

4. David M., Hirsch M., Karin J. et al. An estimate of fetal autonomic state by time-frequency analysis of fetal heart rate variability. *J Appl Physiol.* – 2007. - № 102(3). – P. 1057-1064.
5. Ortiz M. R., Echeverria J.C., Alvarez-Ramirez J. et al. Effects of fetal respiratory movements on the short-term fractal properties of heart rate variability. *Med Biol Eng Comput.* – 2013. - № 51(4). – P. 441-448.
6. Clifford G., Sameni R., Ward J. et al. Clinically accurate fetal ECG parameters acquired from maternal abdominal sensors. *Am J Obstet Gynecol.* – 2011. - 205:47.e1-47.e5.
7. Karvounis E. C., Tsiouras M. G., Papaloukas C. et al. A non-invasive methodology for fetal monitoring during pregnancy. *Methods Inf Med.* – 2010. - № 49(3). - P. 238-253.
8. Oudijk M.A., Kwee A., Visser G. H.A. et al. The effects of intrapartum hypoxia on the fetal QT interval. *BJOG: an International Journal of Obstetrics and Gynaecology.* – 2004. - № 111. – P. 656-660.
9. Rzepka R., Torbe A., Kwiatkowski S. et al. Clinical Outcomes of High-risk Labours Monitored Using Fetal Electrocardiography. *Ann. Acad. Med. Singapore.* – 2010. - № 39. – P. 27-32.
10. Van Leeuwen P., Lange S., Klein A. et al. Dependency of magnetocardiographically determined fetal cardiac time intervals on gestational age, gender and postnatal biometrics in healthy pregnancies. *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2004. - № 4(1). - P.6-16.
11. Silva I., Behar J., Sameni R. et al. Noninvasive Fetal ECG: the PhysioNet/Computing in Cardiology Challenge 2013. *Computing in Cardiology.* – 2013. - № 40. – P.149-152.
12. Hladunewich M., Karumanchi S. A., Lafayette R. Pathophysiology of the Clinical Manifestations of Preeclampsia. *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2007. - №2. - P. 543-549.

УДК 618.111-008:612.621.31:575.113

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА И ФУНКЦИЯ ЯИЧНИКОВ

ГЮЛЬМАМЕДОВА И.Д., РОССОХА З.И., ТРОФИМОВА Е.А.,
ГЮЛЬМАМЕДОВА Е.А.

г. Донецк, г. Киев

ФСГ играет значительную роль в фолликулогенезе, связываясь со своими рецепторами, расположенными на поверхности клеток гранулезы. Рецептор ФСГ (рФСГ) принадлежит к семейству рецепторов, связанных с протеинами G, и включает внеклеточный, трансмембранный и внутриклеточный домен. Ген рФСГ расположен на 2 хромосоме и состоит из 10 экзонов и 8 интронов: девять первых экзонов кодируют экстрацеллюлярные домены, а десятый кодирует внутриклеточный и трансмембранный домен.

Учитывая роль ФСГ в фолликулогенезе, исследование мутации генов его рецептора проводилось у пациенток с наследственными (семейными) формами синдрома преждевременного истощения яичников. Были выявлены редкие мутации, первая из которых описана в 1995 году Aittomaki у финских женщин с первичной аменореей и атрофичными яичниками – это мутация утраты функции Ala189Val [12]. Позже были описаны другие инактивирующие мутации, иногда с менее тяжелым фенотипом: вторичная аменорея у пациенток с яичниками нормальных размеров, с наличием фолликулов, достигающих размеров антральных [3, 5, 7]. На сегодняшний день не описано ни одной мутации, активирующей гены рФСГ у женщин.

Секвенирование генома человека расширило знание о полиморфизме гена рФСГ. В 10 экзоне локализуются следующие варианты полиморфизма: трансмембранный домен в позиции 307 может быть занят аланином или треонином; интраклеточный домен в позиции 680 может быть занят аспарагином или серином. В результате возможны 4 аллельные позиции: Thr307-Asn680 (аллель TN); Ala307-Ser680 (аллель AS); Ala307-Asn680 (аллель AN); Thr307-Ser 680 (аллель TN).

Нормальные полиморфные варианты не приводят к нарушению функции рецепторов. На практике их функциональная активность варьирует и изучена *in vitro* [10]. Не выявлено достоверной разницы в биоактивности и сродстве к лигандам между вариантами Thr307-Asn680 (аллель TN) и Ala307-Ser680 (аллель AS), которые встречаются наиболее часто. В некоторых случаях возможны незначительные нарушения функции.

Изучена частота различных полиморфизмов гена рФСГ на уровне 10 экзона у пациенток с нормальным овуляторным циклом. У этих пациенток генотип чаще всего представлен в виде двух комбинаций Thr307-Asn680 (аллель TN) и Ala307-Ser680 (аллель AS) (60 и 40% соответственно), хотя возможны и другие аллельные комбинации Ala307-Asn680 (аллель AN) и Thr307-Ser 680 (аллель TN), однако они наблюдаются значительно реже (<5%). Нельзя забывать, что на их частоту влияет этническая принадлежность изучаемой группы женщин [8].

В позиции 680 возможны 3 аллельные комбинации (табл.).

Таблица

Полиморфные варианты в кодоне 680

Аллельный вариант	Полиморфный вариант	Частота
Asn	Asn/Asn	23-43%
Asn		
Asn	Asn/Ser	45-61%
Ser		
Ser	Ser/Ser	13-21%
Ser		

Выявление полиморфизма гена рФСГ в позиции 680 сделало актуальным вопрос взаимосвязи генотипа с функцией яичников. Существует ли корреляция между генотипом и параметрами менструального цикла? В случае первичной недостаточности яичников, существуют ли специфические аллельные варианты гена рФСГ? Существует ли преобладание каких-либо аллельных вариантов у ановуляторных пациенток (в частности, у женщин с СПКЯ) по сравнению с нормоовуляторными? В случае контролируемой овариальной стимуляции (КОС) зависит ли ответ яичников от генотипа?

Изучение уровня ФСГ в начале менструального цикла у пациенток с ановуляторными циклами позволило выявить его достоверное повышение у гомозиготных пациенток по Ser в 680 позиции по сравнению с овулирующими женщинами [8, 16]. Эти данные говорят о том, что генотип Ser/Ser может привести к резистентности средней степени рецепторов к эндогенному ФСГ. В других работах показано, что у пациенток с уровнем ФСГ > 10 I/I чаще выявляли генотипы Ser/Ser и Asn/Ser [18].

Командой ученых выполнен детализированный анализ менструального цикла у пациенток с овуляторными циклами и различными полиморфными вариантами рФСГ (9 пациенток Ser/Ser и 12 пациенток Asn/Asn) [1]. Выявлено, что и в первую, и во вторую фазу у пациенток Asn/Asn по сравнению с пациентками Ser/Ser уровень прогестерона, эстрадиола и ингибина А был достоверно выше, тогда как на протяжении всей фолликулярной фазы концентрация ФСГ была достоверно выше у пациенток Ser/Ser. Этим можно объяснить необходимость более высокой концентрации ФСГ, чтобы у пациенток Ser/Ser получить рост фолликула. Число антральных фолликулов было достоверно выше у пациенток Ser/Ser (22,6 и 17,8 соответственно), что объясняется длительной экспозицией у них повышенного

уровня ФСГ. Таким образом, генотип Ser680/Ser680 связан с повышением порога чувствительности яичников к ФСГ, снижением отрицательной обратной связи в лютеиновую фазу, удлинением менструального цикла.

В связи с существованием семейных форм первичной яичниковой недостаточности высказана гипотеза о генетическом генезе этой проблемы. Одним из возможных кандидатов стал ген рФСГ: были выявлены различные редкие мутации этого гена, и многочисленные команды научных исследователей искали взаимосвязь между полиморфизмом гена рФСГ и первичной яичниковой недостаточностью. Однако результаты проведенных исследований не подтверждают существование взаимосвязи между различными полиморфными вариантами гена рФСГ и первичной яичниковой недостаточностью [4, 13, 18]. Поскольку все эти исследования проведены на очень маленьком статистическом материале: от 16 до 49 пациенток с первичной яичниковой недостаточностью, вопрос остается открытым.

Не менее интересными направлениями исследований является связь между полиморфизмом гена рФСГ и возрастом менопаузы, а также СПКЯ.

Tong [4] и G.S.Conway [13] выявили одинаковое распределение полиморфизмов у пациенток с СПКЯ и нормоовуляторных женщин, однако разница была выявлена в более поздних работах, выполненных на меньшем статистическом материале. Так, S. Sudo [8] выявил более высокую частоту вариант Asn/Ser у 18 пациенток с СПКЯ по сравнению с 168 пациентками контрольной группы (66,7 и 43,5% соответственно), а в работе Laven [6] более высокая частота генотипа Ser/Ser у пациенток с СПКЯ (35 и 16% соответственно).

Таким образом, частота различных видов полиморфных вариантов гена рФСГ у пациенток с СПКЯ различна в разных исследованиях. Разность результатов можно объяснить недостаточным количеством обследованных пациенток и тем, что в разных исследованиях определение СПКЯ различно.

Итак, чувствительность к ФСГ зависит от полиморфизма гена рФСГ, что необходимо учитывать при КОС. В 2000 г. Perez Mayorga показал, что для получения равных уровней концентрации E2 носители генотипа Ser/ Ser нуждаются в более высоких дозах ФСГ по сравнению с пациентками Asn/Asn [14], число преовуляторных фолликулов и полученных ооцитов было эквивалентно в обеих группах. Эти данные были подтверждены в работе японских исследователей [8], которые показали, что уровень E2 на полученный ооцит достоверно ниже в группе Ser/ Ser, тогда как общий пик E2 не имел достоверных различий в группах.

В ретроспективном анализе De Castro F. [9] подтверждена гипотеза о том, что полиморфизм Ser/ Ser сопровождается снижением чувствительности к ФСГ. В этой работе процент плохих ответчиков (≤ 3 фолликула) и число аннулированных циклов IVF в 2-3 раза выше в группе Ser/ Ser по сравнению с другими группами.

Было проведено проспективное рандомизированное исследование в группе пациенток с КОС в программе IVF [17]. Путем рандомизации пациентки Ser/ Ser были разделены на 2 группы: пациентки первой получали 150 ЕД ФСГ ежедневно; второй – 225 ЕД. Пациентки Asn/Asn получали 150 ЕД ФСГ. В день назначения хорионического гонадотропина у пациенток Ser/ Ser, получающих 150 ЕД ФСГ, уровень E2 был достоверно ниже по сравнению с пациентками Asn/Asn, но эта разница не сопровождалась уменьшением числа фолликулов, полученных на пункцию ооцитов, эмбрионов, частоты наступления беременности. Интересен тот факт, что у пациенток Ser/ Ser, получавших 225 ЕД в день, уровень E2 был сопоставим с таковым у пациенток Asn/Asn, получавших 150 ЕД ФСГ в сутки.

В работе G. Livshyts и соавт. [2] обследовано 102 женщины с дисфункцией яичников, моложе 40 лет, с задержками менструаций более 6 месяцев и ФСГ > 25 МЕ. Группу «бедных ответчиков» составили 39 нормогонадотропных пациенток моложе 40 лет, ФСГ в пределах нормы (1-9,6 МЕ/л; при трансвагинальном УЗИ число антральных фолликулов в каждом яичнике < 4, при КОС у этих пациенток было < 4 фолликулов и / или ооцитов. Результаты данного исследования показали достоверное преобладание генотипа Ala307-Ser680 у этих пациенток.

В работе B. Sever [11] обследованы женщины 21 и 39 лет, которые были разделены на две группы: фертильные и бесплодные пациентки, а группа с бесплодием была разделены на две подгруппы: хорошие и плохие ответчики. В группе хороших ответчиков частота гомозиготного генотипа (A / A) для полиморфизма Thr307Ala была значительно реже ($p =$

0,013), а в групі плохих відповідей частота гетерозигот поліморфізму Ser680Asn була значно вищою ($p = 0,031$). Оскільки в контрольній групі також була виявлена висока частота гомозиготних генотипів, не можна зробити висновок про те, що гомозиготний генотип цих поліморфізмів характерний для жінок з низьким овариальним відкликом. Тому для підтвердження отриманих результатів необхідні подвійні, рандомізовані, контролювані проспективні дослідження.

Що стосується ризику розвитку синдрому гіперстимуляції яєчників (СГЯ) важкої ступені, то можна передбачити більш низьку частоту цього небезпечного ускладнення у пацієнток Ser/Ser. Однак недавні дослідження свідчать про більш високу частоту генотипу Ser/Ser у пацієнток з СГЯ [17]. В той же час варіант Asn680 поєднується з більш важким перебігом СГЯ. Хоча вивчення генотипу не дозволяє прогнозувати розвиток СГЯ, воно дає можливість передбачати тяжкість цієї патології [15].

Отже, сьогодні доведено зв'язок між генотипом rФСГ та відкликом яєчників на КОС, зокрема більш низької чутливості пацієнток Ser/Ser до ФСГ. Це стосується, зокрема, кількості необхідних для КОС одиниць ФСГ, а також рівня Е2. Однак вплив поліморфізму на частоту запліднення та частоту настання вагітності не доведено.

Висновки

1. Рівень ФСГ на початку менструального циклу достовірно вищий у пацієнток, у яких ген rФСГ гомозиготний по серину в позиції 680 у овулюючих та ановуляторних пацієнток. Для цих жінок характерно також подовження менструального циклу.
2. Не існує зв'язку між поліморфізмом гену rФСГ в позиції 680 та первинною яєчковою недостатністю.
3. Частота різних видів поліморфних варіантів гену rФСГ у пацієнток з СПКЯ відрізняється в різних дослідженнях. Різниця результатів можна пояснити недостатньою кількістю досліджуваних пацієнток, а також тим, що в різних дослідженнях різні критерії визначення СПКЯ.
4. Існують рідкі алелі поліморфізму гену rФСГ (Val341Ala та др). Однак ці варіанти пацієнтки досліджуються дуже рідко. Чим рідше зустрічається поліморфізм, тим більшу частину популяції необхідно дослідити для виявлення його ефектів.
5. Поліморфізм rФСГ в позиції 307 та 680 – один з важливих генетичних тестів, які мають практичне застосування в лікуванні безпліддя, так як дозволяють прогнозувати поріг чутливості та відповідь яєчників на ФСГ.
6. Необхідно проведення досліджень для оцінки ризику розвитку СГЯ залежно від виду поліморфізму рецепторів ФСГ.

ЛІТЕРАТУРА

1. A Common Single Nucleotide Polymorphism in Exon 10 of the Human Follicle Stimulating Hormone Receptor Is a Major Determinant of Length and Hormonal Dynamics of the Menstrual Cycle / Greb R.R., Grieshaber K., Gromoll J. [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. – 2005. – Vol. 90. – P. 4866-4872.
2. A distribution of two SNPs in exon 10 of the FSHR gene among the women with a diminished ovarian reserve in Ukraine / Livshyts G., Podlesnaja S., Kravchenko S. [et al.] // J Assist Reprod Genet. – 2009. – Vol. 26. – P. 29-34.
3. A novel phenotype related to partial loss of function mutations of the follicle stimulating hormone receptor / Beau I., Touraine P., Meduri G. [et al.] // J Clin Invest. – 1998 – Vol. 102. – P. 1352-1359.
4. Absence of mutations in the coding regions of follicle-stimulating hormone receptor gene in Singapore Chinese women with premature ovarian failure and polycystic ovary

- syndrome / [Tong Y., Liao W.X., Roy A.C., Ng S.C.] // *Horm Metab.Res.* – 2001. – Vol. 33. – P. 221-226.
5. Christin-Maitre S. Genes de l’ovaire / S. Christin-Maitre // *Gynecol Obstet Fertil.* – 2002. – Vol. 30. – P. 827-830.
 6. Follicle stimulating hormone receptor polymorphism in women with normogonadotropic anovulatory infertility / Laven J.S., Mulders A.G., Suryandary D.A. [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2003. – Vol. 80. – P. 986-992.
 7. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphism and ovarian function / Theron-Gerard L., Pasquier M., Czernichow C. [et al.] // *Gynecol Obstet Fertil.* – 2007. – Vol. 35 (2). – P. 135-141.
 8. Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene / Sudo S., Kudo M., Wada S. [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 2002. – Vol. 8. – P. 893-899.
 9. Human controlled ovarian hyperstimulation outcome is a polygenic trait / De Castro F., Moron F.J., Montoro L. [et al.] // *Pharmacogenetics.* – 2004. – Vol. 14. – P. 285-293.
 10. Isoforms and single nucleotide polymorphisms of the FSH receptor gene: implication for human reproduction / Simoni M., Nieschlag E., Gromoll J. // *Hum.Reprod Update.* – 2002. – Vol. 8. – P. 413-421.
 11. Leblebici Comparison of FSH Receptor Polymorphisms Between Infertile and Fertile Women / Severa B., Simsek M., Erman Akarb M. [et al.] // *Biomedical Research.* – 2014. – Vol. 25 (1). – P. 121-126.
 12. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor genes causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure / Aittomaki K., Lucena J.L, Pakarinen P. [et al.] // *Cell.* – 1995. – Vol. 82. – P. 959-968.
 13. Mutation screening and isoform prevalence of the follicle stimulating hormone receptor gene in women with premature ovarian failure, resistant ovary syndrome and polycystic ovary syndrome / Conway G.S., Conway E., Walker C. [et al.] // *Clin.Endocrinol.* – 1999. – Vol. 51. – P. 97-99.
 14. Ovarian response to follicle –stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype / Peres Mayorga M., Gromoll J., Behre H.M. [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2000. – Vol. 85. – P. 3365-3369.
 15. Prediction of severity of symptoms in iatrogenic ovarian hyperstimulation syndrome by follicle-stimulating hormone receptor Ser680 Asn polymorphism / Daelemans C., Smits G., de Maertelaer V. [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 6310-6315.
 16. Screening of FSH receptor gene in Argentine women with premature ovarian failure (POF) / Sundblad V., Chiauzzi V.A., Escobar M.E. [et al.] // *Mol Cell Endocrinol.* – 2004. – Vol. 222. – P. 53-59.
 17. Significance of a common single nucleotide polymorphism in exon ten of follicle stimulating hormone (FSH) receptor gene for the ovarian response to FSH: a pharmacogenetic approach to controlled ovarian hyperstimulation / Behre H.M., Greb R., Mempel A. [et al.] // *Pharmacogenetic Genomics.* – 2005. – Vol. 15. – P. 451-456.
 18. The distribution of FSH receptor isoforms is related to basal FSH levels in subfertile women with normal menstrual cycles / De Koning C.H., Benjamins T., Harms P. [et al.] // *Hum.reprod.* – 2006. – Vol. 21. – P. 443-446.