مجله پیاورد سلامت
دوره ۱۸، شماره ۳، مرداد ۱۴۰۳، ۲۹۹-۲۹۱
مقاله پژوهشی

ارتباط پلی‌مورفیسم‌های اگزون ده ژن گیرنده FSH و نتیجه‌ی IVF در زنان ایرانی

ملیحه جوادی‌ارجمند[۱]، علیا دماوندی[۲]، حمید چوبینه[۳]، مجید کابلی[۴]، محسن قدمی[۵*]

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴
پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۲/۲۶

* نویسنده مسئول:
محسن قدمی؛
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email:
mghadami@tums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: هورمون گلیکوپروتئینی محرک فولیکول یا همان FSH وظایف خود را از طریق گیرنده‌اش (FSHR) اعمال می‌کند. این هورمون در زنانی که در سن باروری قرار دارند، موجب رشد و تکامل فولیکول‌ها در تخمدان در مرحله فولیکولی چرخه قاعدگی می‌شود. این هورمون به‌طور گسترده در درمان ناباروری استفاده قرار می‌شود. پلی‌مورفیسم‌های متعددی تاکنون در ژن FSHR گزارش شده است که در پاسخ تخمدانی تأثیرگذار هستند ولیکن ژن FSHR دارای دو پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی بسیار رایج در موقعیت‌های ۶۸۰ و ۳۰۷ در اگزون شماره ۱۰ می‌باشد. یکی از آن‌ها در جایگاه ۳۰۷ موجب تغییر آمینواسید ترئونین به آلانین شده و دیگری در جایگاه ۶۸۰ موجب تغییر آسپارژین به سرین می‌شود. مطالعات انجام شده نشان داده است که این دو پلی‌مورفیسم با پاسخ‌های متفاوت تخمدان و نتایج مختلف IVF در جمعیت‌های مختلف مرتبط است. بیشتر مطالعات تاکنون به‌طور ویژه بر روی rs6166 (p.Asn680Ser) انجام شده است، اما این مطالعه به بررسی ارتباط احتمالی بین rs6166 و rs6165 (p.Thr307Ala) و نتیجه‌ی IVF می‌پردازد.

روش بررسی: پلی‌مورفیسم‌های موجود در اگزون ۱۰ ژن FSHR پس از خون‌گیری و استخراج DNA با استفاده از روش PCR-RFLP در ۱۲۰ زن در دو گروه مساوی شامل زنان نابارور با IVF موفق و زنان نابارور با IVF ناموفق بررسی گردید. به‌منظور تأیید نتایج، تعیین توالی DNA برای برخی از نمونه‌های انتخاب شده انجام گرفت. در نهایت نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون کای دو تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: در هر دو SNP مورد بررسی تفاوت معنی‌داری در فراوانی آللی بین گروه IVF موفق و گروه IVF ناموفق، با در نظر گرفتن ویژگی‌های کلینیکی و پاراکلینیکی از جمله سن، وزن، مدت ازدواج و ... مشاهده نشد(P-value>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: باوجود نتایج متفاوت مطالعات انجام شده در خصوص تأثیر پلی‌مورفیسم‌های (rs6165 و rs6166) ژن FSHR در جمعیت های مختلف، با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار در فراوانی پلی‌مورفیسم‌های فوق در جمعیت مورد مطالعه، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که از این دو پلی‌مورفیسم برای پیش‌بینی نتیجه‌ی IVF در زنان نابارور ایرانی، نمی‌توان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ژن FSHR، پلی‌مورفیسم، لقاح آزمایشگاهی (IVF)، ناباروری

۱ کارشناس ارشد ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲ استادیار گروه فتودینامیک، مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی، پژوهشکده یارا، جهاد دانشگاهی علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳ دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴ استادیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵ دانشیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

مقدمه

هورمون محرک فولیکول (FSH) و هورمون لوتئینه کننده (LH) دو گلیکو پروتئینی هستند که از سلول‌هایی به نام گنادوتروف در هیپوفیز قدامی ترشح می‌شوند و برای عملکرد طبیعی غدد جنسی ضروری هستند(۱). در زنان، FSH در رشد فولیکول، بلوغ تخمک، تنظیم استروئیدوژنز و تکثیر سلول‌های گرانولوزا نقش دارد و باعث سنتز آنزیم تبدیل‌کننده‌ی آندروژن(آروماتاز) می‌شود(۲). هورمون FSH با گیرنده‌ی سطح سلولی خود، FSHR، که در موقعیت کروموزومی 2p21-p16 قرار دارد، تعامل دارد(٦-۳). ژن FSHR ۱۹۲ کیلوباز و حاوی ۱۰ اگزون است(۷). ناحیه N ترمینال دومین خارج سلولی (ECD) گیرنده توسط نه اگزون اول ژن کدگذاری می‌شود، اما ناحیه C ترمینال ECD، دومین گذرنده از غشا (TMD) و دومین درون سلولی (ICD) گیرنده توسط اگزون شماره ۱۰ ژن که بزرگ‌ترین اگزون است کدگذاری می‌شود. جهش‌های فعال‌کننده، جهش‌های غیرفعال‌کننده و SNPهای مختلف در نواحی کدکننده و اینترونیک ژن FSHR در جمعیت‌های مختلف شناسایی شده است(۸). بیش از ۹۰۰ SNP در پایگاه داده HapMap برای ژن FSHR گزارش شده است(۹). از هشت SNP موجود در مناطق کدکننده ژن FSHR، یکی در UTR'5 mRNA FSHR در موقعیت ۲۹- است (c-29G/A, rs1394205) و هفت SNP دیگر در اگزون شماره ۱۰ ژن در موقعیت کدون‌های ۳۰۷، ۳۲۹، ٤٤۹، ٥۲٤، ٥٦۷، ٦٦٥ و ٦۸۰ است. دو مورد از SNP هایی که مطالعات فراوانی روی آن‌ها انجام شده است و در اگزون شماره ۱۰ ژن قرار دارند عبارتند از: c. 919A/G, p. Thr307Ala, rs6165 (که در ناحیه به اصطلاح لولا ECD(hinge) قرار دارد) و c.2039A/G, p. Asn680Ser, rs6166 (که در ناحیه ICD گیرنده قرار دارد). مطالعات انجام شده حاکی از این است که این دو SNP با هم در عدم تعادل پیوستگی هستند(۱۳-۱۰ و ٦). روش IVF رایج‌ترین و مؤثرترین نوع ART (تکنولوژی کمک‌باروری) است. چنین روش‌هایی نیاز به تحریک تخمدان‌ها به صورت کنترل شده (COS) دارند. برای این منظور، تجویز FSH اگزوژن به‌طور گسترده‌ای به‌منظور افزایش بلوغ فولیکول‌ها و تخمک‌های متعدد استفاده می‌شود. با این حال، پاسخ تخمدان به FSH اگزوژن در بین زنانی که تحت IVF قرار می‌گیرند، متفاوت است و بر اساس تعداد تخمک‌ها به سه دسته‌ی ضعیف(غیربهینه)، طبیعی یا بیش پاسخ‌دهنده طبقه‌بندی می‌شوند. واضح است که عوامل زیادی مانند سن، میانگین طول سیکل قاعدگی، تعداد فولیکول‌های آنترال (AFC)، سطح پایه برخی از هورمون‌ها از جمله LH، FSH، E2، inhibin B و AMH همگی در تفاوت‌های پاسخ تخمدان مهم هستند(۱۸-۱٤).

روش بررسی

• انتخاب بیمار

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی بیماران زن مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری بیمارستان دکتر شریعتی تهران، انجام شد. انتخاب نمونه به صورت تصادفی بوده است. رضایت‌نامه از تمامی شرکت‌کنندگان گرفته شده است. در مجموع ۱۲۰ زن نابارور در این مطالعه مشارکت کردند که در نیمی از آن‌ها IVF موفقیت‌آمیز و در نیمی دیگر ناموفق بود. شرح حال دقیق پزشکی از تمامی بیماران جمع‌آوری شد. معیارهای IVF موفق شامل بارداری بالینی تأیید شده توسط آزمایش خون، وجود کیسه حاملگی و فعالیت قلب جنینی پس از درمان با IVF بود. در بیمارانی که IVF ناموفق داشتند، بارداری بالینی پس از انجام دو دوره IVF تأیید نشد. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: داشتن سیکل قاعدگی منظم ۳۵-۲۱ روزه، سن زیر ٤۰ سال و عدم مصرف دخانیات. ناباروری ناشی از عوامل مردانه مانند آزواسپرمی و واریکوسل از مطالعه خارج شد. علاوه بر این، زنان نابارور مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یا اندومتریوز از مطالعه حذف شدند. مشخصات بالینی و پاراکلینیکی بیماران در جدول ۱، ارایه شده است. به دنبال حساسیت‌زدایی کامل (پروتکل طولانی‌مدت) با استفاده از بوسرلین، آگونیست هورمون آزادکننده‌ی گنادوتروپین (Daroo Sazi Samen Co, Iran)، Gonal F (Serono، سوئیس) برای تحریک تخمدان در روز سوم سیکل بعدی تجویز شد.

جدول ۱: ویژگی‌های بالینی و پاراکلینیکی گروه‌های موفق و ناموفق IVF

متغیرها	IVF موفق	IVF ناموفق
سن(سال)	۲۷/۲۳± ٤/۳۲	۳۲/۱۲± ٤/٥۱
BMI (kg/m^2)	۲٥/۲± ٤	۲٤/۹± ٤/۱
مدت ازدواج(سال)	۷/۲± ۳/۲	۷/٥± ٤/۱
مدت ناباروری(سال)	٥/۲± ۳/۲	٥/٥± ٤/۱
میزان هورمون LH(mIU/ml)	٦/٥۲± ۲/۱۳	۷/٥۲± ۱/۹۸

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

میزان هورمون FSH(mIU/ml)	۳/۰٤ ±۵/۳۱	۱/۷۳ ±٤/٦۳
تعداد فولیکول آنترال	۲/۷۵ ±۱۰/۳	۲/۹ ±۷/۸
تعداد روزهای تحریک تخمدان	۲/۱ ±۱۲/۷	۱/۷۵ ±۱۲/۸
تعداد جنین انتقال‌یافته	۰/۸ ±۲/۵	۰/۵۸ ±۲/۷

* داده‌ها به صورت میانگین± انحراف‌معیار نشان داده شده‌اند.

** هورمون محرک فولیکول (FSH)، هورمون لوتئینه‌کننده (LH) و استرادیول در روز سوم از سیکل اندازه‌گیری شد.

• جداسازی DNA

از هر شرکت‌کننده ۵ میلی‌لیتر خون در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شد. DNA ژنومی از لکوسیت‌های خون محیطی با استفاده از کیت QIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN) و روش فنل- کلروفرم استخراج شد.

واریانت‌های Thr307Ala و Asn680Ser با استفاده از روش PCR-RFLP همان‌گونه که توسط Sudo و همکاران توضیح داده شد، شناسایی شدند(۱۹).

• تجزیه‌وتحلیل واریانت Asn680Ser

برای ناحیه نوکلئوتیدی ۱٦۲٤ تا ۲۱٤۳ در ژن FSHR، DNA ژنومی و مجموعه‌ای از پرایمرهای (F: 3′-TTTGTGGTCATCTGTGGCTGC-3′، و R :5′-CAAAGGCAAGGACTGAATTATCATT-3′) برای تکثیر قطعه DNA به اندازه ۵۲۰ جفت باز استفاده شد. DNA ژنومی در حجم ۲۵ میکرولیتر، حاوی ۱ میکرولیتر DNA ژنومی(۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم)، ۱ میکرولیتر پرایمرهای فوروارد و معکوس با غلظت ۱۰ (pmol/µl)، ۲ میکرولیتر DMSO ۲۰ درصد، ۱۲ میکرولیتر Master Mix و ۸ میکرولیتر ddH_2O تکثیر شد. پس از دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، PCR شامل ۳۰ چرخه دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ثانیه، annealing در دمای ٦۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله نهایی گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. به منظور تأیید تکثیر قطعه‌ی مورد نظر محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد بارگذاری شدند. سپس قطعات تکثیرشده با اندونوکلئاز محدودکننده‌ی BsrI در دمای ٦۵ درجه سانتی‌گراد در طول شب هضم گردیدند و روی ژل آگارز ۲/۵٪ الکتروفورز شدند. سه الگوی مختلف روی ژل مشاهده شد. نهایتا برخی از نمونه‌ها برای تأیید نتایج توالی یابی شدند.

• تجزیه‌وتحلیل واریانت Thr307Ala

روش nested PCR-RFLP برای تشخیص این نوع واریانت انجام شد. ناحیه نوکلئوتیدی ۹۳۱ تا ۱۵۷۸ ابتدا توسط DNA ژنومی به عنوان الگو و مجموعه‌ای از پرایمرهای زیر تکثیر شد: پرایمر′F:3-TCTGAGCTTCATCCAATTTGCA-5 پرایمر′R:3-GGGAAAGAGGGCAGCTGCAA-5 شرایط انجام PCR بدین صورت بود: دناتوراسیون اولیه در ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۱۰ چرخه دناتوراسیون در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، annealing در ٦۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه. در دور اول PCR، قطعات DNA به اندازه ٦۵۷ جفت باز تکثیر شد. دور دوم PCR با استفاده از مجموعه جدیدی از پرایمرها به شرح زیر انجام شد: پرایمر F:3'-CAAATCTATTTTAAGGCAAGAAGTTGATTATATGCCTCAG-5' و پرایمر R:3′-GTAGATTCCAATGCAGAGATCA-5′ در این چرخه، پس از دناتوراسیون اولیه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، ۲۵ چرخه دناتوراسیون در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، annealing در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ثانیه و مرحله نهایی گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. پروتکل‌های انجام PCR برای این واریانت طبق پروتکل Singhasena و همکاران انجام شد(۲۰). پس از هضم محصولات نهایی PCR با استفاده از آنزیم محدودکننده‌ی Bsu36I در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در طول شب، محصولات روی ژل آگارز ۲/۵ درصد بارگذاری و مشاهده شدند. به‌منظور تأیید نتایج به‌دست آمده توسط RFLP برخی از نمونه‌ها برای توالی‌یابی DNA ارسال شدند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری (IBM .2016 IBM Corp. Released SPSS (.Armonk, NY: IBM Corp .24.0 SPSS Statistics for Windows, Version تجزیه‌وتحلیل شد. عدد P کمتر از ۰/۰۵ برای همه آزمون‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای ارزیابی معنی‌داری تفاوت‌ها بین گروه‌ها از آزمون Chi-square (کای دو) استفاده شد.

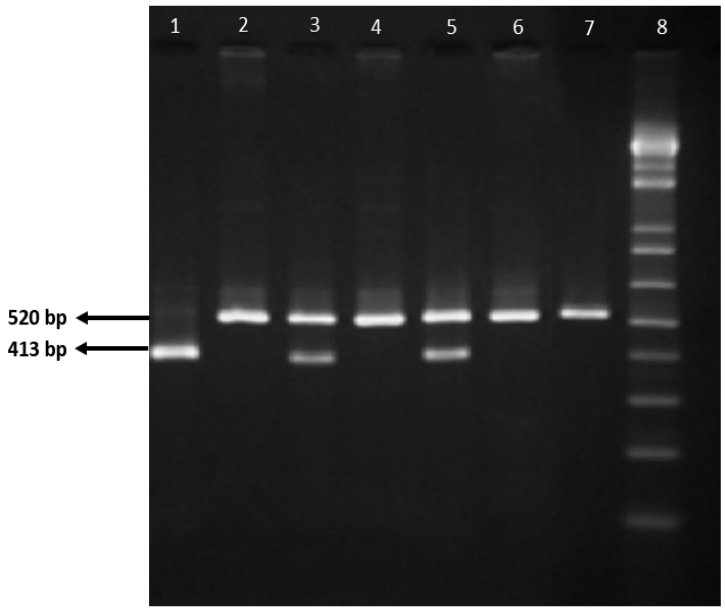
[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

یافته‌ها

شناسایی دو SNP در اگزون ۱۰ ژن FSHR پس از تکثیر DNA ژنومی استخراج شده توسط PCR انجام شد. آمپلیکون‌ها(قطعات تکثیری) برای هر دو SNP با آنزیم‌های محدودکننده خاص هضم شدند و بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد همان‌گونه که در شکل ۱ (Asn680Ser) و شکل ۲ (Thr307Ala) نشان داده شده است، الکتروفورز شدند. تعیین توالی DNA برای برخی از نمونه‌های انتخاب شده به‌منظور تأیید نتایج انجام شد. نتایج توالی‌یابی نیز یافته‌ها را تأیید کرد.

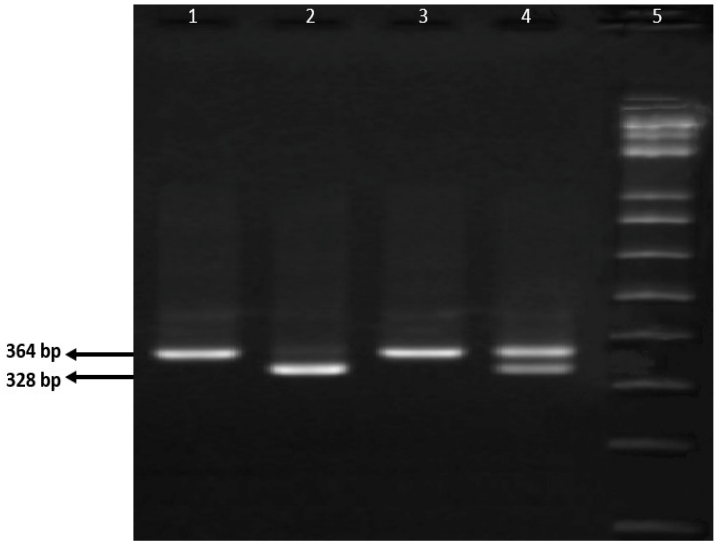
توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی بین بیماران IVF موفق و IVF ناموفق برای هر SNP در جدول ۲، نشان داده شده است. با توجه به مقدار عدد P برای rs6165 که مقدار ۰/۷۸ است و برای rs6166 این عدد برابر ۱ است، تفاوت معنی‌داری بین افراد با IVF موفق و IVF ناموفق در فرکانس‌های آللی مشاهده نشد.

مقایسه‌ی فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی مورد انتظار با فراوانی‌های مشاهده شده نشان داد که جمعیت مورد مطالعه برای هر دو SNP در تعادل هاردی واینبرگ قرار دارد(عدد P کوچک‌تر از ۰/۰۵).



شکل ۱: نتایج RFLP واریانت Asn680Ser ژن FSHR

ستون ۱: باند ٤١٣ جفت‌باز برای SS، ستون‌های ۲، ٤، ٦ و ۷: باند ۵۲۰ جفت‌باز برای NN، ستون‌های۳ و ۵: دو باند، ۵۲۰ و ٤١٣ جفت‌باز برای NS. ستون ۸: نردبان DNA (Ladder) ۱۰۰ جفت‌بازی



شکل ۲: نتایج RFLP واریانت Thr307Ala ژن FSHR

ستون‌های ۱ و ۳: باند ٣٦٤ جفت‌باز برای TT، ستون ۲: باند ۳۲۸ جفت‌باز برای AA، ستون ٤: دو باند، ٣٦٤ و ۳۲۸ جفت‌باز برای TA، ستون ۵: نردبان DNA ۱۰۰ جفت‌بازی

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

جدول ۲: فراوانی آللی و توزیع ژنوتیپی SNPهای rs6166 و rs6165 در گروه‌های موفق و ناموفق IVF

SNP	آلل‌ها/ ژنوتیپ‌ها	IVF ناموفق ۶۰ نفر	IVF موفق ۶۰ نفر	P-value	OR (٪CI 95)
Rs6166	A	۳۶ (۳۰ درصد)	۳۶ (۳۰ درصد)	۱	.
	G	۸۴ (۷۰ درصد)	۸۴ (۷۰ درصد)	.	.
	AA	۰ (۰ درصد)	۱۲ (۲۰ درصد)	۰/۰۲	۰/۰۳ (۰/۰۰۱ –۰/۵۵۵)
	AG	۳۶ (۶۰ درصد)	۱۲ (۲۰ درصد)	<۰/۰۰۰۱	۶ (۲/۶۵ –۱۳/۵۷)
	GG	۲۴ (۴۰ درصد)	۳۶ (۶۰ درصد)	۰/۰۳	۰/۴ (۰/۲۱ –۰/۹۲)
Rs6165	A	۳۶ (۳۰ درصد)	۳۸ (۳۲ درصد)	۰/۷۸	۰/۹۲ (۰/۵۳ –۱/۵۹)
	G	۸۴ (۷۰ درصد)	۸۲ (۶۸ درصد)	.	۱/۰۸ (۰/۶۲ –۱/۸۷)
	AA	۰ (۰ درصد)	۱۲ (۲۰ درصد)	۰/۰۲	۰/۰۳ (۰/۶۲ –۰/۵۵۵)
	AG	۳۶ (۶۰ درصد)	۱۴ (۲۳ درصد)	۰/۰۰۰۱	۴/۹۳ (۲/۲۳ –۱۰/۸۶)
	GG	۲۴ (۴۰ درصد)	۳۴ (۵۷ درصد)	۰/۰۷	۰/۵ (۰/۲۴۶ –۱/۰۵۴)

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه، حاکی از آن است که تفاوت معنی‌داری در rs6165 و rs6166 در اگزون ۱۰ ژن FSHR بین گروه‌های موفق و ناموفق IVF وجود ندارد. همان‌طور که در ابتدای مطالعه بیان شد، معیار IVF موفق برای بیماران مشاهده حاملگی بالینی بود. در جمعیت مورد مطالعه، نتیجه‌ی انجام IVF چه موفق و چه ناموفق تحت تأثیر این دو واریانت قرار نگرفت.

در سال‌های اخیر، مطالعات زیادی اهمیت و تأثیر ژنوتیپ FSHR، به‌ویژه پلی‌مورفیسم rs6166 در اگزون ۱۰ را بر پاسخ تخمدان و نتیجه IVF ارزیابی کرده‌اند، اما نتایج متناقض هستند. دو واریانت موجود در اگزون ۱۰ ژن FSHR، یعنی rs6166 و rs6165، برای تغییر اثر تحریک کنترل‌شده‌ی تخمدان در زنان با عملکرد طبیعی تخمدان پیشنهاد شده است(۱۳). بین این دو پلی‌مورفیسم، rs6166 به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است(۲۱). نقش و اهمیت Asn680Ser (rs6166) در رابطه با تحریک کنترل‌شده‌ی تخمدان ابتدا توسط Mayorga و همکاران بررسی شد(۱۴). نتایج مطالعه‌ی Perez و همکاران نشان داد که زنان هموزیگوت برای واریانت سرین، به غلظت‌های بالاتری از سطوح پایه هورمون FSH و گنادوتروپین افزایش یافته برای تحریک کنترل‌شده‌ی تخمدان (COS) نیاز داشتند ولیکن در نتایج بالینی تفاوتی مشاهده نشد. برخی مطالعات دیگر، رابطه‌ی بین FSH پایه، ژنوتیپ FSHR و پاسخ تخمدان را نشان داده‌اند(۲۴–۲۲و۱۹). با این حال، در برخی از مطالعات هیچ ارتباطی بین واریانت Asn680Ser ژن FSHR و پاسخ تخمدان پیدا نشده است(۲۹–۲۵). همان‌طور که در مطالعه‌ی Theron-Gerard و همکاران و Dieamant و همکاران نشان داده شده است، ژنوتیپ FSHR همچنین ممکن است بر حساسیت به FSH اگزوژن تأثیر بگذارد. دوزهای بالاتر FSH نوترکیب برای زنان هموزیگوت برای واریانت سرین در موقعیت ۶۸۰ و واریانت آلانین در موقعیت ۳۰۷ مورد نیاز است(۳۱و۳۰). نتایج هر دوی این مطالعات نشان می‌دهد که این دو پلی‌مورفیسم با پاسخ تخمدان مرتبط هستند اما به ذخیره‌ی تخمدان مربوط نمی‌شوند. در یک متا آنالیز بزرگ که توسط Yao و همکاران انجام شد، تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد تخمک یا میزان بارداری بین ژنوتیپ‌های مختلف Asn680Ser مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد(۳۲). علاوه بر بررسی ژنوتیپ‌های مختلف Asn680Ser، در مطالعه‌ی حاضر ژنوتیپ‌های مختلف واریانت Ala307Thr نیز بررسی شدند و ارتباط احتمالی آن‌ها با نتیجه‌ی IVF همراه با واریانت Asn680Ser بررسی گردید. در مطالعه‌ی دیگری که توسط Konig و همکاران انجام شد، تفاوت معنی‌داری در میزان تولد زنده پس از درمان بیماران با IVF و ژنوتیپ‌های مختلف واریانت Asn680Ser یافت نشد(۳۳). در مطالعه‌ی Klinkert و همکاران رابطه‌ی بین SNPهای ژن FSHR و تحریک تخمدان با گنادوتروپین‌ها بررسی شد. نتایج بدین صورت بود که در زنان هموزیگوت برای سرین در موقعیت ۶۸۰، میزان لانه گزینی و بارداری در مقایسه با بیمارانی که برای آسپاراژین در همین موقعیت هموزیگوت بودند، سه برابر بیشتر بود. همچنین در این مطالعه نشان داده شد که ژنوتیپ ژن FSHR با پاسخ ضعیف در IVF مرتبط نیست، که این یافته بر خلاف سایر

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

مطالعات بود(۲۷). در مطالعه‌ی Ganesh و همکاران فراوانی آللی آلل A برای پلی‌مورفیسم rs6166 و آلل G برای پلی‌مورفیسم rs6165 در زنانی که IVF موفق داشتند، در مقایسه با بیمارانی که IVF ناموفق داشتند، به‌طور قابل‌توجهی بالاتر بود. البته در این مطالعه، خاطر نشان شد که ترکیبی از پلی‌مورفیسم‌های چندین ژن کاندید نظیر استروژن و پروژسترون همراه با ژن گیرنده‌ی هورمون FSH (FSHR) برای ارزیابی نتایج IVF مورد نیاز است(۳٤). همان‌طور که اشاره شد، نتایج مطالعات گوناگون متناقض هستند و بین مطالعات مختلف که رابطه‌ی بین ژنوتیپ‌های ژن FSHR، پاسخ تخمدان و نتیجه‌ی IVF را بررسی کرده‌اند، سازگاری وجود ندارد. این تفاوت‌ها می‌تواند به‌دلیل عوامل متعددی مانند حجم نمونه، طراحی مطالعه، پروتکل تحریکی مورد استفاده برای تخمدان و نژادهای مختلف نمونه‌ها باشد. علاوه بر عوامل بالینی و بیوشیمیایی، دو مطالعه به بررسی عامل فارماکوژنتیک(۳٦و۳۵) برای پیش‌بینی پاسخ تخمدان پرداخته و دریافتند که هم عوامل ژنتیکی هم عوامل محیطی بر تحریک تخمدان‌ها تأثیرگذار هستند(۳۷).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که پلی‌مورفیسم‌های ژن FSHR در موقعیت ۳۰۷ و ٦۸۰ با نتیجه‌ی IVF در زنان ایرانی ارتباطی ندارد. هیچ تفاوتی در میزان حاملگی بالینی(نتیجه موفقیت‌آمیز IVF) بین گروه‌ها مشاهده نشد. از آن‌جایی که یافته‌های بحث برانگیز در جمعیت‌های مختلف در رابطه با تأثیر پلی‌مورفیسم‌های ژن FSHR بر پاسخ تخمدان و نتیجه‌ی IVF وجود دارد، انجام چنین مطالعاتی در جمعیت‌های مختلف ضروری است. یکی از محدودیت‌های پژوهش حاضر حجم نمونه‌ی آن بود. بنابراین، مطالعات بیشتری با حجم نمونه‌ی بزرگ‌تر در جمعیت ایرانی مورد نیاز است تا مشخص شود که آیا می‌توان از این دو پلی‌مورفیسم ژنتیکی در چرخه‌های قبل از انجام IVF برای پیش‌بینی موفقیت IVF و بارداری بالینی استفاده کرد یا خیر؟ به‌منظور افزایش حساسیت و اختصاصیت، لازم است مطالعات ترکیبی دیگری به بررسی پلی‌مورفیسم‌های سایر ژن‌های کاندید مانند استروژن، پروژسترون و LHR صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر برگرفته از پایان‌نامه به کد اخلاق IR.TUMS.REC.1394.1717 است که در کمیته پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به تصویب رسیده است. از همه‌ی نویسندگان که در انجام این پژوهش یاری داده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Desai SS, Roy BS & Mahale SD. Mutations and polymorphisms in FSH receptor: Functional implications in human reproduction. Reproduction 2013; 146(6): R235-R48.

2. Laven JSE, Mulders AGMG, Suryandari DA, Gromoll J, Nieschlag E, Fauser BCJM, et al. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphisms in women with normogonadotropic anovulatory infertility. Fertility and Sterility 2003; 80(4): 986-92.

3. Rousseau-Merck MF, Atger M, Loosfelt H, Milgrom E & Berger R. The chromosomal localization of the human follicle-stimulating hormone receptor gene (FSHR) on 2p21-p16 is similar to that of the luteinizing hormone receptor gene. Genomics 1993; 15(1): 222-4.

4. Simoni M, Gromoll J & Nieschlag E. The follicle-stimulating hormone receptor: Biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. Endocrine Reviews 1997; 18(6): 739-73.

5. Themmen APN & Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: Elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. Endocrine Reviews 2000; 21(5): 551-83.

6. Simoni M, Nieschlag E & Gromoll J. Isoforms and single nucleotide polymorphisms of the FSH receptor gene: Implications for human reproduction. Human Reproduction Update 2002; 8(5): 413-21.

7. Gromoll J, Dankbar B & Gudermann T. Characterization of the 5'flanking region of the human follicle-stimulating hormone receptor gene. Molecular and Cellular Endocrinology 1994; 102(1-2): 93-102.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

8. Lussiana C, Guani B, Mari C, Restagno G, Massobrio M & Revelli A. Mutations and polymorphisms of the FSH receptor (FSHR) gene: Clinical implications in female fecundity and molecular biology of FSHR protein and gene. Obstetrical and Gynecological Survey 2008; 63(12): 785-95.

9. Cannarella R, Musso N, Condorelli RA, Musmeci M, Stefani S, Aversa A, et al. The 2039 A/G FSH receptor gene polymorphism influences glucose metabolism in healthy men. Endocrine 2020; 70(3): 629-34.

10. Aittomaki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. Cell 1995; 82(6): 959-68.

11. Simoni M, Gromoll J, Hoppner W, Kamischke A, Krafft T, Stahle D, et al. Mutational analysis of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor in normal and infertile men: Identification and characterization of two discrete FSH receptor isoforms1. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1999; 84(2): 751-5.

12. Gromoll J & Simoni M. Follicle-stimulating-hormone receptor and twinning. The Lancet 2001; 357(9251): 231-2.

13. Gromoll J & Simoni M. Genetic complexity of FSH receptor function. Trends in Endocrinology and Metabolism 2005; 16(8): 368-73.

14. Mayorga MP, Gromoll J, Behre HM, Gassner C, Nieschlag E & Simoni M. Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2000; 85(9): 3365-9.

15. Van-Santbrink EJ & Fauser BC. Urinary follicle-stimulating hormone for normogonadotropic clomiphene-resistant anovulatory infertility: Prospective, randomized comparison between low dose step-up and step-down dose regimens. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1997; 82(11): 3597-602.

16. Bennink HJC, Fauser BC & Out HJ. Recombinant follicle-stimulating hormone (FSH; Puregon) is more efficient than urinary FSH (Metrodin) in women with clomiphene citrate-resistant, normogonadotropic, chronic anovulation: A prospective, multicenter, assessor-blind, randomized, clinical trial. European puregon collaborative anovulation study group. Fertility and Sterility 1998; 69(1): 19-25.

17. Imani B, Eijkemans MJ, Faessen GH, Bouchard P, Giudice LC & Fauser BCJM. Prediction of the individual follicle-stimulating hormone threshold for gonadotropin induction of ovulation in normogonadotropic anovulatory infertility: An approach to increase safety and efficiency. Fertility and Sterility 2002; 77(1): 83-90.

18. Wunsch A, Sonntag B & Simoni M. Polymorphism of the FSH receptor and ovarian response to FSH. Annales d'Endocrinologie 2007; 68(2-3): 160-6.

19. Sudo S, Kudo M, Wada SI, Sato O, Hsueh AJW & Fujimoto S. Genetic and functional analyses of polymorphisms in the human FSH receptor gene. Molecular Human Reproduction 2002; 8(10): 893-9.

20. Singhasena W, Pantasri T, Piromlertamorn W, Samchimchom S & Vutyavanich T. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism in chronic anovulatory women, with or without polycystic ovary syndrome: A cross-sectional study. Reproductive Biology and Endocrinology 2014; 12(86): 1-7.

21. Mohiyiddeen L & Nardo LG. Single-nucleotide polymorphisms in the FSH receptor gene and ovarian performance: Future role in IVF. Human Fertility (Cambridge, England) 2010; 13(2): 72-8.

22. De-Castro F, Ruiz R, Montoro L, Perez-Hernandez D, Padilla ESC, Real LM, et al. Role of follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism in the efficacy of follicle-stimulating hormone. Fertility and Sterility 2003; 80(3): 571-6.

23. De-Koning C, Benjamins T, Harms P, Homburg R, Van-Montfrans JM, Gromoll J, et al. The distribution of FSH receptor isoforms is related to basal FSH levels in subfertile women with normal menstrual cycles. Human Reproduction 2006; 21(2): 443-6.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

24. Jun JK, Yoon JS, Ku SY, Choi YM, Hwang KR, Park SY, et al. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism and ovarian responses to controlled ovarian hyperstimulation for IVF-ET. Journal of Human Genetics 2006; 51(8): 665-70.

25. Daelemans C, Smits G, De-Maertelaer V, Costagliola S, Englert Y, Vassart G, et al. Prediction of severity of symptoms in iatrogenic ovarian hyperstimulation syndrome by follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2004; 89(12): 6310-5.

26. Greb RR, Grieshaber K, Gromoll J, Sonntag B, Nieschlag E, Kiesel L, et al. 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. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2005; 90(8): 4866-72.

27. Klinkert ER, Te-Velde ER, Weima S, Van-Zandvoort PM, Hanssen RGJM, Nilsson PR, et al. FSH receptor genotype is associated with pregnancy but not with ovarian response in IVF. Reproductive Biomedicine Online 2006; 13(5): 687-95.

28. Mohiyiddeen L, Newman WG, Mc-Burney H, Mulugeta B, Roberts SA & Nardo LG. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphisms are not associated with ovarian reserve markers. Fertility and Sterility 2012; 97(3): 677-81.

29. Mohiyiddeen L, Newman WG, Cerra C, Mc-Burney H, Mulugeta B, Roberts SA, et al. 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 2013; 99(1): 149-55.

30. Theron-Gerard L, Pasquier M, Czernichow C, Cedrin-Durnerin I & Hugues J. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphism and ovarian function. Gynecologie, Obstetrique and Fertilite 2007; 35(2): 135-41.

31. Dieamant F, Petersen CG, Vagnini LD, Petersen B, Ricci J , Nicoletti A, et al. The polymorphism Ala307Thr of the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) gene is associated with different doses of recombinant FSH received during IVF/ICSI treatment. JBRA Assist Reprod 2023; 27(1): 78-84.

32. Yao Y, Ma CH, Tang HL & Hu YF. Influence of follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) Ser680Asn polymorphism on ovarian function and in-vitro fertilization outcome: A meta-analysis. Molecular Genetics and Metabolism 2011; 103(4): 388-93.

33. Konig TE, Van-Der-Lee J, Schats R & Lambalk CB. The relationship between FSH receptor polymorphism status and IVF cycle outcome: A retrospective observational study. Reproductive Biomedicine Online 2019; 39(2): 231-40.

34. Ganesh V, Venkatesan V, Koshy T, Reddy SN, Muthumuthiah S & Paul SFD. Association of estrogen, progesterone and follicle stimulating hormone receptor polymorphisms with in vitro fertilization outcomes. Systems Biology in Reproductive Medicine 2018; 64(4): 260-5.

35. De-Castro F, Moron FJ, Montoro L, Real LM & Ruiz A. Pharmacogenetics of controlled ovarian hyperstimulation. Pharmacogenomics 2005; 6(6): 629-37.

36. Moron FJ & Ruiz A. Pharmacogenetics of controlled ovarian hyperstimulation: Time to corroborate the clinical utility of FSH receptor genetic markers. Pharmacogenomics 2010; 11(11): 1613-8.

37. Altmae S, Hovatta O, Stavreus-Evers A & Salumets A. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: Where do we stand today? Human Reproduction Update 2011; 17(6): 813-28.

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

Journal of Payavard Salamat
Vol. 18, No. 3, Aug 2024

Relationship between FSH Receptor's Exon 10 Polymorphisms with IVF Results in Iranian Women

Maliheh Javadi-Arjmand[1] (M.S.), Elia Damavandi[2] (M.D.), Hamid Choobineh[3] (Ph.D.), Majid Kabuli[4] (M.D.), Mohsen Ghadami[5*] (M.D.)

1 Master of Science in Human Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Assistant Professor, Department of Photodynamic, Medical Laser Research Center, Yara Institute, ACECR, Tehran, Iran
3 Associate Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4 Assistant Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5 Associate Professor, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Received: 14 Jan. 2024
Accepted: 15 May. 2024

Background and Aim: Follicle stimulating glycoprotein hormone (FSH) exerts its functions through its receptor (FSHR). In women of reproductive age, this hormone causes the growth and development of follicles in the ovary during the follicular phase of the menstrual cycle. This hormone is widely used in the treatment of infertility. Several polymorphisms have been reported so far in the FSHR gene, which are effective in the ovarian response, but the FSHR gene has two very common single nucleotide polymorphisms at positions 680 and 307 in exon 10. One of them at position 307 changes the amino acid threonine to alanine and the other at position 680 changes asparagine to serine. The polymorphism at position 307 of exon 10 is in the extracellular region of the receptor and the binding site of the hormone, which can be affected in response to internal and external FSH stimulation. These two SNPs have been reported to be associated with various ovarian responses and IVF outcomes in different populations. Different studies have particularly focused on rs6166 (p. Asn680Ser), but this study was conducted to investigate the possible association between rs6166 and rs6165 (p. Thr307Ala) and the IVF outcome.

Materials and Methods: After blood sampling and DNA extraction, the two polymorphisms in exon 10 of FSHR gene were analyzed using PCR-RFLP method in 120 women randomly assigned to two equal groups including IVF successful and IVF unsuccessful infertile women. The selection of patients to enter the study as well as the criteria for successful IVF are described in the text. In order to confirm the results, DNA sequencing was done for some selected samples. Finally, the results were analyzed using SPSS software.

Results: No significant differences were found in either SNPs between successful IVF and unsuccessful IVF patients in allelic frequencies (P-value>0.05).

Conclusion: Despite the different results of the studies conducted regarding the effect of FSHR gene polymorphisms (rs6165 and rs6166) in different populations, considering the lack of significant difference in the frequency of the above polymorphisms in the studied population, it is concluded that these two polymorphisms cannot be used to predict the outcome of IVF in Iranian infertile women.

Keywords: FSHR Gene, Polymorphism, In Vitro Fertilization, Infertility

*** Corresponding Author:**
Ghadami M
Email:
mghadami@tums.ac.ir

[Downloaded from payavard.tums.ac.ir on 2025-04-05]

Copyright © 2024 the Authors. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).
Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.