

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم عملکردی ژن FSHR و میزان ابتلا به ناباروری در زنان ایرانی

فرشته سرافرازی^۱، شیوا ایرانی^۱، لیلی صفدریان^۲، محسن قدمی^{۳*}

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران
۲. گروه پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران
۳. گروه ژنتیک، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران

چکیده:

سابقه و هدف: پلی مورفیسم های موجود در ژن *FSHR* در پاسخ تخمدان به هورمون تأثیر گذارند. لذا بررسی پلی مورفیسم مربوط به جایگاه ۶۸۰ موجود در ژن *FSHR* در زنان تحت درمان با روش IVF (موفق یا ناموفق) امری مهم است.

مواد و روش ها: از ۳۱ زن نابارور دارای حداقل یک IVF ناموفق و ۳۰ زن دارای حداقل ۱ بارداری موفق استخراج DNA به عمل آمد و سپس با استفاده از تکنیک های (PCR) و (Sequencing) برای پلی مورفیسم موجود در جایگاه ۶۸۰ مورد بررسی قرار گرفتند. **یافته ها:** مقدار کل گنادوتروپین تزریق شده در زنان نابارور با ژنوتیپ Ser680 بیش تر از زنان نابارور با ژنوتیپ Asn680 بود. تجزیه و تحلیل نشان داد پاسخ تخمدان به هورمون FSH در ژنوتیپ Ser680 در ژن *FSHR* ضعیف تر از ژنوتیپ Asn680 در زنان نابارور است.

بحث: این مطالعه ارتباط معنی دار پلی مورفیسم ژن *FSHR* در موقعیت نوکلئوتید ۶۸۰ و درمان با هورمون FSH را نشان می دهد.

نتیجه گیری: پلی مورفیسم Ser680/Asn680 می تواند به عنوان نشان گر برای انتخاب افراد مستعد برای درمان با روش های IVF مورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: گیرنده هورمون FSH (*FSHR*)، هورمون FSH، پلی مورفیسم، IVF

مقدمه:

علمی به آن ها ART^۱ می گویند، استفاده شود (۱۶). هم زمان با ظهور فناوری لقاح خارج رحمی^۲ (IVF) یکی از روش های ART در سال ۱۹۷۸، امکان باروری برخی از زوج هایی که گامت داشتند ولی از داشتن فرزند محروم بودند، فراهم شد. در این روش امکان لقاح اسپرم و تخمک زوج متقاضی برای درمان ناباروری را در شرایط آزمایشگاهی فراهم می نماید. مراحل اصلی IVF شامل تحریک تخمک گذاری، برداشت تخمک، تهیه و آماده سازی اسپرم، لقاح، کشت جنین و انتقال جنین است (۳۲).

ناتوانی یک زوج در باردار شدن پس از یک سال رابطه جنسی بدون جلوگیری از حاملگی، را ناباروری گویند (۲۸). ناباروری در ده تا پانزده درصد از زوجها دیده می شود که علل آن متعدد است و روش درمان نازایی به نوع نارسایی بستگی دارد. در اغلب موارد نیاز است از روش های کمک باروری که در اصطلاح

نویسنده مسئول:

گروه ژنتیک، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تهران
mghadami@tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۲/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۱/۲۸

^۱ Assisted reproductive technology

^۲ In vitro fertilisation

بر اساس نتایج اعلام شده در انجمن جنین‌شناسی و تولید مثل اروپا (ESHRE) درصد موفقیت در حاملگی در سال ۲۰۱۰ با استفاده از روش IVF، ۳۵/۵ درصد بوده است (۲۱). علل گوناگونی برای سقط پس از لقاح آزمایشگاهی ذکر شده است: یکی از علل از دست رفتن IVF تنظیم نبودن میزان تزریق هورمون‌ها است (۳۰). آماده نمودن آندومتر جهت لانه‌گزینی نیاز به تحریک هورمونی مناسب دارد. هورمون‌های استروئیدی باعث تغییرهای دوره‌ای در سطح لومن رحم می‌شود و این هورمون‌ها به‌طور مستقیم در آمادگی رحم برای پذیرش بلاستوسیست مؤثرند (۳). در پروتوکل درمان نازایی با تحریک تخمک‌گذاری تعداد زیادی فولیکول هم‌زمان شروع به رشد می‌کنند که این امر باعث افزایش میزان استروژن تا چندین برابر حالت عادی می‌شود. برهم خوردن تعادل هورمون‌ها باعث عدم موفقیت در لانه‌گزینی می‌شود این عامل باعث تغییرهای فرا ساختاری آندومتر در زمان لانه‌گزینی می‌شود تحریک و تخمک‌گذاری باعث تغییرهای مورفولوژیکی در آندومتر رحم می‌شود که این اثرهای نامطلوب باعث نقص در اتصال و لانه‌گزینی جنین می‌شود (۲۱). استفاده از گنادوتروپین جهت تحریک تخمک‌گذاری باعث ایجاد شرایط نامتعادل در آندومتر رحم و در نتیجه کاهش گیرندگی رحم برای پذیرش جنین می‌شود (۲۹). تحریک تخمک‌گذاری باعث کاهش ضخامت گلیکوکالیکس در آندومتر رحم شده و این مسئله می‌تواند باعث تغییر شارژ آندومتر در زمان لانه‌گزینی و در نتیجه تأثیر بر روی میزان لانه‌گزینی جنین شود. طی تحقیق‌هایی که Astrahantsele و همکارانش انجام دادند دریافتند که استروژن باعث افزایش بیش از حد فعالیت تکثیری سلول‌های آندومتر شده که این مسئله باعث تغییر شرایط آندومتر و در نتیجه تأثیر بر روی لانه‌گزینی می‌شود (۲). تنظیم میزان تجویز با تغییر در بعضی از ژن‌های مادر مرتبط است و میزان آن تغییرپذیر است البته نقش گیرنده‌های هورمونی تخمدان برای تحریک مورد نیاز برای آزاد کردن تخمک انکارناپذیر است (۲۶). یکی از ژن‌های مهم در این زمینه، ژن گیرنده FSH (Follicle-stimulating hormone receptor) است. گیرنده FSH بر روی سلول‌های گرانولار در تخمدان‌ها و سلول‌های سروتولی در بیضه‌ها وجود دارد. ژن *FSHR* بر روی

بازوی کوتاه کروموزوم ۲ قرار داشته و اندازه آن به طول تقریباً ۱۹۲Kb است و شامل ۱۰ اگزون کدکننده ۶۹۵ آمینو اسید می‌باشد از بین اگزون‌ها، اگزون ۱۰ بزرگ‌ترین اگزون (bp) ۱/۲۳۴ می‌باشد (۱۵). *FSHR* از خانواده پروتئین گیرنده G به صورت دوتایی است که ۷ هلیکس غشا گذر و با ۳ قسمت درون سلولی و بیرون سلولی و بین سلولی است. اگزون‌های ۱ تا ۹ اغلب دمین‌های خارج سلولی را کد کرده و اگزون ۱۰ مابقی پروتئین‌های بخش عبور کرده از غشا و سیتوپلاسمی را کد می‌کند (۱۴). اولین تلاش برای شناسایی توالی ژن *FSHR* در سال ۱۹۸۹ رخ داده است (۶). پروتئین رونویسی شده از ژن *FSHR* می‌تواند موجب بیان گیرنده‌ها شده که برای اتصال با^۳ FSH و سیگنال‌دهی آن امری انکارناپذیر است (۱۱). پس از تشکیل کمپلکس FSH-*FSHR*، گیرنده‌ها کمپلکس دایمری تشکیل داده و موجب فعال شدن cAMP درون سلولی و تحریک پروتئین کیناز وابسته به cAMP می‌شود هم‌چنین *FSHR* توانایی انتقال IP3 را پیدا کرده و موجب بالا رفتن کلسیم درون سلولی می‌گردد (۹). هدف اصلی تشکیل کمپلکس FSH-*FSHR* فعال کردن پروموتور ژن آروماتاز برای تولید استرادیول است (۱۸). اتصال FSH به *FSHR* شروع آبخار سیگنال‌دهی بوده که نهایت امر موجب بالغ شدن اووسیت در زنان و اسپرماتوژنز در مردان می‌گردد (۲۰). این هورمون در زنان رشد فولیکول و تخمک را سبب می‌گردد. پس از افزایش استرادیول به گیرنده‌های داخل رحمی متصل شده و سبب ضخیم شدن دیواره رحمی، بزرگ شدن رحم و افزایش فعالیت ترشحی جهت آماده سازی برای کاشت تخم لقاح یافته می‌گردد (۱۹). در ناحیه کد کننده و غیر کد کننده ژن *FSHR* بیش‌تر از ۱۳۰۰ پلی‌مورفیسم گزارش شده است. از میان هشت پلی‌مورفیسم حاضر در ناحیه کد کننده ۶ نوع از آن‌ها non-symptomatic هستند و دو پلی‌مورفیسم باقی‌مانده در اگزون شماره ۱۰ قرار دارند (۱۷). یکی از شایع‌ترین پلی‌مورفیسم‌ها در جایگاه Ser680Asn است نتیجه جای‌گزینی G>A در نوکلئوتید ۲۰۳۹ منجر به تغییر اسید آمینه اسپارژین به سرین در دمین درون سلولی می‌شود (۲۷). سابق مطالعه‌های

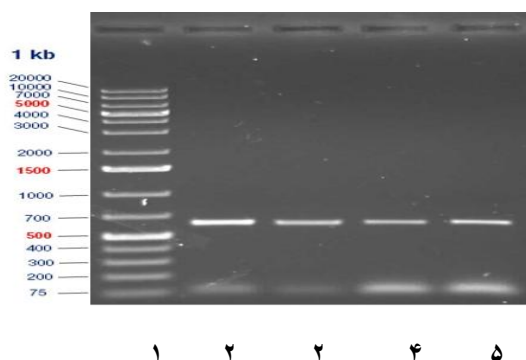
^۳Follicle stimulating hormone

	دسترسی		محصول
FSHR	F	TGCCAGTGCATGGTGATG	۶۸۰
	R	CCCTTCAAAGGCAAGACTGA	

روی پلی مورفیسیم های *FSHR* پیرامون اثرهای آن بر تخمدان پلی کیستیک و سرطان تخمدان انجام شده است (۲۳). آنالیز پلی مورفیسیم های *FSHR* در ارتباط با بیماری های دیگر مثل ناباروری به تازگی مورد توجه واقع شده اند.

روش کار:

شرایط دمایی ترموسایکلر پس از بهینه سازی عبارت بود از ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل ۹۵ درجه ای به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه طویل سازی به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت طویل سازی نهایی (Final extension) در ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه. صحت انجام PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی تأیید شد. برای تشخیص باندها در روی ژل آگارز و تأیید اندازه قطعه از DNA Ladder، ۱ Kb از شرکت fermentase استفاده شد. برای هر نوبت کاری ۱/۵ میکرولیتر از آن روی ژل قرار داده شد و مقدار ۴ میکرولیتر از هر نمونه در هر چاهک ژل load شد (شکل شماره ۱). پس از تأیید ساینز قطعه تکثیر شده محصول PCR توسط شرکت ژن فن آوران تعیین توالی (Sequencing) شد (شکل شماره ۲).

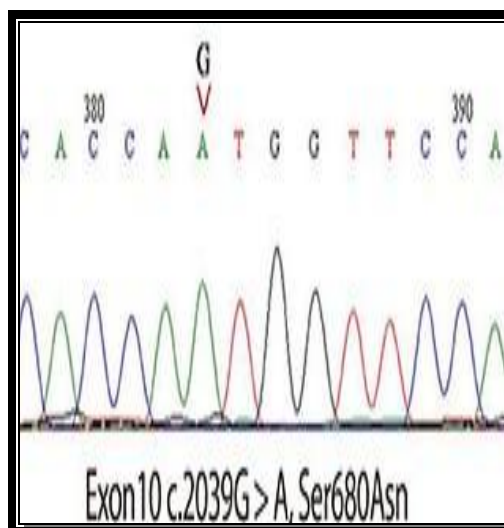
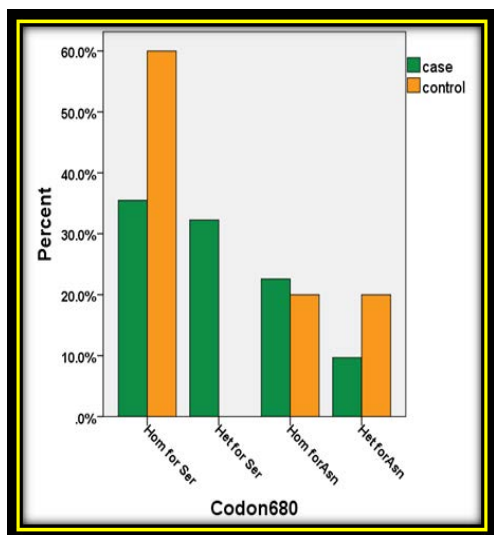


شکل (۱) نتیجه الکتروفورز محصول های PCR افراد تحت بررسی با پرایمرهای اگزون ۱۰ روی ژل آگارز ۱٪: پس از تکثیر دستگاه ترموسایکلر برای تأیید اندازه قطعه تکثیر شده، محصول های PCR با مارکر ۱ KB بر روی ژل آگارز ۱٪ برده شده و الکتروفورز گردید. خط ۱: DNA ۱ kbp Ladder، خط شماره ۲: نمونه DNA فرد کنترل دارای باروری طبیعی، خطوط شماره ۳ و ۴ و ۵: نمونه DNA افراد نابارور دارای پلی مورفیسیم در جایگاه ۶۸۰

در این طرح پس از موافقت بیماران، ۵۱ نمونه خون محیطی از زنان مبتلا به ناباروری با میانگین سنی ۳۳ سال که اقدام به باروری از طریق IVF در مرکز ناباروری بیمارستان شریعتی کرده بودند، جمع آوری گردید. معیارهای خروج از مطالعه شامل سایر علل مطرح در سقط از جمله وجود ناهنجاری های کروموزومی در جنین و والدین، مشکل های آناتومی در رحم، اختلال های هورمونی و عفونت های مرتبط با سقط بود. بیماران تحت نظر پزشکان متخصص این مرکز مورد ارزیابی قرار گرفتند. اطلاعات بالینی بیماران از پرونده های موجود اخذ گردیده و به صورت توصیفی تجزیه و تحلیل گردید. بیماران از قومیت های مختلف ایران با گروه های سنی متفاوت به این مرکز ارجاع داده شده بودند. در کنار ۵۰ فرد نابارور، ۵۰ نمونه کنترل سالم (با حداقل یک بارداری موفق) با میانگین سنی ۳۳ سال از قومیت های مختلف انتخاب گردیدند که فاقد سابقه ناباروری بودند. از تمام افراد مورد مطالعه ۵ سی سی خون جهت آزمایش های مولکولی به لوله آزمایش حاوی EDTA منتقل شد. DNA نمونه ها پس از لیز شدن گلبول های سفید خون با بافر مناسب، به روش استاندارد فنل - کلروفرم استخراج و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مقدار و کیفیت آن تخمین زده شد. آغازگرهای مناسب برای پلی مورفیسیم توسط خود محقق طراحی شد و سپس واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) برای جفت پرایمر بهینه سازی شد (جدول ۱). مواد لازم برای واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱ میکرولیتر DNA ژنومی، ۲ میکرولیتر از آغازگرها و ۱۲ میکرولیتر از Master Mix Kit (شرکت Ampliqon) بود. مراحل انجام PCR بر روی نمونه های دو گروه بیمار و شاهد انجام شد.

جدول (۱) توالی پرایمر طراحی شده برای پلی مورفیسیم کدون ۶۸۰

اندازه	توالی پرایمر	شماره	ژن
--------	--------------	-------	----



شکل ۲) تعیین توالی Ser680Asn

نمودار (۱) مقایسه تعداد و فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم کدون ۶۸۰ ژن *FSHR* در افراد نابارور و افراد کنترل: نتایج با استفاده از آزمون χ^2 محاسبه گردید و نمودار فوق با توجه به اطلاعات مذکور و براساس درصد افراد دارای پلی مورفیسم در بین گروه‌های نابارور و سالم رسم گردیده است.

در نمودار ۱ فراوانی ژنوتیپ‌های ژن *FSHR* در کدون ۶۸۰ در افراد مبتلا و کنترل نشان داده شده است. همان‌طور که در نمودار مشاهده می‌گردد توزیع ژنوتیپ‌ها در گروه‌های بیمار از اختلاف کمی برخوردار است اما در گروه کنترل دارای اختلاف بیش‌تری است. محاسبه فرکانس آللی هر پلی مورفیسم در بین افراد بیمار و کنترل می‌تواند نقش محافظتی یا عامل خطر را تعیین نماید. در همین راستا فراوانی آلل پلی مورفیسم محاسبه گردید و در جدول ۲ وارد گردید. فراوانی آلل S (Ser) در هر دو گروه بیش‌تر از آلل N(Asn) است ($P=0/543$).

جدول ۲) مقایسه تعداد و درصد فراوانی آلل‌های پلی مورفیسم‌های کدون ۶۸۰ ژن *FSHR* در افراد نابارور و کنترل

<i>FSHR</i> POLYMORPHISM	Case = 51		Control = 50	
	Case n	Ferequency	Control n	Ferequency
S(Ser)	30 (%58/1)	.58	35 (%70)	.70
N(Asn)	21 (%41/9)	.42	15 (%30)	.30

در محاسبات معنی‌دار کای اسکوئر، p-value هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها زیر ۰/۰۵ به دست نیامد که نشان دهنده عدم ارتباط معنی‌دار شیوع این پلی مورفیسم با میزان ناباروری در جمعیت

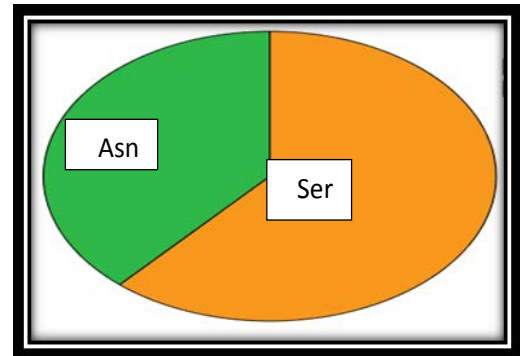
آنالیز آماری

نوع مطالعه، مورد- شاهده می‌باشد مطالعه‌ای که در آن گروهی از افراد که پیامد خاصی هم‌چون ناباروری در آن‌ها وجود دارد (گروه مورد) با گروه یا گروه‌های شاهد که آن پیامد را ندارند. از نظر سابقه مواجهه با عامل (عامل‌ها) مورد بررسی، مقایسه گردید. از نرم افزار SPSS19 جهت آنالیز آماری استفاده شد. فراوانی هر یک از پلی مورفیسم‌ها و آلل‌های مربوطه بر حسب گروه‌های مختلف محاسبه گردید. برای مقایسه بین مورد و شاهد از آزمون Chi Square استفاده شد. ارزش احتمالی کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

به تفکیک تعداد و درصد فراوانی ژنوتیپ‌های Ser680Asn با انحراف معیار $\pm 1/2$ در افراد نابارور و کنترل محاسبه گردید (نمودار ۱).

مورد مطالعه است (p-value $0.05 < 0.043$). در محاسبه های معنی داری کای اسکوتر p-value در خصوص میزان دریافت هورمون برای مرحله تخمک گذاری در افراد دارای پلی مورفیسیم Ser680 نسبت به افراد دارای پلی مورفیسیم Asn680 بیش تر است. که میزان p-value کم تر از $0.05 < 0.042$ به دست آمد. این ارتباط معنی دار بوده است و در نمودار ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۲) ارتباط پلی مورفیسیم بررسی شده در کدون های ۶۸۰ با میزان دریافت هورمون FSH: نتایج با استفاده از آزمون X^2 محاسبه گردید و نمودار فوق با توجه به اطلاعات مذکور رسم گردیده است.

بحث:

یافتن ژن های دخیل در ناباروری ایده بسیار حیاتی و ضروری در درمان و تشخیص آن می باشد. FSH هورمون کلیدی برای تولید مثل پستانداران است. این هورمون عضوی از هورمون های خانواده گلیکو پروتئینی است که شامل LH نیز می گردد. این هورمون ها در زیر واحد α یکسان بوده اما در زیر واحد β متفاوتند (۱۲). هورمون FSH برای رسیدن به هدف خود دارای گیرنده بر سطح تخمدان ها و بیضه ها است. یافته ها در مورد نقش و اهمیت ژن *FSHR* به سرعت در حال افزایش می باشد (۲۳).

پلی مورفیسیم های شناسایی شده در ژن *FSHR* منجر به ژنوتیپ های مجزایی می شود که ممکن است برخی از آن ها باعث مستعد شدن افراد به ناباروری شوند (۲۴). پلی مورفیسیم موجود در نوکلئوتید ۲۰۳۹ (کدون ۶۸۰) در آگزون شماره ۱۰ از این جمله پلی مورفیسیم ها می باشد. این پلی مورفیسیم دارای یک تغییر A/G کدون ۶۸۰ (AAT/AGT) می باشد که

منجر به تولید اسید آمینه های Ser/Asn(680) می گردد (۲۰، ۲۲). براساس مطالعه های مجزا توسط گروه های تحقیقاتی مستقل در ارتباط با پلی مورفیسیم Ser680Asn می توان این پلی مورفیسیم را به عنوان یکی از شاخص های خطر IVF ناموفق در زنان نابارور در نظر گرفت.

در این مطالعه ارتباط شیوع پلی مورفیسیم موجود در آگزون ۱۰ در جمعیت بیمار و کنترل به سطح اختلاف معناداری نرسید. به معنای آن که افراد دارای ژنوتیپ Ser680 در جمعیت کنترل (۷۰٪) و در جمعیت بیمار (۵۸٪/۲) مشاهده گردید و نتایج به دست آمده از ژنوتیپ ذکر شده در جمعیت کنترل به مراتب بیش تر از جمعیت بیمار مشاهده گردید در حالی که در مطالعه مشابهی که توسط Lalioti در سال ۲۰۱۱ مشخص گردید بیش ترین فراوانی تغییر نوکلئوتیدی در جایگاه ۶۸۰ در کشورهای اروپای مرکزی، ایتالیا، چین، هند و ژاپن مربوط به ژنوتیپ (Asn680) معروف به ماژور آلل است. و ژنوتیپ (Ser680) به مینور آلل معروف هستند چرا که در جمعیت های مطالعه شده دارای کم ترین فراوانی می باشند (۱۹). این مطالعه هم چنین ارتباط بین ژنوتیپ Ser با میزان ناباروری در نتایج Jun و همکارانش در امریکا، Al-Kuran و همکارانش، Mohidden و همکارانش در انگلیس را تأیید نکرد (۱۷، ۲۵).

بررسی پلی مورفیسیم یاد شده در ناباروری در جمعیت های مختلف اهمیت بسیار فراوانی دارد که ممکن است بین جمعیت ها و اقوام مختلف تفاوت هایی وجود داشته باشد که این تفاوت ها سبب می شود، نتایج گزارش شده برای سایر جمعیت ها به طور کامل قابل استفاده نباشد، بنابراین نیاز به بررسی و تأیید در جمعیت های مختلف دارد.

علاوه بر نتیجه فوق نتایج جدیدی دال بر ارتباط معنادار بین میزان دریافت هورمون در بین افراد نابارور و پلی مورفیسیم در جایگاه ۶۸۰ مشاهده گردید.

در تمام بیماران در پروتکل های نازایی میزان هورمون های جنسی اندازه گیری می شود که در این مطالعه در تعدادی از افراد استروژن و استرادیول در سطح سرمی کاهش پیدا کرده بود که این افراد دارای گیرنده *FSHR* با ژنوتیپ Ser بودند

Casarini L و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۸)، نشان دادند که پلی مورفیسم Ser680Asn در تعیین پاسخ تخمدان به تحریک FSH در بیماران تحت درمان IVF تأثیر می گذارد. بیماران با Ser در جایگاه ۶۸۰ در مرحله تحریک نیاز به FSH بیش تری برای رسیدن به سطح استرادیول سرمی مناسب دارند در حالی- که بیماران با Asn680 نیاز به غلظت بیش تر ندارند. بررسی زنان نرمال با چرخه قاعدگی تک تخمک گذاری نشان داد که Ser680 منجر به سطح FSH سرمی بالاتر و یک چرخه طولانی تر می شود.

نکته قابل توجه اینجاست که افراد با ژنوتیپ Ser680 به صورت هتروزیگوت نسبت به افراد با ژنوتیپ Ser680 به صورت هموزیگوت نیاز به هورمون بیش تری دارند که ناشی از تداخل دو آلل غیر همسان می باشد. نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که زنان با ژنوتیپ Ser680 نیاز به مقدار بیش تری از هورمون های تحریک کننده برای آزاد کردن تخمک دارند، که دال بر تأیید محققین گذشته می باشد.

نتیجه گیری:

به عنوان جمع بندی می توان نتیجه گرفت که بررسی پلی- مورفیسم های ژن FSHR در جایگاه ۶۸۰ در ارتباط با ناباروری و درمان آن در زنان تحت درمان IVF ضروری به نظر می رسد و پیشنهاد می گردد با توجه به وسعت جغرافیایی و همچنین تنوع نژادی فراوان در ایران در صورت امکان این تحقیق برای هر منطقه به صورت مجزا انجام شود.

سپاسگزاری:

از تمام اساتید و همکاران محترم در مرکز فوق تخصصی ژنتیک پزشکی جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران تشکر و قدردانی می شود.

آماده نمودن تخمدان جهت آزاد کردن فولیکول مناسب در پروتکل های ناباروری نیاز به تحریک هورمونی مناسب دارد که در صورت در نظر نگرفتن پلی مورفیسم موجود در اگزون ۱۰ ژن FSHR در جایگاه ۶۸۰ این تحریک پذیری در افراد با ژنوتیپ Ser680 به صورت مناسب اتفاق نیفتاده و تخمک های آزاد شده توانایی لازم برای لقاح را نداشته و اثرهای نامطلوب باعث نقص در اتصال و لانه گزینی می گردد. پس از مطالعه سابقه بیماران برای دریافت هورمون در مرحله تخمک گذاری، مشاهده گردید که افراد با دریافت هورمون FSH بیش تر برای آزاد کردن فولیکول مناسب در مرحله تخمک دارای گیرنده با ژنوتیپ Ser/Ser هستند؛ این موضوع در برگیرنده اطلاعات مفیدی می باشد از جمله این که گیرنده FSHR با ژنوتیپ Ser/Ser دارای مقاومت برای پذیرش هورمون FSH است. این پیشامد به دلیل دریافت نکردن سیگنال مناسب از اتصال هورمون به گیرنده خود برای آزاد کردن فولیکول مناسب اتفاق می افتد و موجب پاسخ ضعیف از تخمدان ها می گردد و ناکارآمدی گیرنده برای پذیرش هورمون با تجویز داروهای تحریک کننده با مقدار بیش تر در دوره زمانی طولانی تر جبران می گردد. در مقابل پس از بررسی و مطالعه تاریخچه هورمون درمانی بیماران مشاهده گردید که افراد با ژنوتیپ Asn/Asn برای آزاد کردن تخمک مناسب به تحریک کم تری توسط هورمون های آگروژن داشته و همچنین تحریک های صورت گرفته از جانب هورمون ها در دوره زمان کم تری اتفاق افتاده است؛ مقایسه این دو ژنوتیپ و میزان دریافت هورمون نکته حائز اهمیتی در پروتکل های درمان ناباروری به روش IVF محسوب می گردد.

مطالعه های مجزا توسط گروه های تحقیقاتی مستقل در ارتباط با پلی مورفیسم های Ser680Asn انجام شده است و Daelemans در سال ۲۰۰۴ (۱۰) Beher و همکارانش (۱۴) و Gromoll و RGreb در سال ۲۰۰۵ (۱۳، ۱۴) Jun و همکارانش در ۲۰۰۶ (۱۷)، Cai و همکارانش طی تحقیقاتشان در سال ۲۰۰۷ (۷)، در سال ۲۰۰۸ Vilodre در برزیل (۳۱) و در سال ۲۰۰۹ Al-Kuran و همکارانش (۱) Binder و همکارانش در سال ۲۰۱۱ (۵) Mohiyiddeen و همکارانش در ۲۰۱۲ (۲۵)، Lledo و همکارانش در سال ۲۰۱۳ (۲۲)،

1. Al-Kuran, O., Beitawi, S., & Al-Mehaisen, L. (2008). Pelvic abscess complicating an in vitro fertilization pregnancy and review of the literature. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 25(7), 341-343.
2. Astrahantseff, K. N., & Morris, J. E. (1994). Estradiol-17 β stimulates proliferation of uterine epithelial cells cultured with stromal cells but not cultured separately. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 30(11), 769-776
3. Batt, R. (2011). *A history of endometriosis*. Springer.
4. Behre, H. M., Greb, R. R., Mempel, A., Sonntag, B., Kiesel, L., Kaltwaer, P., ... & Simoni, M. (2005). Significance of a common single nucleotide polymorphism in exon 10 of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene for the ovarian response to FSH: a pharmacogenetic approach to controlled ovarian hyperstimulation. *Pharmacogenetics and genomics*, 15(7), 451-456
5. Binder, H., Strick, R., Zaherdoust, O., Dittrich, R., Hamori, M., Beckmann, M. W., & Oppelt, P. G. (2012). Assessment of *FSHR* variants and antimüllerian hormone in infertility patients with a reduced ovarian response to gonadotropin stimulation. *Fertility and sterility*, 97(5), 1169-1175.
6. Buffet, N. C., Djakoure, C., Maitre, S. C., & Bouchard, P. (1998). Regulation of the human menstrual cycle. *Frontiers in neuroendocrinology*, 19(3), 151-186.
7. Cai, J., Lou, H. Y., Dong, M. Y., Lu, X. E., Zhu, Y. M., Gao, H. J., & Huang, H. F. (2007). Poor ovarian response to gonadotropin stimulation is associated with low expression of follicle-stimulating hormone receptor in granulosa cells. *Fertility and sterility*, 87(6), 1350-1356.
8. Casarini, L., Moriondo, V., Marino, M., Adversi, F., Capodanno, F., Grisolia, C., ... & Simoni, M. (2014). *FSHR* polymorphism p. N680S mediates different responses to FSH in vitro. *Molecular and cellular endocrinology*, 393(1), 83-91
9. Conti, M. (2002). Specificity of the cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate signal in granulosa cell function. *Biology of reproduction*, 67(6), 1653-1661.
10. Daelemans, C., Smits, G., De Maertelaer, V., Costagliola, S., Englert, Y., Vassart, G., & Delbaere, A. (2004). Prediction of severity of symptoms in iatrogenic ovarian hyperstimulation syndrome by follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 89(12), 6310-6315
11. Fan, Q. R., & Hendrickson, W. A. (2005). Structure of human follicle-stimulating hormone in complex with its receptor. *Nature*, 433(7023), 269-277.
12. Fong, S. L., Baart, E. B., Martini, E., Schipper, I., Visser, J. A., Themmen, A. P. N., ... & Laven, J. S. E. (2008). Anti-Müllerian hormone: a marker for oocyte quantity, oocyte quality and embryo quality? *Reproductive biomedicine online*, 16(5), 664-670
13. Greb, R. R., Grieshaber, K., Gromoll, J., Sonntag, B., Nieschlag, E., Kiesel, L., & Simoni, M. (2005). 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. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(8), 4866-4872.
14. Gromoll, J., & Simoni, M. (2005). Genetic complexity of FSH receptor function. *Trends in endocrinology & metabolism*, 16(8), 368-373
15. Gromoll, J., Dankbar, B., & Gudermann, T. (1994). Characterization of the 5'flanking region of the human follicle-stimulating hormone receptor gene. *Molecular and cellular endocrinology*, 102(1), 93-102.
16. Gurunath, S., Pandian, Z., Anderson, R. A., & Bhattacharya, S. (2011). Defining infertility—a systematic review of prevalence studies. *Human reproduction update*, 17(5), 575-588
17. Jun, J. K., Yoon, J. S., Ku, S. Y., Choi, Y. M., Hwang, K. R., Park, S. Y., ... & Moon, S. Y. (2006). Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism and ovarian responses to controlled ovarian hyperstimulation for IVF-ET. *Journal of human genetics*, 51(8), 665-670

18. Kumar, T. R., Wang, Y., Lu, N., & Matzuk, M. M. (1997). Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nature genetics*, 15(2), 201-204
19. Lalioti, M., Gerasimova, T., Anastasakis, D., Zattas, D., Seli, E., & Sakkas, D. (2010, June). A deleted form of FSH receptor, found in women with low response to FSH, impairs the function of the normal receptor when co-expressed in vitro. In *Human Reproduction* (Vol. 25, pp. 157-157). GREAT CLARENDON ST, OXFORD OX2 6DP, ENGLAND: OXFORD UNIV PRESS.
20. Lalioti, M. D. (2011). Impact of follicle stimulating hormone receptor variants in fertility. *Current opinion in obstetrics and gynecology*, 23(3), 158-167
21. Lessey, B. A. (2000). The role of the endometrium during embryo implantation. *Human reproduction* (Oxford, England), 15, 39-50.
22. Lledo, B., Guerrero, J., Turienzo, A., Ortiz, J. A., Morales, R., Ten, J., ... & Bernabeu, R. (2013). Effect of follicle-stimulating hormone receptor N680S polymorphism on the efficacy of follicle-stimulating hormone stimulation on donor ovarian response. *Pharmacogenetics and genomics*, 23(5), 262-268
23. Ludwig, A. H., Murawska, M., Panek, G., Timorek, A., & Kupryjanczyk, J. (2009). Androgen, progesterone, and FSH receptor polymorphisms in ovarian cancer risk and outcome. *Endocrine-related cancer*, 16(3), 1005-1016.
24. Lussiana, C., Guani, B., Mari, C., Restagno, G., Massobrio, M., & Revelli, A. (2008). Mutations and polymorphisms of the FSH receptor (*FSHR*) gene: clinical implications in female fecundity and molecular biology of *FSHR* protein and gene. *Obstetrical & gynecological survey*, 63(12), 785-795
25. Mohiyiddeen, L., Newman, W. G., Cerra, C., McBurney, H., Mulugeta, B., Roberts, S. A., & Nardo, L. G. (2013). A common Asn680Ser polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is not associated with ovarian response to gonadotropin stimulation in patients undergoing in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, 99(1), 149-155
26. Rockliff, H. E., Lightman, S. L., Rhidian, E., Buchanan, H., Gordon, U., & Vedhara, K. (2014). A systematic review of psychosocial factors associated with emotional adjustment in in vitro fertilization patients. *Human reproduction update*, dmu010
27. Salvi, R., & Pralong, F. P. (2010). Molecular characterization and phenotypic expression of mutations in genes for gonadotropins and their receptors in humans
28. Steven F., Palter, David L. *Reproductive physiology. Novak's Gynecology*, 13th Edition. Chapter 7. Lippincott Williams. 2002; 145-149
29. Stouffer RL. Pre-ovulatory events in the rhesus monkey follicle during ovulation induction. *Reprod. Biomed.* 2002; 2: 1-47.
30. Van Voorhis, B. J. (2007). In vitro fertilization. *New england journal of medicine*, 356(4), 379-386
31. Vilodre LC, Kohek MB, Spritzer PM. Screening of follicle-stimulating hormone receptor gene in women with premature ovarian failure in southern Brazil and associations with phenotype. *J Endocrinol Invest* 2008; 31:552-557.
32. World Health Organization. (1991). Infertility: a tabulation of available data on prevalence of primary and secondary infertility