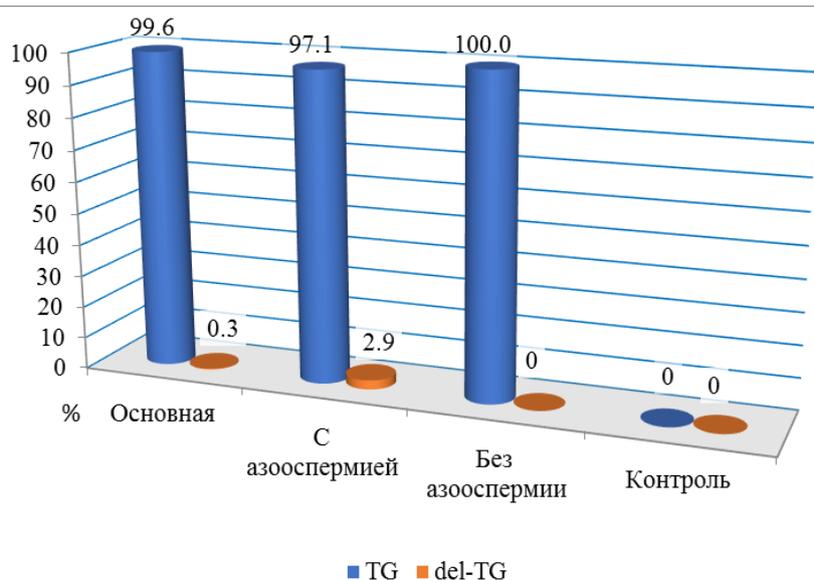


Рис. 1. Частота распределения аллелей полиморфизма 2bp del в гене FSHB в группах пациентов и контроля (rs5030646).

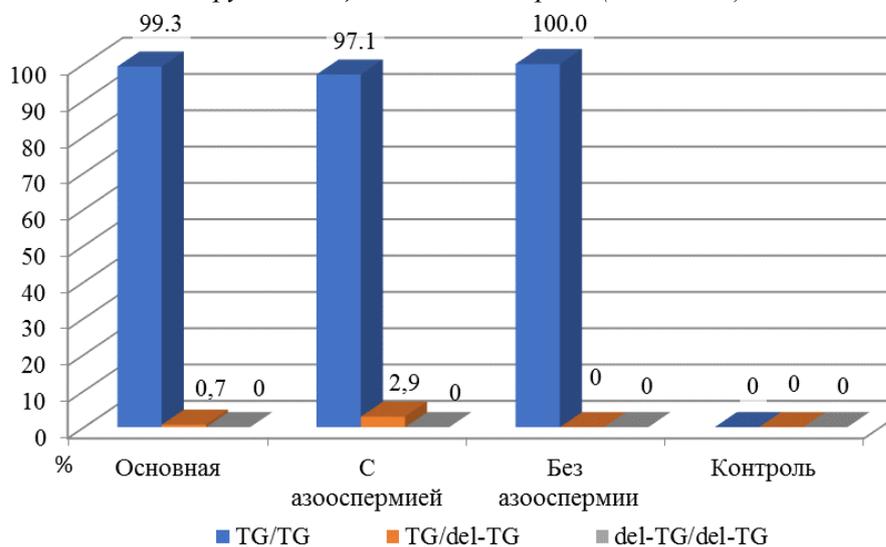


Рис. 2. Распределение генотипов полиморфизма 2bp del в гене FSHB в группах пациентов и контроля (rs5030646).

al. 1997]. Авторы Nagirnaja, L., et al., (2010) назвали данную мутацию- 2631TGdel, Val61del2bp/87Ter в гене FSHB. Также известно, что вариант 2bp del присутствовал у шести здоровых членов семьи в гетерозиготном состоянии [Matthews et al., 1993; Layman et al., 1997; Phillip et al., 1998]. На основании коллективных данных вариант p.Val79GlufsTer27 классифицируется как патогенный для изолированного дефицита ФСГ. Этот вариант наблюдался ICSL как часть скрининга предрасположенности в якобы здоровой популяции.

Впервые гомозиготный тип делеции 2bp del гена FSHB идентифицирован Matthews et al. (1993) у итальянских и израильских женщин с первичной аменореей с изолированного дефицита ФСГ [Matthews et al (1997)]. При этом, у 18-летней дочери пациента и ее сестры был выявлен гетерозиготный вариант делеции 2bp del. Однако, у обеих женщин выявлены нормальные уровни ФСГ в сыворотке крови и регулярные менструальные циклы. Кроме того, у сестры пациентки было 3 нормальные беременности, что свидетельствует о том, что у гетерозиготных носителей данной мутации, репродуктивная функция не нарушена.

Среди мужчин данная мутация в гомозиготном варианте выявлена у 18-летнего пациента с гипогонадизмом с изолированным дефицитом ФСГ Phillip et al. (1998). При этом, его условно-здоровые родители и брат были гетерозиготными носителями по делеции.

К настоящему времени на основании этих данных, вариант p.Val79GlufsTer27 гена FSHB классифицируется как патологический для изолированного дефицита ФСГ.

Таким образом, выявленный нами негативный эффект гетерозиготного варианта p.Val79GlufsTer27 гена FSHB на развитие азооспермии согласуется с концепцией, подтверждающей наличие ассоциативных связей между аллельным вариантом 2bp del с развитием мужского бесплодия. Исследование на наличие данной делеции, несмотря на низкую частоту её выявления, может быть применено в клинической практике репродуктологии, в частности, в ранней точной диагностике азооспермии, а также, при оптимизации стратегии лечения и для подбора программ ВРТ.

**Использованная литература:**

1. Bhartiya D, Patel H. An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. *J Ovarian Res.* 2021 Oct 30;14(1):144.
2. Phillip M., Arbelle J.E., Segev Y., Parvari R. Male hypogonadism due to a mutation in the gene for the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *N. Engl. J. Med.* 1998;338:1729–1732.
3. Zhang J, Tang SY, Zhu XB, Li P, Lu JQ, Cong JS, Wang LB, Zhang F, Li Z. Whole exome sequencing and trio analysis to broaden the variant spectrum of genes in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Asian J Androl.* 2021 May-Jun;23(3):288-293.
4. Bhartiya, D., Patel, H. An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. *J Ovarian Res* 14, 144 (2021).
5. Gohil A, Eugster EA. Delayed and Precocious Puberty: Genetic Underpinnings and Treatments. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2020 Dec;49(4):741-757.
6. K. D. Kokoreva, I. S. Chugunov, O. B. Bezlepina. (2021) Molecular genetics and phenotypic features of congenital isolated hypogonadotropic hypogonadism. *Problems of Endocrinology* 67:4, 46-56.
7. Layman L.C., Lee E.J., Peak D.B., Nannoum A.B., Vu K.V., van Lingen B.L., Gray M.R., McDonough P.G., Reindollar R.H., Jameson J.L. Delayed puberty and hypogonadism caused by mutations in the follicle-stimulating hormone beta-subunit gene. *N. Engl. J. Med.* 1997;337:607–611.
8. Layman LC, Porto AL, Xie J, da Motta LA, da Motta LD, Weiser W, Sluss PM. FSH beta gene mutations in a female with partial breast development and a male sibling with normal puberty and azoospermia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Aug;87(8):3702-7.
9. Lundin K, Sepponen K, Väyrynen P, Liu X, Yohannes DA, Survila M, Ghimire B, Käsäkoski J, Katayama S, Partanen J, Vuoristo S, Paloviita P, Rahman N, Raivio T, Lairo K, Huhtaniemi I, Varjosalo M, Tuuri T, Tapanainen JS. Human pluripotent stem cell-derived cells endogenously expressing follicle-stimulating hormone receptors: modeling the function of an inactivating receptor mutation. *Mol Hum Reprod.* 2022 Apr 29;28(5):gaac012.
10. Matthews C, Chatterjee VK. Isolated deficiency of follicle-stimulating hormone re-revisited. *N Engl J Med.* 1997 Aug 28;337(9):642.
11. Matthews C.H., Borgato S., Beck-Peccoz P., Adams M., Tone Y., Gambino G., Casagrande S., Tedeschini G., Benedetti A., Chatterjee V.K. Primary amenorrhoea and infertility due to a mutation in the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *Nat. Genet.* 1993;5:83–86.
12. Nagirnaja, L., Rull, K., Uuskula, L., Hallast, P., Grigorova, M., Laan, M. Genomics and genetics of gonadotropin beta-subunit genes: unique FSHB and duplicated LHB/CGB loci. *Molec. Cell. Endocr.* 329: 4-16, 2010.
13. Shah W, Khan R, Shah B, Khan A, Dil S, Liu W, Wen J, Jiang X. The Molecular Mechanism of Sex Hormones on Sertoli Cell Development and Proliferation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021 Jul 23;12:648141.
14. Siegel ET, Kim HG, Nishimoto HK, Layman LC. The molecular basis of impaired follicle-stimulating hormone action: evidence from human mutations and mouse models. *Reprod Sci.* 2013 Mar;20(3):211-33.