

Г.Б. ЛІВШИЦЬ^{1,2}, С.А. КРАВЧЕНКО¹,
П.Ф. ТАТАРСЬКИЙ¹, І.А. СУДОМА³, Л.А. ЛІВШИЦЬ^{1,2}

¹ Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,
Київ, вул. Акад. Заболотного, 150
E-mail: livshits@imbg.org.ua

² Науковий центр радіаційної медицини,
АМН України, Київ

³ Клініка «НАДІЯ», Київ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПОРУШЕНЬ ПРИРОДНОЇ ТА СТИМУЛЬОВАНОЇ ОВУЛЯЦІЇ



Метою дослідження було вивчення асоціації мутацій в генах *FMR1*, *INHA1*, *NAT2*, *GSTT1*, *GSTM1* з функціональним резервом яєчників, а також відповіддю яєчників на стимуляцію овуляції гонадотропіном в групах жінок з клінічним діагнозом передчасне виснаження яєчників (ПВЯ) та «поганих відповідачів». В групі пацієнток з ПВЯ та «поганих відповідачів» у 1,6 та 2,5 % відповідно спостерігали як мутацію 769G→A гена *INHA1*, так і алель високого ризику гена *FMR1*. Даний генотип не було виявлено в контрольній групі. Частота делецій в гені *GSTM1* у групі «поганих відповідачів» була статистично достовірно вище ($p = 0,01$), ніж в контрольній. Частота зустрічальності мутантного генотипа Ser680Ser-Ala307Ala (22,2 %) була статистично вище ($p = 0,028$), ніж в контрольній групі (7,7 %). Денна доза гонадотропіна у жінок з алелями ризику гена *FMR1* та пацієнтів з генотипами «повільних ацетиляторів» гена *NAT2* була статистично достовірно вище, ніж у індивідів з нормальними алелями гена *FMR1* та пацієнтів з генотипом «швидкого ацетилятора» гена *NAT2*. Кількість ооцитів, отриманих після стимуляції, у жінок з мутацією Ala257Thr гена *INHA1* була статистично вище, ніж у пацієнтів без мутації. Подальші дослідження даних генів важливі для вивчення функціонального резерву яєчників та модуляції індивідуальної відповіді яєчників на екзогенний гонадотропін.

© Г.Б. ЛІВШИЦЬ, С.А. КРАВЧЕНКО, П.Ф. ТАТАРСЬКИЙ,
І.А. СУДОМА, Л.А. ЛІВШИЦЬ, 2008

Вступ. Згідно з даними МОЗ України близько 10–25 % подружніх пар в нашій країні страждають на безпліддя. Встановлено, що частота жіночого безпліддя становить 60 %, чоловічого – 40 %.

Допоміжні репродуктивні технології широко використовуються у лікуванні безпліддя, тому актуальними є проблеми відповіді яєчників на стимуляцію гонадотропіном. Адекватна відповідь означає нормальну функцію яєчників, або так званий «резерв яєчників». З іншого боку ця відповідь може бути пов'язана з особливостями індивідуальної чутливості до екзогенного гонадотропіна, який використовується для стимуляції овуляції. На сьогоднішній день широко проводяться дослідження генетичних чинників, що обумовлюють ці фактори. За попередніми оцінками передбачається, що приблизно в 50 % випадків причиною безпліддя є генетичні фактори.

Одним з найбільш розповсюджених порушень гаметогенезу у жінок є передчасне виснаження яєчників (ПВЯ). Встановлено, що на цю патологію страждає близько 1–3 % жінок репродуктивного віку [1].

ПВЯ, або синдром виснажених яєчників (СВЯ), який проявляється як вторинна аменорея, з'являється у жінок молодше 40 років та супроводжується підвищеним рівнем гонадотропінів, дефіцитом статевих стероїдів та безпліддям [2, 3]. В структурі первинної аменореї ПВЯ складає 10–28 %. У жінок з вторинною аменореєю ПВЯ зустрічається з частотою 4–18 % [4, 5].

Найбільш частими причинами виникнення ПВЯ є аномалії X-хромосоми, а також ятрогенні фактори, такі як хірургічні втручання, хіміо- та радіотерапія [6]. Але більше половини каріотипічно нормальних спонтанних випадків ПВЯ залишаються нез'ясованими. Можна очікувати, що причиною таких «ідіоматичних» випадків є генетичні ушкодження або аутоімунні процеси.

Наявність родинних випадків ПВЯ може свідчити про роль генетичних ушкоджень в його патогенезі. За попередніми даними у 50 % випадків причиною ПВЯ є саме генетичні фактори. Хоча генетичні дефекти найчастіше спостерігаються в X-хромосомі, було повідомлено, що значну роль у розвитку ПВЯ відіграють аутосомальні порушення (таблиця) [7].

Встановлено, що синдром ламкої X-хромо-

соми, який є однією з найбільш поширених форм розумової відсталості, зумовлюється експансією тринуклеотидних (CGG) повторів в першому екзоні гена FMR1 (Xq27.3). «Премутаційні» алелі визначаються як такі, що протягом декількох поколінь можуть перетворитися на повну мутацію – CGG-ділянка, яка містить понад 200 тринуклеотидних повторів. В свою чергу розмір «премутаційних» алелів варіює в діапазоні від 50 до 200 CGG-повторів. Було показано, що премутаційні алелі частіше спостерігаються у жінок з ПВЯ, ніж в загальній популяції. Також було показано, що приблизно в 3 % спорадичних випадків і в 13 % сімейних випадків пацієнтки з ПВЯ мали премутацію [8].

Фоллікулостимулюючий гормон (ФСГ) та його рецептор (ФСГР) залучені до регуляції резерву яєчників, оскільки їх основною фізіологічною функцією в яєчниках є стимуляція дозрівання фолікулів, а також стимуляція про-

дукції естрогенів гранульозними клітинами. ФСГ використовується в лікуванні безпліддя з 1975 р., з тих пір, як з'явилися повідомлення про індукцію овуляції екстрактами з клітин людини [9]. На сьогодні клінічне використання препаратів рекомбінантного ФСГ в лікуванні безплідності реалізується в стабільному зростанні живо народжених дітей [10]. Доза ФСГ, яка вводиться пацієнту, визначається декількома факторами, які, в принципі, і зумовлюють відповідь на стимуляцію (в разі її проведення), а також основним рівнем фізіологічного ФСГ. Нещодавно рецептор ФСГ сфокусував на собі увагу як один із факторів, який може бути пов'язаний або безпосередньо залучений до зменшення резерву яєчників. Теоретично мутації в ФСГ-рецепторі можуть призводити до неточної передачі гормонального сигналу, що, в свою чергу, призведе до зменшення резерву яєчників. За результатами нещодавно проведених досліджень було встановлено, що в ФСГ-рецепторі, окрім мутацій, виявляють ще й так звані «нормальні варіанти» – поліморфізми ФСГ-рецептора [11]. Два таких поліморфізми локалізовані в 10-му екзоні гена в позиціях 307 (Ala/Thr) та 680 (Asn/Ser) [12, 13].

В зв'язку з тим, що глікопротеїн інгібін залучений до негативного контролю рівня ФСГ, у жінок його вважають потенційним кандидатом у розвитку ПВЯ. Інгібін структурно входить до суперродини (TGF)- β – групи мультифункціональних факторів росту та диференціації. Субодиниці інгібіну кодуються трьома різними генами – $INH\alpha$, $INH\alpha A$ та $INH\beta B$, які картовані в 2q33-qter, 2cen-ql3 та 7p15-p14 регіонах відповідно [14].

Таким чином, цілком логічно, що мутації в генах різних субодиниць інгібіну, які спричинюють зменшення рівня біоактивного інгібіну, можуть, в свою чергу, викликати підвищення концентрації ФСГ за принципом негативної регуляції, що призводить до первинного виснаження фолікулів і в результаті до ПВЯ.

Як вже зазначалось вище, відповідь яєчників на введення екзогенних гонадотропнів пов'язана, з одного боку, з резервом яєчників, а з другого – з індивідуальною чутливістю метаболізувати екзогенний гонадотропін. Поліморфні варіанти ферментів, які задіяні в метаболізмі ксенобіотиків, можуть бути маркерами

Гени, що залучені до патогенезу ПВЯ

Гени	Розташування гена
Мутації ідентифіковані	
Гени, локалізовані в X-хромосомі	
FMR1	Xq27.3
FMR2	Xq28
BMP15	Xp11.2
Аутосомальні гени	
FOXL2	3q22-q23
FSHR	2p21-p16
LH receptor	2p21
FSH- β variant	11p23
LH- β variant	19q13.32
Inhibin A	2q33-q36
GALT	9p13
AIRE	21q22.3
EIF2B2,-4,-5	14q24.3,2p23.3,3q27 17q27
NOGGIN	17q22
Мутації неідентифіковані	
Гени, локалізовані в X-хромосомі	
POLG	15q25
AT2	Xq22-q23
c-kit	4q12
Аутосомальні гени	
SOX3	Xq26-q27
MIS	19p13.3-13.2

фармакологічної чутливості, тому вивчення індивідуальної чутливості до токсинів та взаємодії геному і навколишнього середовища є важливим компонентом молекулярної епідеміології. Одним з таких ферментів є арил-N-ацетилтрансферази (NAT). NAT є ферментом метаболізму ксенобіотиків, відповідальним за N-ацетилювання ариламінів. Вони є також важливими для O-ацетилювання N-гідроксильованих гетероциклічних амінів. Ці ферменти грають важливу роль в детоксикації та активації великої кількості ліків та канцерогенів. Дві тісно пов'язані поліморфні ізоформи NAT1 та NAT2 були виявлені у людини. Було встановлено також, що міжіндивідуальне варіювання послідовності генів NAT є потенційним джерелом виникнення індивідуальної реакції на ліки, чутливості до раку та інших захворювань. Глутатіон-S-трансферази (GST) *teta1* (GSTT1) та *mu 1* (GSTM1) є членами суперродини білків, які каталізують кон'югацію відновленого глутатіона до широкого спектра електрофільних та гідрофільних сполук. Відомо, що глутатіон-S-трансферази задіяні в детоксикації багатьох потенційно канцерогенних агентів. Таким чином, поліморфні варіанти генів (GSTs) розглядаються як потенційно важливі чинники індивідуальної чутливості до шкідливих факторів оточуючого середовища. Разом з тим було встановлено, що деякі поліморфні варіанти гена GSTM1 можуть бути фактором індивідуальної чутливості до дії деяких фармацевтичних препаратів.

Метою даної роботи було з'ясування ролі мутацій генів FMR1, INH α 1, FSHR, NAT2, GSTT1 та GSTM1 в розвитку передчасного виснаження яєчників та слабкої відповіді яєчників на стимуляцію овуляції екзогенним гонадотропіном.

Матеріали та методи. Матеріалом для дослідження були лейкоцити периферичної крові донорів яйцеклітин, пацієнтів з клінічним діагнозом ПВЯ та порушенням функції яєчників, які були включені в дослідження з інформованої згоди. ДНК з лейкоцитів периферичної крові виділяли загальноприйнятим методом [15].

Для аналізу мутації Ala257Thr (769G \rightarrow A) гена INH α 1 нами було розроблено метод, який заснований на рестрикційному аналізі продукту полімеразної ланцюгової реакції (ПЦР) 2-го

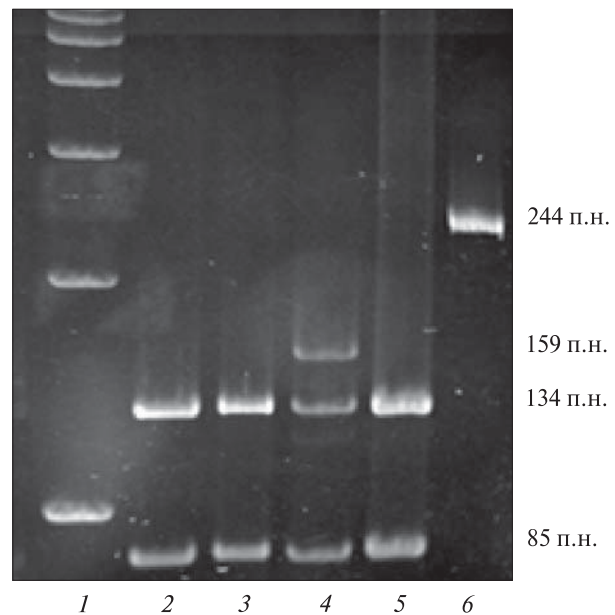


Рис. 1. Електрофореграма рестрикційних BstVII фрагментів продукту ампліфікації послідовності 2-го екзона гена INH α 1 (10 % ПААГ): 1 – маркер молекулярної маси (Ladder 100 bp); 2, 3, 5 – норма; 4 – мутація Ala257Thr (769G \rightarrow A) в гетерозиготному стані; 6 – нерестрикований фрагмент

екзона з використанням ендонуклеази рестрикції BstVII. У випадку, коли має місце мутація, на одній з хромосом 2 зникає один з сайтів упізнання BstVII, тому у гетерозигот ми спостерігаємо на електрофореграмі рестрикційні фрагменти довжиною 25, 85, 134 і 159 п.н. (рис. 1).

Для ідентифікації кількості CGG-повторів в гені FMR1 Су-5 мічені продукти ПЦР аналізували на автоматичному лазерному флуориметрі ALF-express (рис. 2).

Поліморфні варіанти Asn680Ser, Thr307Ala 10-го екзона гена FSHR досліджували за допомогою ПЛР з наступним гідролізом ендонуклеазами рестрикції VseNI (BsrI), Eco81I (SauI) та електрофоретичним розділенням в 2%-ному агарозному гелі. У випадку, коли має місце мутація, на одній з хромосом 2 зникає один з сайтів упізнання VseNI (BsrI), Eco81I (SauI) відповідно. Тому у гомозиготних носіїв мутантних варіантів ми спостерігаємо на електрофореграмі рестрикційні фрагменти довжиною 413 та 107 п.н. у випадку поліморфного варіанта в позиції 680 (рис. 3) та рестрикцій-

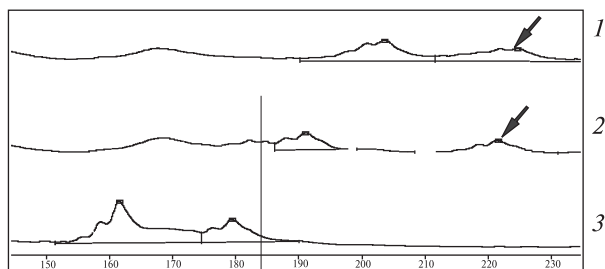


Рис. 2. Флуорограма продуктів ампліфікації послідовності ДНК в області CGG-повторів гена FMR1: 1 – індивід з алелями 38 та 45 CGG-повторів (зона ризику); 2 – індивід з алелями 34 та 44 CGG-повторів (зона ризику); 3 – індивід з алелями 24 та 30 CGG-повторів (норма)

ний фрагмент довжиною 328 п.н. у випадку поліморфного варіанта в позиції 307 (рис. 4).

Для аналізу поліморфних варіантів генів GSTM1, GSTT1 використовували метод ПЛР з наступним аналізом продуктів в 1,8%-ному агарозному гелі. У разі присутності нормального алеля гена GSTM1 на електрофореграмі спостерігали специфічний фрагмент розміром 134 п.н. Для нормального алеля гена GSTT1 така полоска має розмір 278 п.н. (рис. 5).

Аналіз поліморфних варіантів A803G, C481T, G857A, G590A гена NAT2 проводили за допомогою ПЛР з наступним гідролізом продукта ПЛР ендонуклеазами рестрикції DdeI, KpnI, TaqI, BamHI відповідно. Аналіз рестрикційних фрагментів проводили у 7%-ному поліакриламідному гелі (рис. 6).

Алелі NAT2 (S1, S2, S3) з'явилися внаслідок мононуклеотидних замін (C481T, G857A, G590A відповідно), що призводить до виникнення ферментів зі зниженою функціональною активністю, так званих «повільних ацетиляторів». Заміна A803G призводить до виникнення алеля (F1), який кодує білок з підвищеною функціональною активністю, так званого «швидкого ацетилятора».

Для статистичної обробки даних використовували стандартні тести Фішера та Ст'юдента.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами аналізу мутації Ala257Thr (769G→A) в гені INHα1 в групі пацієнтів з клінічним діагнозом ПВЯ ($n = 64$) та в контрольній групі ($n = 200$) було встановлено, що відсоток носіїв даної мутації не перевищував виявлений в контролі і становив 4,8 та 4,7 %

відповідно. Цей результат не збігається з попередніми даними про підвищену частоту мутації Ala257Thr (769G→A) серед пацієнтів з ПВЯ [16].

За результатами наших досліджень в групі пацієнтів з ПВЯ не виявлено тенденції до підвищення відсотка носительок алелів високого ризику (≥ 40 CGG-повторів) гена FMR1 у порівнянні з контрольною групою. Цей алель зустрічався з частотою 4,8 % як в обстежувальній, так і в контрольній групах. Проте дуже важливо відзначити, що серед пацієнтів з діагнозом ПВЯ сполучення мутації Ala257Thr (769G→A) в гені INHα1 та алеля високого ризику гена FMR1 було виявлено у 1,6 % індивідів. Такої комбінації не було виявлено в жодного з індивідів контрольної групи.

При аналізі зчеплених поліморфних варіантів 10-го екзона гена рецептора ФСГ (FSHR) в групі жінок з ПВЯ ($n = 57$) відзначалась тенденція до підвищення зустрічальності індивідів з мутантним генотипом Ser680Ser-Ala307Ala у порівнянні з контрольною групою ($n = 130$). Частота даної мутації в цих групах становила 15,8 та 7,7 % відповідно. Таким чином, результати наших досліджень підтверджують зроблені раніше припущення про залучення генів

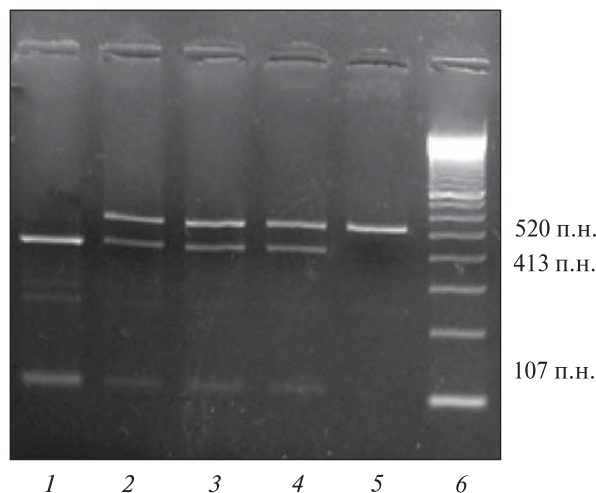


Рис. 3. Електрофореграма рестрикційних BseNI фрагментів продукта ампліфікації послідовності 10-го екзона гена FSHR (2%-ний агарозний гел): 1 – індивід з мутантним генотипом Ser680Ser; 2, 3, 4 – індивіди з генотипом Asn680Ser; 5 – індивід з нормальним генотипом Asn680Asn; 6 – маркер молекулярної маси (Ladder 100bp)

INH α 1, FMR1 та FSHR до регуляції резерву яєчників [7]. Проте, очевидно, саме сполучення мутантних варіантів цих генів і є реальним фактором ризику розвитку ПВЯ. Подібні молекулярно-генетичні дослідження були проведені нами в групі жінок «поганих відповідачів», для яких при стандартних ін'єкційних дозах гонадотропіну не вдається отримати необхідну відповідь яєчників на стимуляцію супер-овуляції в циклах екстракорпорального запліднення (ЕКЗ). До цієї групи включали жінок віком до 40 років, у яких кількість ооцитів, отримана після стимуляції овуляції, не перевищувала чотирьох при денній ін'єкційній дозі гонадотропіну 225–300 IU.

За результатами аналізу мутації Ala257Thr (769G→A) в гені INH α 1 встановлено, що в групі жінок «поганих відповідачів» ($n = 57$) частота носіїв даної мутації (12,5 %) перевищувала виявлену в контрольній групі донорів яйцеклітин (5 %). В свою чергу як в групі пацієнтів з ПВЯ, так і у жінок «поганих відповідачів» у 2,5 % випадків зустрічалась комбінація мутації Ala257Thr (769G→A) в гені INH α 1 з алелем високого ризику гена FMR1. Такий генотип не був виявлений серед індивідів з контрольної групи. Цікаво зазначити, що у донорів яйцеклітин з мутацією Ala257Thr (769G→A) в гені INH α 1 кількість ооцитів, отриманих після стимуляції овуляції, було статистично достовірно менше ($5,0 \pm 1,3$), ніж у донорів без мутації

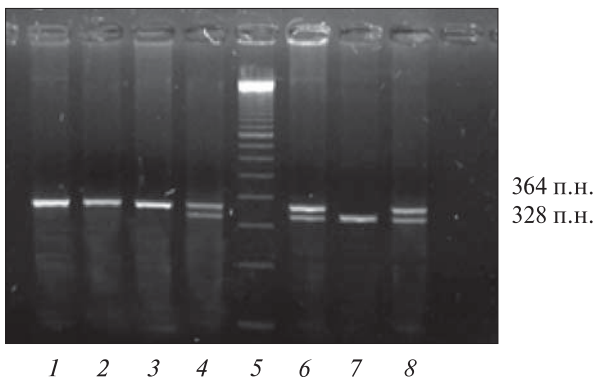


Рис. 4. Електрофореграма рестрикційних Eco8II фрагментів продукту ампліфікації послідовності 10-го екзона гена FSHR (2%-ний агарозний гель): 1, 2, 3 – індивід з нормальним генотипом Thr307Thr; 4, 6, 8 – індивіди з генотипом Thr307Ala; 5 – маркер молекулярної маси (Ladder 100bp); 7 – індивід з мутантним генотипом Ala307Ala

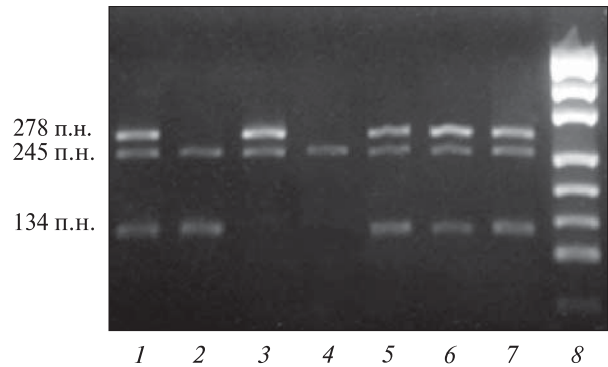


Рис. 5. Електрофореграма розділення продукту мультиплекс ПЛР для виявлення делецій в генах GSTT1 та GSTM1: 1, 5, 6, 7 – GSTT1(+) та GSTM1(+); 2 – GSTT1 (null); 3 – GSTM1(null), 4 – GSTT1(null) та GSTM1 (null); 8 – маркер молекулярної маси (pUC19/ MspI)

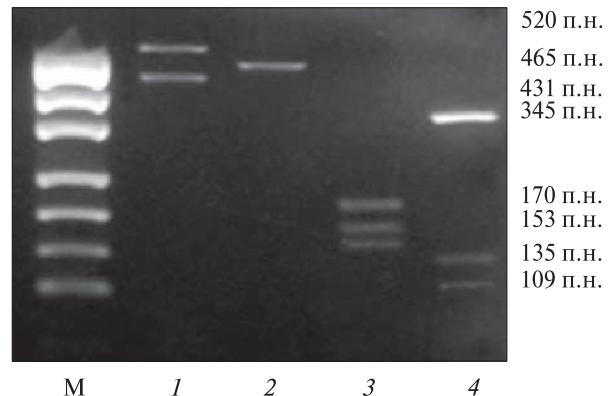


Рис. 6. Електрофореграма розділення продуктів ПЛР алейних варіантів гена NAT2 специфічною ендонуклеазою рестрикції (індивід с алелями F1/S2): М – маркер молекулярної маси (pUC19/MspI); 1 – рестрикція KpnI; 2 – рестрикція BamHI; 3 – рестрикція TaqI; 4 – рестрикція DdeI

($10,9 \pm 2,8$). Також було встановлено, що у жінок – донорів яйцеклітин, які мали алель ризику та премутацію (≥ 40 CGG-повторів) гена FMR1, на другому циклі стимуляції денна доза гонадотропіну була істотно вища, ніж у донорів з нормальними алелями.

Цікаві дані аналізу зчеплених поліморфних варіантів 10-го екзона гена FSHR були отримані в групі жінок «поганих відповідачів» ($n = 36$). Серед пацієнтів цієї групи мутантний генотип Ser680Ser-Ala307Ala (22,2 %) зустрічався статистично вірогідно частіше ($p = 0,028$), ніж в контрольній групі жінок – донорів яйцеклітин (7,7 %). Спираючись на отримані результати,

можно стверджувати, що мутації в генах $INH\alpha 1$, $FMR1$ та $FSHR$, які залучені до регуляції резерву яєчників, можуть бути факторами, що впливають на індивідуальну чутливість до екзогенного гонадотропіну.

Для оцінки можливої ролі поліморфних варіантів генів, що кодують ферменти другої фази системи детоксикації у формуванні такої індивідуальної чутливості до екзогенного гонадотропіну, нами було проведено порівняльний аналіз розподілу поліморфних варіантів генів $NAT2$, $GSTT1$ та $GSTM1$ в групі «поганих відповідачів» та в контролі. За результатами цього дослідження не виявлено статистично вірогідної різниці стосовно частки носіїв алелів «повільних ацетиляторів» гена $NAT2$ в групі «поганих відповідачів» та в контрольній групі. Проте з'ясувалося, що у пацієток з генотипом «повільних ацетиляторів» доза гонадотропного гормону, необхідна для стимуляції овуляції, була статистично достовірно вище ($3142,5 \pm 277,5$ МЕ), ніж у пацієток з генотипом «швидкого ацетилятора» гена $NAT2$ (2490 ± 285 МЕ). При аналізі делецій генів глутатіон-S-трансферази $GSTT1$ та $GSTM1$ також були отримані дані на користь їх можливого залучення у формування індивідуальної відповіді яєчників на гормонотерапію. Так, у групі «поганих відповідачів» ($n = 41$) гомозиготна делеція гена $GSTT1$ зустрічалась з частотою 24,4 % і перевищувала таку у індивідів з даним генотипом (18 %) в контрольній групі ($n = 106$).

Частота індивідів з гомозиготною делецією гена $GSTM1$ в групі «поганих відповідачів» ($n = 25$) становила 76 % і статистично достовірно ($p = 0,01$) перевищувала виявлену в контрольній групі (48 %).

Висновки. Отримані дані свідчать на користь того, що порушення генів $INH\alpha 1$, $FMR1$ та $FSHR$ можуть бути факторами спадкової схильності до зменшення функціонального резерву яєчників у носіїв відповідних мутантних генів. Встановлено, що мутантний генотип $Ser680Ser-Ala307Ala$ ФСГ-рецептора є чинником зниження індивідуальної відповіді яєчників до екзогенного гонадотропіну. Важливу роль в модуляції цієї відповіді також можуть відігравати мутантні гени $INH\alpha 1$ та $FMR1$. Показано, що гени, які кодують ферменти другої фази системи детоксикації ($NAT2$, $GSTT1$ та $GSTM1$), задіяні у

формуванні індивідуальної чутливості до гормонотерапії.

Генетичне тестування аналізованих генів в групах пацієнтів з порушенням функції яєчників та залучених в цикл лікування безпліддя методом екстракорпорального запліднення дозволить поліпшити консультування щодо планування сім'ї та дозволить обирати оптимальну стратегію стимуляції овуляції.

Автори вдячні співробітникам клінік «Исида» та «Надія», а також Інституту педіатрії акушерства та гінекології АМН України за надання зразків крові та клінічної інформації.

SUMMARY. The influence of $FMR1$, $INH\alpha 1$, $NAT2$, $GSTT1$ and $GSTM1$ genes on ovarian function, and their association with POF and «poor response» to exogenous GT after ovulation stimulation were investigated. The carriers of $Ala257Thr$ transition predominated in the studied «poor responders» group. This transition combined with intermediate alleles of $FMR1$ gene was observed in 1,6 % POF patients and 2,5 % persons from «poor responders» group but in nobody of the control group. The frequency of deletion in $GSTM1$ gene in «poor responders» group was significantly higher ($p = 0,01$) than in normal ovulatory control group. The frequency of $Ser680Ser-Ala307Ala$ polymorphic genotype (22,2 %) in «poor responders» group was significantly higher ($p = 0,028$) than in normal-ovulatory control group (7,7 %). The daily dosage of GT in intermediate alleles of $FMR1$ gene carriers as well in patients with «slow acetylation» $NAT2$ genotype was significantly higher in comparison to patients without intermediate alleles and patients with «quick acetylation» $NAT2$ genotype. Quantity of oocytes after ovulation stimulation in women with $INH\alpha 1$ gene $Ala257Thr$ transition was significantly decreased in comparison to patients without such mutation. Further investigations of these genes can play a major role in POF studying and modulation of ovarian response to exogenous GT.

РЕЗЮМЕ. Целью исследования было изучение ассоциации мутаций в генах $FMR1$, $INH\alpha 1$, $NAT2$, $GSTT1$, $GSTM1$ с функциональным резервом яичников, а также ответом яичников на стимуляцию овуляции гонадотропином в группах женщин с клиническим диагнозом преждевременное истощение яичников и «плохих ответчиков». В этой группе пациенток у 1,6 и 2,5 % соответственно наблюдали как мутацию $Ala257Thr$ гена $INH\alpha 1$, так и аллель высокого риска гена $FMR1$. Указанный генотип не был выявлен в контрольной группе. Частота делеции в гене $GSTM1$ в группе «плохих ответчиков» была статистически достоверно выше ($p = 0,01$), чем в контрольной. Частота встречаемости мутантного генотипа $Ser680Ser-Ala307Ala$ (22,2 %) была

статистически достоверно выше ($p = 0,028$), чем в контрольной группе (7,7 %). Дневная доза гонадотропина для носителей аллеля высокого риска гена FMR1, и пациентов с генотипом «медленных ацетиляторов» гена NAT2 была статистически достоверно выше по сравнению с пациентами, имеющими нормальные аллели гена FMR1, и пациентами с генотипом «быстрого ацетилятора» гена NAT2. Количество ооцитов после стимуляции овуляции у женщин с мутацией Ala257Thr гена INH β 1 было статистически достоверно ниже, чем у женщин без данной мутации. Дальнейшие исследования упомянутых генов важны для изучения функционального резерва яичников и модуляции индивидуального ответа яичников на экзогенный гонадотропин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Lander E.S., Linton L.M., Birren B. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome // *Nature*. – 2001. – **409**, № 6822. – P. 860–921.
2. Santoro N. Mechanisms of premature ovarian failure // *An Endocrinol.* – 2003. – **64**. – P. 87–92.
3. Timmreck L.S., Reindollar R.H. Contemporary issues in primary amenorrhea // *Obstet. Gynecol. Clin. North Amer.* – 2003. – **30**. – P. 287–302.
4. Coulam C.B., Adamson S.C., Annegers J.F. Incidence of premature ovarian failure // *Obstet. Gynecol.* – 1986. – **67**. – P. 604–606.
5. Anasti J.N. Premature ovarian failure: an update // *Fertil. and Steril.* – 1998. – **70**. – P. 1–15.
6. Lamp T., Schultz-Lobmeyr I., Obruca A. et al. Premature ovarian failure: etiology and prospects // *Gynecol. Endocrinol.* – 2000. – **14**. – P. 292–302.
7. Goswami D., Conway G.S. Premature ovarian failure // *Hum. Reprod. Update.* – 2005. – **11**(4). – P. 391–410.
8. Conway G.S., Payne N.N., Webb J., Murray A., Jacobs P.A. Fragile X premutation screening in women with premature ovarian failure // *Hum. Reprod.* – 1998. – **13**. – P. 1184–1187.
9. Gemzell C. Induction of ovulation // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 1975. – **47**, Suppl. – P. 1–5.
10. Nygren K.G., Andersen A.N. Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE // *Hum. Reprod.* – 2002. – **17**(12). – P. 3260–3274.
11. Gromoll J., Bröcker M., Derwahl M., Höppner W. Detection of mutations in glycoprotein hormone receptors // *Methods*. – 2000. – **21**(1). – P. 83–97.
12. Simoni M., Gromoll J., Höppner W., Kamischke A., Krafft T., Stähle D., Nieschlag E. Mutational analysis of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor in normal and infertile men: identification and characterization of two discrete FSH receptor isoforms // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1999. – **84**(2). – P. 751–755.
13. Falconer H., Andersson E., Aanesen A., Fried G. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms in a population of infertile women // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 2005. – **84**(8). – P. 806–811.
14. Barton D.E., Yang-Feng T.L., Mason A.J., Seeburg P.H., Francke U. Mapping of genes for inhibin subunits alpha, beta A, and beta B on human and mouse chromosomes and studies of mice // *Genomics*. – 1989. – **5**(1). – P. 91–99.
15. Маниатис Т., Фрич Е.Е., Сэмбрук Ж. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1985. – 420 с.
16. Shelling A.N., Burton K.A., Chand A.L., van Ee C.C., Framce J.T., Farquhar C.M., Milson S.R., Love D.R., Gersak K., Aittomaki K., Winship I.M. Inhibin: a candidate gene for premature ovarian failure // *Hum. Reprod.* – 2000. – **12**. – P. 2644–2649.

Надійшла 24.07.07