

# ***TRABAJO FIN DE MÁSTER***

***en***

## ***Biología y Tecnología Aplicada a la Reproducción Humana Asistida***

**TÍTULO: Farmacogenómica de la respuesta ovárica:  
¿Son los polimorfismos genéticos del receptor de la  
hormona foliculoestimulante una opción para la  
individualización de los tratamientos de estimulación  
ovárica?**

Autor: Iolanda López Priego

Tutora: Maria Gaytán Muñoz

Alcobendas, septiembre 2023

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
1- INDIVIDUALIZACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS .....	2
I. Biomarcadores predictores de la respuesta ovárica.....	3
II. Variabilidad interindividual.....	4
2- FARMACOGENÓMICA .....	8
I. Historia de la farmacogenómica.....	8
II. Polimorfismos genéticos.....	9
III. Importancia de los polimorfismos genéticos.....	9
IV. Genética de poblaciones de SNPs de receptores de gonadotropinas .....	10
V. Gen FSHR.....	10
VI. Polimorfismos genéticos del FSHR .....	11
VII. Impacto de los SNPs de FSHR en la fertilidad femenina .....	13
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	16
I. JUSTIFICACIÓN .....	16
II. OBJETIVO GENERAL .....	17
III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
RECOPIACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL .....	18
1- POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y RESPUESTA OVÁRICA A LAS GONADOTROPINAS .....	18
I. Asn680Ser (c.2039A>G, rs6166).....	18
II. Ala307Thr (c.919G>A, rs6165) .....	20
III. Relación SNPs FSHR y SHO.....	22
2- POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y RESERVA OVÁRICA .....	24
I. Menarquia y edad menopáusica .....	24
II. Insuficiencia ovárica precoz (IOP).....	26
III. Marcadores de reserva ovárica; AMH y AFC.....	27
3- POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y DURACIÓN/DINÁMICA DE LA MENSTRUACIÓN .....	29
4- POLIMORFISMOS GENÉTICOS E IMPLICACIONES EN ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS..	30
I. SOP:.....	30
II. Endometriosis:.....	33
CONCLUSIONES .....	35
BIBLIOGRAFIA .....	36

## RESUMEN

En los programas de reproducción asistida, la predicción de las pacientes de riesgo se ha convertido en un verdadero desafío para los médicos involucrados en los tratamientos de hiperestimulación ovárica controlada (HOC). La respuesta ovárica difiere considerablemente entre las mujeres, y es esta variabilidad una de las dificultades a las que nos enfrentamos en los tratamientos de fecundación in vitro (FIV), dando lugar a respuestas inesperadas en el resultado de los tratamientos, que pueden variar desde baja a alta respuesta, con el desarrollo del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) el cual es potencialmente mortal. Numerosas investigaciones se centran en conocer cuáles son los factores que modifican esta respuesta, debido a que se ha convertido en un problema generalizado con repercusiones clínicas y económicas para el paciente.

El campo de la farmacogenómica nace de la evidencia de que los factores genéticos parecen ser responsables de algunas reacciones adversas a algunos de los fármacos administrados. A lo largo de la última década se han buscado marcadores genéticos que pudiesen explicar la variabilidad interindividual en respuesta a los tratamientos de la HOC y se ha descrito todo un espectro de posibles mutaciones y polimorfismos (SNPs) en las gonadotropinas humanas y en sus genes receptores. El gen del receptor de la hormona foliculoestimulante (FSHR) es el principal candidato para poder explicar las diferencias en el resultado de la HOC, ya que está bien establecido que la acción fisiológica de la hormona foliculoestimulante (FSH) depende de la activación específica de su receptor. Esta revisión bibliográfica pretende dar una versión actualizada acerca de los SNPs más estudiados asociados al gen FSHR y como estos pueden estar relacionados con una respuesta deficiente durante HOC, además de su efecto en la fertilidad femenina. Se plantea la posibilidad de la utilización de estos biomarcadores en el campo clínico para predecir la respuesta ovárica.

**Palabras clave:** Farmacogenómica, hiperestimulación ovárica controlada (HOC), receptor de la FSH (FSHR), polimorfismos genéticos (SNPs), respuesta ovárica.

## INTRODUCCIÓN

La prevalencia de la infertilidad va en aumento, llegando a afectar en la actualidad a un 15% de la parejas que se encuentran en edad reproductiva, y es un hecho que conlleva implicaciones a nivel médico, social y económico. No fue hasta el desarrollo de las técnicas de reproducción asistida como la Fecundación In Vitro (FIV) que algunas de las causas de infertilidad que afectan a las pacientes se fueron superando, hasta día de hoy, en el que se estima que alrededor del 2 y el 3% de los nacimientos en países desarrollados son el resultado de estas técnicas (1). El objetivo principal de las técnicas de reproducción asistida (ART) es brindar soluciones personalizadas seguras y efectivas para ayudar a las parejas infértiles a obtener un recién nacido vivo. Este objetivo se debe alcanzar en el menor tiempo posible y evitando consecuencias negativas para la madre y los recién nacidos (2). En las últimas décadas ha existido la necesidad continua de desarrollar protocolos cada vez más efectivos y menos dañinos para las pacientes.

Los resultados obtenidos en un tratamiento de FIV en gran medida dependen de un procedimiento de rutina realizado en las clínicas de fertilidad, la HOC, que consiste en la administración de gonadotropinas exógenas, generalmente FSH. La FSH da lugar a la inducción ovárica, permitiendo controlar el crecimiento folicular. El objetivo final de la HOC consiste en poder obtener un número óptimo de ovocitos maduros para poder seleccionar el embrión más viable y posteriormente transferirlo al útero, y por tanto, obtener mejores tasas de embarazo. Se ha demostrado que este protocolo de inducción representa una buena opción para tratar algunas de las causas más comunes de infertilidad femenina y que además el estudio de su mecanismo de acción ha proporcionado útiles conocimientos sobre la fisiología del eje hipotalámico-pituitario-ovárico y más concretamente sobre sus mecanismo de control hormonal (1)(3)(4). Debido a que las gonadotropinas son las hormonas fundamentales que controlan la actividad ovárica, alteraciones genéticas como por ejemplo algunos polimorfismos genéticos en las propias gonadotropinas o bien en sus receptores pueden alterar la respuesta gonadal a estas glicoproteínas. Por este motivo algunos polimorfismos se podría considerar reguladores de la actividad hormonal (1)(5).

### 1- Individualización de los tratamientos

La individualización y adaptación de los tratamientos administrados a cada una de las pacientes es fundamental para el manejo óptimo y adecuado de un protocolo de

estimulación, con el objetivo de conseguir el mayor número de ovocitos y, por tanto, una mayor probabilidad de gestación. Por ese motivo la predicción de la respuesta y reserva ovárica es de gran importancia. Un factor clave y determinante en el resultado de una HOC es la correcta selección de la dosis inicial de gonadotropinas exógenas administrada a las pacientes. Por lo tanto, debido a que la variabilidad en la reserva ovárica funcional (folículos reclutables) es muy amplia entre mujeres, la individualización de los tratamientos es clave en la obtención de buenos resultados en la HOC (6). A día de hoy, las mujeres que presentan una reserva ovárica normal, es decir de 10 a 15 folículos antrales, son las pacientes con mejores tasas de RNV en ciclos con transferencias de embriones en fresco (TE) (6).

### **I. Biomarcadores predictores de la respuesta ovárica**

Se han postulado varios parámetros como predictores de la respuesta ovárica. No es posible medir directamente la función ovárica, y por lo tanto, se utilizan otros marcadores como la edad, el índice de masa corporal, marcadores séricos [FSH, inhibina B, 17- $\beta$ -estradiol y hormona antimülleriana (AMH)] y/o variables ecográficas [recuento de folículos antrales (AFC), volumen ovárico y el flujo sanguíneo del estroma ovárico] (3). En comparación con el número de folículos primordiales, que no es posible evaluarlos en vivo, el grupo de folículos antrales si se pueden medir mediante el uso de técnicas de ultrasonido bidimensionales o tridimensionales, el conocido AFC, o con ensayos hormonales como la evaluación de la AMH. En particular estos dos últimos son considerados unos de los mejores predictores del potencial y de la reserva ovárica de la paciente, ya que permiten indirectamente la obtención de una estimación confiable del número restante de folículos primordiales en los ovarios (1)(5). Por lo tanto el valor que se obtenga se puede utilizar para calcular las dosis de gonadotropinas exógenas que se van a administrar en la HOC. Sin embargo, estos dos biomarcadores no son capaces de predecir las tasas de embarazo y en el caso de aplicarlos simultáneamente no aumenta el poder predictivo de la respuesta ovárica (2)(3).

Estos marcadores aunque han resultado ser muy útiles, muestran limitaciones debido a que solamente en base a la reserva ovárica que muestra la paciente no se puede explicar completamente la respuesta individual a la estimulación ovárica.

## II. Variabilidad interindividual

Es de suma importancia poder predecir la respuesta de una paciente y clasificarla como normo respondedora, baja respondedora o alta respondedora, de manera que se pueda adaptar específicamente el protocolo de estimulación para evitar la cancelación del ciclo o complicaciones mayores, como por ejemplo que puedan desarrollar SHO. Pero aunque des de las clínicas de fertilidad se intenta predecir la respuesta ovárica de las pacientes, siguen existiendo casos de mujeres que responden de manera o bien deficiente o exagerada a la estimulación con gonadotropinas a pesar de presentar parámetros ováricos adecuados (2)(7).

### **Bajas respondedoras:**

Se clasifican como bajas respondedoras a aquellas mujeres que no responden de adecuadamente a la estimulación ovárica controlada o también conocida como baja respuesta. Aunque sean varias las causas que puedan dar lugar a una baja respuesta, el principal factor que puede causarla es la disminución de la reserva ovárica, es decir, la disminución del número de folículos que se va dando a lo largo de la vida reproductiva de la mujer. Este descenso de la reserva ovárica puede ser acelerado por diferentes causas, como por ejemplo la contaminantes ambientales, cirugía ovárica quimioterapia/radioterapia, enfermedades autoinmunes, tabaquismo y alteraciones genéticas o determinados rasgos genéticos. Es decir, la baja respuesta no puede atribuirse a una sola causa, y se caracteriza por abarcar a una población ampliamente heterogénea.

Existen varios criterios para la detección y clasificación de pacientes bajas respondedoras. En 2011 la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), presentó los criterios de Bolonia, en los que se concluye que una paciente es baja respondedora si muestra al menos dos de los tres criterios siguientes: (8)

- a) Episodio previo de respuesta ovárica deficiente después de someterse a una estimulación ovárica (si se obtuvieron  $\leq 3$  ovocitos con una dosis estándar de medicación).
- b) Presentación de test de reserva ovárica anormales. Resultado de AFC y de la AMH con niveles variables de  $<5$  a 7 folículos o  $<0.5$  a 1.1 ng/mL respectivamente.
- c) Edad materna avanzada o mujeres  $<40$  años que presenten otro factor de riesgo de baja respuesta. Para identificar bajas respondedoras entre mujeres  $<40$  años es

suficiente documentar una reserva ovárica disminuida, en ausencia de estimulación ovárica.

Aunque la implementación de los criterios de Bolonia permitió aumentar el número de pacientes incluidas en los diferentes estudios, el tiempo ha demostrado que es inevitable que siga habiendo una gran heterogeneidad entre las pacientes bajas respondedoras.

Finalmente, para abordar esta necesidad, en 2016 se desarrolló un nuevo enfoque para categorizar a mujeres con baja respuesta, los criterios de POSEIDON (Patient-Oriented Strategies Encompassing Individualized Oocyte Number). Estos criterios siguieron una nueva clasificación para las pacientes con reserva ovárica disminuida o respuesta ovárica deficiente al tratamiento exógeno con gonadotropinas. Nos indican cual es la cantidad de ovocitos necesarios para lograr al menos un embrión euploide y ofrecen una mejor estratificación de las pacientes bajas respondedoras **(2)(8)**.

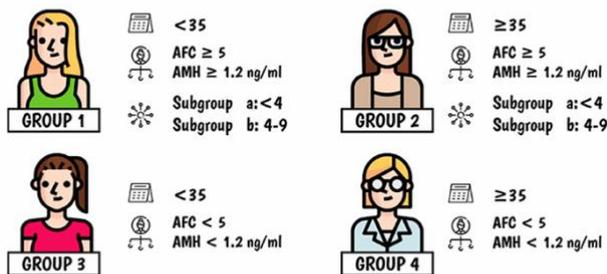
Subdividen las pacientes en 4 grupos en función de una combinación de parámetros cuantitativos y cualitativos, que incluyen la edad y las tasa de aneuploidías esperadas, los biomarcadores ováricos (AFC y la AMH ) y la respuesta ovárica en relación con el número de ovocitos recuperados en HOC anteriores.

- Grupo 1: Pacientes menores de 35 años con un número deficiente (<4) o subóptimo (4–9) de ovocitos recuperados después de una HOC convencional a pesar de la presencia de una reserva ovárica adecuada, definida por un AFC de  $\geq 5$  y/o un AMH  $\geq 1,2$  ng/mL.
- Grupo 2: Pacientes mayores de 35 años con un número deficiente (<4) o subóptimo (4–9) de ovocitos recuperados después de una HOC convencional a pesar de la presencia de una de una reserva ovárica adecuada, definida por un AFC de  $\geq 5$  y/o un AMH  $\geq 1,2$  ng/mL.
- Grupo 3: Pacientes menores de 35 años, con una reserva ovárica pobre, definida por AFC de <5 y/o un AMH < 1,2 ng/mL.
- Grupo 4: Pacientes mayores de 35 años, con una reserva ovárica pobre, definida por AFC de <5 y/o un AMH < 1,2 ng/mL.

La existencia de los grupos 1 y 2 en la clasificación de POSEIDON corrobora que los biomarcadores como AMH y AFC siguen siendo en ocasiones insuficientes a la hora de predecir la respuesta ovárica de las pacientes, ya que claramente mujeres que presentan una reserva ovárica aparentemente normal terminan presentando una baja respuesta ovárica después de la HOC **(2)**.

Figura 1: Criterios de Poseidón en pacientes con bajo pronóstico en TRA. Se pueden categorizar las pacientes en cuatro grupos en función de parámetros cuantitativos y cualitativos. 1. Edad del paciente y la tasa de aneuploidía embrionaria esperada; 2. Biomarcadores ováricos, como el AFC y/o AMH; y 3. Respuesta ovárica de la paciente en términos de cantidad de ovocitos, siempre y cuando se haya realizado un ciclo de estimulación anterior.

### LOW PROGNOSIS GROUPS



1. Age
2. Ovarian Biomarkers (AMH and/or AFC)
3. No. oocytes retrieved if previous OS cycle

Nota: Conforti A, Esteves SC, Cimadomo D, Vaiarelli A, Di Rella F, Ubaldi FM, et al. Management of Women With an Unexpected Low Ovarian Response to Gonadotropin. Front Endocrinol. 27 de junio de 2019;10:387.

### Altas respondedoras:

Las pacientes que después de una HOC presentan una respuesta folicular exagerada con más de 15 ovocitos recuperados en la punción folicular se denominan altas respondedoras. La prevalencia de la alta respuesta, el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) leve, entre las mujeres que se someten a HOC gira en torno al 3-6% y suele variar con la edad de la mujer, su incidencia disminuye con la edad. Por otro lado, la incidencia de casos de SHO graves y clínicamente relevantes gira en torno al 0.1-0.3% (1)(5). Varios casos demuestran que puede suceder una situación parecida a la mencionada en las pacientes bajas respondedoras, es decir, aunque muestren una reserva ovárica aparentemente normal, algunas mujeres pueden llegar a tener una respuesta exagerada a la HOC. Y la complicación adicional en este caso, es que no solo se da una respuesta ovárica mayor a la esperada sino que también pueden desarrollar SHO, el cual representa una de las complicaciones más serias en las TRA.

El SHO es un síndrome que surge como consecuencia de una respuesta exagerada a la estimulación ovárica e la inducción de la ovulación. SHO se desarrolla después del tratamiento con gonadotropina coriónica humana (hCG) que se utiliza para desencadenar la maduración folicular final, o más tarde, cuando se establece el embarazo y ha

comenzado la producción endógena de hCG. En la actualidad, esta reacción adversa a la estimulación ovárica se puede evitar hasta cierto punto, utilizando el agonista de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en lugar de la hCG. Sin embargo, algunas mujeres todavía pueden hiporesponder y desarrollar SHO (9). Este síndrome da lugar a un gran agrandamiento ovárico, una alta concentración de esteroides sexuales y la extravasación de fluidos desde los vasos sanguíneos al interior de las cavidades y por lo tanto se genera una acumulación de exudado extravascular. Esta acumulación de exudado extravascular es generada por un aumento de la permeabilidad de los capilares ováricos y un desplazamiento masivo de líquido intravascular a la cavidad abdominal **(1)(5)**. Puede provocar hemoconcentración, disminución de la perfusión de muchos órganos vitales y una propensión a sufrir fenómenos tromboembólicos. Estos cambios suelen ir acompañados de una esteroidogénesis ovárica exagerada, de la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y de un marcado agrandamiento de los ovarios. Finalmente como complicación más extrema se puede dar un fallo multiorgánico, incluidas las disfunciones renales, la hepática y la respiratoria **(9)(10)**.

Aunque la fisiopatología de SOP todavía no se comprende por completo, el bajo peso, la edad joven o la concentración sérica alta AMH pueden ser factores de riesgo para su desarrollo. Además se han visto que hay varios casos de SHO que podrían ser debidos a los rasgos genéticos de cada individuo, concretamente se conoce que las mutaciones en el gen FHSR podrían tener un papel importante **(9)(10)**.

Finalmente, teniendo en consideración los dos casos que se pueden dar en pacientes sometidas a HOC, que sean bajas respondedoras o bien altas respondedoras, se cree que los contaminantes ambientales, así como los rasgos genotípicos de cada individuo juegan un papel importante. Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos que subyacen a esta inesperada respuesta a la estimulación ovárica no se comprenden completamente **(4)(2)**. Esta heterogeneidad también se cree que puede depender de factores como la edad, la reserva ovárica o el estado endocrino. Muchas de las investigaciones que evalúan múltiples parámetros bioquímicos se centran en dos fenotipos extremos derivados de esta variabilidad; respuesta ovárica insuficiente o malas respondedoras y respuesta ovárica excesiva **(1)**. Por lo tanto, la predicción de la respuesta ovárica a la estimulación es de suma importancia para el éxito y la seguridad del tratamiento **(1)**.

## **2- Farmacogenómica**

Esta revisión bibliográfica se centra en la importancia y las ventajas que supone conocer a priori el perfil genético de cada paciente antes de iniciar un tratamiento de HOC, permitiendo elegir el protocolo y las dosis adecuadas para obtener una respuesta ovárica óptima y reduciendo las posibles complicaciones. De esta idea de individualizar los tratamientos de reproducción asistida en base al perfil genético de las pacientes, nace la idea de la farmacogenómica, la cual pretende aportar información adicional, ya que cada paciente puede reaccionar de forma diferente ante un mismo medicamento, lo que depende en gran medida del código genético (11).

### **I. Historia de la farmacogenómica**

El origen de la farmacogenética se remonta al año 1902, donde Garrod utilizó el término errores congénitos del metabolismo para describir el fracaso de las enzimas metabolizadoras para desintoxicar sustancias exógenas. Más adelante, en la década de los años 50 describieron el término conocido como reacciones adversas a los medicamentos (RAM), donde vieron que algunas de ellas estaban relacionadas con ciertas variaciones genéticas en la actividad enzimática. Pero no fue hasta el año 1957 por Motulsky, que fue quien perfeccionó el concepto de que los defectos hereditarios del metabolismo pueden explicar las diferencias individuales en la respuesta a los fármacos y finalmente el término fue acuñado en el año 1959 por Vogel. Este concepto surge de la convergencia de los avances en el campo de la farmacología y de la genética, y se basa en el estudio de como influyen las variaciones en la estructura genética entre individuos sobre la respuesta a los fármacos. Recientemente, ha aparecido un nuevo término, la farmacogenómica, la cual describe el impacto que puede tener el genoma completo y sus productos, como el ARNm y las proteínas, en la respuesta a los fármacos (7). Por ejemplo, algunos individuos, con genotipos específicos en ciertos genes, son capaces de metabolizar más rápidamente un fármaco, por lo que necesitan dosis mayores para alcanzar niveles terapéuticos, mientras que otros metabolizan el mismo fármaco muy lentamente, por lo que necesitan dosis más pequeñas para no estar expuestos a los efectos adversos del medicamento utilizado (11). El campo de la farmacogenómica y el diagnóstico molecular ha dado lugar al avance de la medicina personalizada. La aplicación de la farmacogenómica es efectiva en varios campos médicos, entre los cuales encontramos el campo de la reproducción. La tecnología molecular y la secuenciación en medicina reproductiva puede ayudar a definir mejor cuales son algunas de las causas subyacentes de la infertilidad en pacientes que se

someten a técnicas de reproducción asistida. La farmacogenómica tiene como objetivo desarrollar una farmacoterapia optimizada dependiendo de los antecedentes genéticos de cada mujer infértil (11)(12).

## II. Polimorfismos genéticos

Los polimorfismos de un solo nucleótido (single nucleotide polymorphisms; SNPs) son como bien dice su nombre, cambios de un solo nucleótido que ocurren en una posición específica en el genoma, y cada variación está presente en un grado apreciable dentro de una población. Entre humanos, la homología se estima que es aproximadamente del 99,9 – 99,95 %, es decir, entre el 0,005 % y 0,01 % de la secuencia de ADN es diferente entre individuos. En este contexto de variabilidad genética los SNPs representan la forma más simple y abundante de variación genética, representan aproximadamente el 90 % de los cambios que se encuentran en el genoma humano y ocurren aproximadamente cada 100 a 300 bases en los 3 mil millones de bases del genoma humano. Los SNPs se diferencian de las mutaciones genéticas por su frecuencia en la población. De hecho, una variación genética se considera un SNP cuando se presenta en una frecuencia superior al 1% (1) (5). Los SNPs pueden localizarse en las regiones codificantes del genoma, es decir, los exones (SNPs codificantes), o en regiones no codificantes, como intrones (SNPs intrónicos), en regiones reguladoras o en regiones entre genes. Por lo general, la mayoría de los SNPs son funcionalmente neutros sin afectar la síntesis de la cadena polipeptídica (sinónimos o SNPs silenciosos); solo un pequeño porcentaje de SNPs afecta directamente la función del gen cambiando o modificando la proteína producida (SNP sin sentido) o provocando una terminación prematura (SNP sin sentido) (11).

## III. Importancia de los polimorfismos genéticos

La respuesta celular a las hormonas glicoproteicas, en este caso a la gonadotropina FSH, puede variar dependiendo de la secuencia de los genes de sus receptores y más concretamente de los SNPs que estos receptores presenten.

La evaluación de algunas de las variaciones genéticas en los receptores de estas hormonas y sus implicaciones podría ser de utilidad a la hora de relacionarlas y asociarlas a algunas condiciones médicas, enfermedades reproductivas, o respuestas a tratamientos, como HOC. Es decir, si hay alguna asociación entre una variante genética y una condición, esta última se observará con una mayor frecuencia en las personas portadoras del rasgo

genético en particular. Para la realización de estos análisis de asociación nos basamos en una propiedad de los cromosomas llamada desequilibrio de ligamiento (LD). Un LD se define como dos variantes en el ADN (SNPs, inserciones o deleciones de una base o más) que presentan una ubicación cercana entre ellas y se tienden a observar juntas con mayor frecuencia en la población general, que dos variantes que están ubicadas más separadas **(1)(5)**.

#### **IV. Genética de poblaciones de SNPs de receptores de gonadotropinas**

En humanos el éxito reproductivo no solo depende de la deriva genética, de la selección natural o de las migraciones humanas, sino que el papel evolutivo que han tenido los polimorfismos genéticos en las gonadotropinas y en los genes de sus receptores se debe tener en consideración. En un estudio de Simoni y Casarini en el año 2014 se estimó que alrededor del 20% de los caucásicos presentan un genotipo FSHB/FSHR “menos favorable”, en términos de niveles séricos de FSH y expresión y actividad de FSHR **(3)**. Por este motivo se debería tener en cuenta el origen étnico al buscar las distribuciones de frecuencia de los polimorfismos FSHR y tener en cuenta la población que estamos estudiando, ya puede variar de una a otra **(7)**.

#### **V. Gen FSHR**

Es ampliamente conocido que el resultado de la HOC depende principalmente de la dosis de FSH exógena administrada a la paciente y que la acción fisiológica de esta gonadotropina depende de la activación específica de su receptor denominado FSHR. Este es un receptor similar a la rodopsina, que pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (GPCR) que se expresa en las células de la granulosa y juega un papel particularmente importante en el desarrollo folicular y en la esteroidogénesis. Este receptor consta de un dominio intracelular, un gran dominio extracelular rico en leucina y atraviesa siete veces la membrana celular **(3)**. El gen FSHR es uno de los principales genes candidatos para poder explicar las diferencias en el resultado de la HOC y además de llegar a tener un implicación en condiciones médicas relacionadas con la fertilidad femenina. Se han identificado variantes alélicas para este gen que dan lugar a varios haplotipos que modifican los efectos de la FSH en los tejidos diana, por ejemplo afectando a la capacidad de respuesta de los ovarios a la FSH exógena, es decir que podrían estar asociados con modificaciones en la actividad ovárica **(1)(3)(5)**.

El gen del FSHR es muy grande, de una sola copia, se encuentra en el cromosoma 2 p21-p16. Este abarca una gran región de 54kb e incluye 10 exones y 9 intrones, los primeros nueve exones codifican el dominio extracelular del receptor, mientras que el último exón codifica el dominio transmembrana completo y el dominio intracelular del receptor (7). El FSHR es un polipéptido único que está compuesto por 695 residuos, en los que los 17 primeros residuos codifican un péptido señal hidrofóbico. El dominio de unión al ligando extracelular del receptor tiene 359 residuos y contiene cuatro sitios de glicosilación unidos a N. La glicosilación no parece ser necesaria para la unión del ligando, sino más bien para el plegamiento y el tráfico adecuados del receptor hacia la membrana. El FSHR recombinante glicosilado maduro es una proteína de aproximadamente unos 80 kDa (13). La expresión de FSHR es estrictamente gonadal y altamente específica de células y en el caso de los ovarios su expresión se limita a las células de la granulosa. La transducción de señalización se basa en la unión del ligando seguida por un aumento de cAMP a través de la activación de la vía G $\alpha$ s/adenil ciclasa/cAMP/PKA, lo que finalmente conduce a la síntesis de esteroides sexuales en las células de la granulosa, por lo que su correcto funcionamiento es crucial para el desarrollo folicular normal en las mujeres (13). Dosis bajas de FSH aumentan el número de FSHRs induciendo la síntesis de niveles de FSHRm-RNA; altas dosis de FSH regulan a la baja los niveles de ARNm y, en consecuencia, reducen el número de sitios de unión a FSH. Se supone que este mecanismo bifásico depende de los efectos específicos que ejerce la FSH sobre los elementos reguladores en la región promotora del gen FSHR. La administración de FSH exógena aumenta la expresión de FSHR de forma dependiente de la dosis (14).

## **VI. Polimorfismos genéticos del FSHR**

En los sitios de codificación, regulación y empalme del gen FSHR se mostraron diferentes alteraciones genéticas inactivadoras o hiperactivadoras, mutaciones con ganancia o pérdida de función y polimorfismos genéticos. Estas alteraciones provocan un mal funcionamiento del receptor, pudiendo dar lugar a una reducción del nivel de expresión del receptor en la superficie celular, errores en la unión a ligando y en la función en las células diana, derivando finalmente en problemas de fertilidad en las mujeres. También varios estudios aceptan que algunas de las alteraciones genéticas en el gen FSHR pueden ser parte de la causa de algunos trastornos reproductivos, como por

ejemplo, insuficiencia ovárica prematura (POI) o síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) (3).

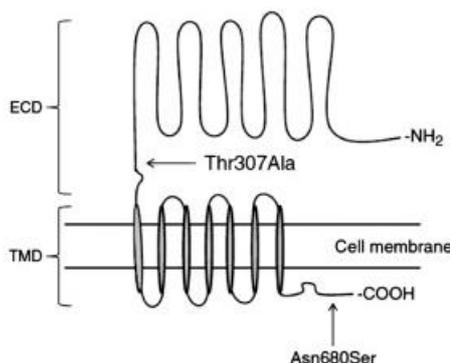
Esta revisión bibliográfica se centra en el estudio de algunos de los polimorfismos genéticos más relevantes de FSHR ya que en estudios realizados de asociación de genes se han identificado SNPs en el receptor de la gonadotropina FSH que pueden influir en la función génica al modificar las propiedades de la proteína producida y la respuesta a la FSH. Hasta la fecha se han revelado 901 SNPs en este receptor, solamente algunos de ellos se ubican en los exones y en concreto en el exón 10 se encuentran los dos más estudiados y de mayor importancia y en los que se centra la presente revisión (4)(7)(11)(3).

El primero, Ala307Thr (c.919G>A, rs6165) se ubica en el dominio extracelular en la posición 919 en el que se produce un cambio de una guanina por una adenina, de modo que el codón 307 pasa de ser GCT a ser ACT. Este cambio de un solo nucleótido conlleva un cambio de aminoácido en el codón 307 de alanina (Ala) a treonina (Thr).

El segundo, Asn680Ser (c.2039A>G, rs6166) se ubica en el dominio intracelular en la posición 2039 en la que se produce el cambio de una adenina por una guanina, de modo que el codón 680 pasa de AAT a ser AGT, y consecuentemente da lugar a un cambio de aminoácido en la posición 680 de asparagina (Asn) por serina (Ser) (3).

Estos dos polimorfismos conducen a cuatro posibles combinaciones alélicas; Thr<sup>307</sup>-Asn<sup>680</sup>(TN), Ala<sup>307</sup>-Ser<sup>680</sup>(AS), Thr<sup>307</sup>-Ser<sup>680</sup>(TS), and Ala<sup>307</sup>-Asn<sup>680</sup>(AN), pero de estas cuatro las variantes TN y AS son las más relevantes, ya que las otras dos se encuentran en menor frecuencia en la población (< 5%).

Figura 2: Distribución de los dos polimorfismos genéticos más comunes del gen FSHR.



*Nota.* La Marca A, Sighinolfi G, Argento C, Grisendi V, Casarini L, Volpe A, et al. Polymorphisms in gonadotropin and gonadotropin receptor genes as markers of ovarian reserve and response in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* marzo de 2013;99(4):970-978.e1.

Los dos polimorfismos se encuentran en un desequilibrio de enlace casi completo, por esta razón la mayoría de los estudios se han centrado únicamente en el análisis del efecto en el resultado de la estimulación ovárica en la posición 680, ya que el genotipado de cualquiera de ellos permite la inferencia del genotipo del otro **(7)(1)**. Los estudios sobre la distribución de estas dos variantes han arrojado resultados dispares. Algunos estudios en hombres y mujeres con fertilidad normal e infértiles no han revelado diferencias mientras que otras investigaciones han encontrado diferencias significativas en la distribución de variantes alélicas entre pacientes y controles. Muchas de las investigaciones señalan el origen étnico de cada una de las poblaciones en las que se basan los estudios como una de las causas que da lugar a resultados contradictorios, lo que sugiere que las diferencias étnicas son un factor a tener en cuenta en los estudios con polimorfismos genéticos **(3)**.

## **VII. Impacto de los SNPs de FSHR en la fertilidad femenina**

Aunque ya previamente los polimorfismos en el gen FSHR se han asociado con la variabilidad en el nivel sérico de FSH y los resultados reproductivos, también se ha planteado que pueden tener un efecto en la reserva ovárica de las pacientes, haciendo que varíe la edad menopáusica o también en la aparición de insuficiencia ovárica precoz (IOP).

- Reserva ovárica- Inicio de la menarquia y aparición de la menopausia:

Definimos el término reserva ovárica como el número de folículos primordiales que hay disponibles en el ovario de la mujer en un momento específico. Por otro lado, existe el término reserva ovárica funcional el cual se utiliza para indicar el grupo de folículos antrales que son reclutables, es decir, los que responden a la FSH. Y lógicamente, los folículos antrales están en relación con el grupo de folículos primordiales. La menarquia y la menopausia se refieren a la primera menstruación y al final de los ciclos menstruales, respectivamente, marcando el inicio y el final de la vida reproductiva de una mujer **(15)**. En el momento del nacimiento el ovario contiene un número finito de folículos que no crecen (NFG) (50.000-1.000.000) y esto es representativo del potencial reproductivo. Pero a partir de ese momento esta reserva va a ir disminuyendo progresivamente hasta su

agotamiento. La pérdida de la reserva se produce debido a atresia de los folículos o reclutamiento a lo largo de la vida reproductiva y ovulación y este evento termina dando lugar al fin de la vida reproductiva de una mujer o también conocido como menopausia. Lo interesante de este hecho es que la ovogénesis, y por lo tanto, el número de folículos primordiales presentes en el momento del nacimiento están esencialmente bajo control genético. Es decir que los factores genéticos, como los SNPs, pueden tener un papel determinante en la reserva ovárica y en consecuencia en el momento que se establece la “edad menopáusica” **(1)(5)**.

- Insuficiencia ovárica precoz (IOP):

La IOP se define como el deterioro de la función ovárica antes de los 40 años de edad y suele afectar 1 cada 100 mujeres entre la edad de 30 y 39 años **(1)(5)(16)**. Se caracteriza por niveles elevados de la hormona FSH comparables con los medidos en la posmenopausia, niveles bajos de estrógenos circulantes, amenorrea o oligomenorrea, así como un mayor riesgo de osteoporosis y múltiples enfermedades cardiovasculares. Hoy en día, todavía no se conoce del todo el mecanismo patogénico de IOP, pero se cree que puede deberse a alteraciones genéticas, causas autoinmunes, iatrogénicas o idiopáticas, alteraciones en el cromosoma X **(16)(17)**. Estas últimas incluyen la delección total o parcial del cromosoma, la presencia de un X adicional, mosaicismo y translocación. Sin embargo, un gran número de pacientes muestran cariotipos normales, lo que sugiere que también alteraciones genéticas, como mutaciones o SNPs, en genes específicos relacionados con la función ovárica y ubicados en otros cromosomas pueden correlacionarse con la IOP **(16)**. Además los estudios muestran la agregación familiar y la herencia genética en la IOP tiene un papel relevante, ya que alrededor del 10-30% de las pacientes que la sufren presentan antecedentes familiares positivos. Por este motivo, la predisposición genética en IOP es crucial en su desarrollo y es un hecho a tener en cuenta **(17)**.

Debido al papel que tiene la FSH como coordinadora de la función ovárica normal y reguladora del crecimiento folicular, de la diferenciación y la gametogénesis podemos pensar que es biológicamente posible que los polimorfismos FSHR puedan dar como resultado una disfunción de la FSH, conduciendo a una disminución de la función ovárica y dando lugar al desarrollo de IOP **(16)(17)**.

También cabe mencionar que además de la posible asociación de los SNPs de FSHR con algunos de los marcadores de reserva ovárica como la AMH y AFC y con la duración o dinámica de la menstruación, también se investiga su posible influencia en el desarrollo y progresión de enfermedades como la endometriosis y el síndrome de ovario poliquístico (SOP) (18)(19)(20).

- Síndrome de ovario poliquístico:

El SOP es considerado el trastorno endocrino más frecuente entre las mujeres en edad reproductiva y representa la mayor causa de infertilidad anovulatoria, incluyendo el 20% de las parejas infértiles. Se establecieron unos criterios para el diagnóstico de SOP: disfunción ovulatoria que provoca la presencia de oligo o ano-ovulación y/u la presencia de ovarios morfológicamente poliquísticos, la presencia hiperandrogenismo y la exclusión de otras patologías secundarias. El síndrome también se asocia con manifestaciones cutáneas angustiantes de exceso de andrógenos, como hirsutismo y acné. Las mujeres que sufren de SOP se caracterizan por presentar fenotipos subfértiles bastante heterogéneos y características clínicas relacionadas a estas subfertilidad. Algunas de las características bioquímicas que presentan son concentraciones séricas elevadas de testosterona y hormona luteinizante (LH). También el hiperandrogenismo, el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina, la anovulación, el desarrollo de diabetes tipo 2 (T2D) y enfermedades cardiovasculares en la edad adulta son otros de los principales aspectos clínicos del SOP, que pueden ser el resultado de una adaptación endocrina a las condiciones ambientales en el aparato femenino (20). Los tratamientos que se ofrecen a las mujeres que sufren de esta enfermedad, consisten en la elevación del nivel de exposición ovárica a la hormona FSH. Esto aumento se consigue ya sea antagonizando el efecto de los estrógenos en el hipotálamo mediante la administración de citrato de clomifeno (CC), o a través de un efecto directo sobre el ovario con la administración de una mayor concentración de FSH recombinante exógena. Con el CC, la ovulación se restablece en un 80% de los casos, siendo el 20% restante, resistentes al fármaco. La predicción de la respuesta al CC es compleja (21).

A pesar de todo, las causas que provocan el desarrollo de SOP siguen siendo desconocidas, pero parece que el desarrollo de este síndrome puede venir condicionado por la interacción entre la predisposición genética y la exposición a diferentes factores ambientales (19)(20).

- Endometriosis:

La endometriosis es una enfermedad crónica y benigna con base inflamatoria en la que su aparición, desarrollo y propagación dependen de la acción estrogénica. Esta enfermedad reproductiva es muy inespecífica y de carácter progresivo, además debido a su presentación variable entre las mujeres que la padecen su diagnóstico suele ser complicado. Puede dar lugar a dismenorrea, dolor pélvico crónico e infertilidad (18).

Finalmente nos podemos plantear la siguiente cuestión: ¿Son los polimorfismos genéticos de FSHR, Ala307Thr y Asn680Ser, una opción válida y factible para la individualización de los tratamientos de estimulación ovárica controlada en pacientes?

Para responder a esta pregunta debemos tener en cuenta los hallazgos científicos que se han publicado hasta la actualidad y también el aumento en el conocimiento en el campo de la farmacogenómica y el diagnóstico molecular.

## **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

### **I. Justificación**

La variabilidad interindividual en la respuesta ovárica a los tratamientos de hiperestimulación ovárica controlada (HOC) se ha convertido en un problema generalizado en las clínicas de fertilidad con impactos clínicos para las pacientes, oscilando desde una cancelación del ciclo por baja respuesta hasta el desarrollo de complicaciones más severas como el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

Esta situación ha dado lugar a que se considere la farmacogenómica como una herramienta efectiva en el campo de la reproducción asistida y en la aplicación de tratamientos individualizados. Varias investigaciones describen posibles marcadores genéticos, como algunos de los polimorfismos genéticos del receptor de la FSH (FSHR), como uno de los biomarcadores más prometedores para predecir la respuesta ovárica previamente a la asignación del tratamiento. Además, numerosos estudios describen una posible relación entre la presencia de algunos SNPs del FSHR con aspectos relacionados de la fertilidad femenina y también con algunas enfermedades reproductivas. Por estos motivos expuestos es de gran interés conocer e investigar más sobre este campo.

## II. Objetivo general

El presente trabajo tiene como objetivo principal realizar una revisión bibliográfica acerca de los estudios publicados recientemente sobre los polimorfismos del gen FSHR y como estos pueden aportar nueva información a la hora de individualizar los tratamientos de reproducción asistida administrados a las pacientes.

## III. Objetivos específicos

Para alcanzar este objetivo general se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Definir el concepto de farmacogenómica y analizar su potencial en el campo de la reproducción asistida.
- Describir la asociación entre los polimorfismos genéticos de FSHR y la forma en cada paciente responde a la administración FSH exógena durante la inducción de la ovulación.
- Describir la asociación entre los polimorfismos genéticos de FSHR y la reserva ovárica.
- Describir la asociación entre los polimorfismos genéticos de FSHR y la duración/dinámica de la menstruación.
- Describir la influencia que pueden tener los polimorfismos genéticos de FSHR en el desarrollo y progresión de algunas enfermedades reproductivas, como la endometriosis y SOP.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

En la realización de la revisión bibliográfica del presente Trabajo de Fin de Máster se han utilizado artículos publicados en los últimos 10 años, sin embargo, también han sido incluidos algunos artículos de mayor antigüedad debido a su relevancia para la realización de la presente revisión.

Para la recopilación de la información se han utilizado herramientas de búsqueda de información científica relevante, como PubMed y SciELO. Únicamente se han seleccionado artículos de lengua inglesa y se han empleado la siguientes palabras clave para realizar la búsqueda de forma más concreta: “Pharmacogenomics”, “controlled ovarian hyperstimulation”, “FSHR”, “genetic polymorphisms”, “ovarian response”.

Se revisaron un total de 51 artículos de los cuales 22 han sido incluidos dentro de la presente revisión por su importancia y su relación directa con el tema de estudio.

Para el apartado de la bibliografía se ha utilizado el gestor bibliográfico Zotero.

## **RECOPIACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL**

### **1- Polimorfismos genéticos y respuesta ovárica a las gonadotropinas**

Uno de los factores clave en la determinación de la respuesta ovárica durante un ciclo de FIV es la variabilidad genética que presentan las mujeres que se someten a una estimulación ovárica. Diferentes grupos de investigación han tratado de estudiar la influencia de los polimorfismos que afectan al gen que codifica para el FSHR en los resultados de las HOC. Aunque la aproximación farmacogenómica en relación a las dosis de FSH exógena que se deberían utilizar para obtener resultados óptimos todavía es escasa (7).

#### **I. Asn680Ser (c.2039A>G, rs6166)**

Pérez-Mayorga et al. fueron los primeros en evaluar el papel de las variantes de FSHR (Asn680Ser) in vivo, determinando la capacidad de respuesta del ovario a la estimulación de FSH. Midieron los niveles basales de FSH, en el tercer día del ciclo menstrual, y se observó que las mujeres que ovulaban con la variante Ser/Ser presentaban un umbral de FSH basal más elevado en comparación con las mujeres que ovulaban con otras variantes. Sin embargo, el número de folículos preovulatorios y el número de ovocitos recuperados fueron similares entre los tres grupos con diferentes variantes genéticas (Ser/Ser, Ser/Asn y Asn/Asn). Además, las mujeres con genotipo Ser/Ser requirieron dosis más altas de FSH para alcanzar el mismo nivel máximo de estradiol el día de la administración de hCG, es decir que presentan una mayor resistencia a la acción de la FSH y necesitan dosis de gonadotropinas más altas y durante un periodo de tiempo más prolongado para lograr la misma respuesta a la estimulación de la FSH (7).

En un ensayo controlado aleatorizado realizado por Behre et al. en 2005, se buscó demostrar como el hecho de presentar una variante genética u otra provoca diferencias en la respuesta ovárica a la estimulación, y lo más relevante, cómo esta situación podría ser solucionada solamente ajustando las dosis administradas a las pacientes con la variante resistente a la FSH (7). Las mujeres con la variante Ser/Ser fueron subdivididas en dos

grupos según la dosis de gonadotropina FSH que se les iba administrar. El primer grupo recibió una dosis diaria de 150 IU de FSH, mientras que el segundo grupo recibió una dosis diaria de 225 UI de FSH. La dosis administrada al segundo grupo coincide con la que recibieron las mujeres con la variante homocigótica para Asn. Los resultados se interpretaron en base a la respuesta ovárica en términos de concentraciones de estradiol en el día que se administró hCG para inducir la ovulación. Se observó que los niveles de estradiol fueron significativamente menores en las mujeres Ser/Ser que recibieron la dosis más baja de FSH, es decir, 150 UI. Por otro lado, las pacientes Ser/Ser que recibieron una dosis mayor de FSH, es decir, 225 UI, alcanzaron unos niveles de estradiol similares a los de las pacientes Asn/Asn, quienes supuestamente no presentan resistencia a FSH. En otras palabras, los resultados obtenidos en el subgrupo homocigótico para la variante Ser, tratado con dosis más elevadas de FSH, sirvió para ver que la disminución de la sensibilidad de FSHR podría verse superada simplemente aumentando la dosis de FSH (7).

Un metaanálisis reciente del año 2023, llevado a cabo por Prodromidou et al., investiga la relación entre los alelos de Asn680Ser y la estimulación ovárica controlada (COS). Este estudio engloba 11 artículos publicados hasta agosto de 2021, e incluye tanto estudios comparativos prospectivos y retrospectivos que evalúan los resultados obtenidos después de una COS en 4343 pacientes que se sometieron a genotipificación para la detección de polimorfismos de FSHR. Dentro de la muestra total de mujeres analizadas, 1534 eran homocigotos para el gen Asn (Asn/Asn-AA) y 727 homocigotos para el gen Ser (Ser/Ser-GG), mientras que las 2082 restantes eran heterocigotos Asn/Ser (GA). El análisis comparativo se centró en dos grupos diferentes: mujeres con la variante Asn/Asn y mujeres con la variante Ser/Ser. Se observó como los niveles máximos de estradiol en el día que se administró hCG eran significativamente más altos en las mujeres que presentaban la variante homocigótica de Asn (Asn/Asn) en comparación con las Ser/Ser. No obstante, la dosis total de FSH requerida para el COS no fue diferente entre pacientes. El número promedio de ovocitos recuperados fue similar en ambos grupos, pero si se observó un aumento significativo en el número de embriones transferidos a favor del genotipo Ser/Ser. Sin embargo, las tasas de embarazo clínico no difirieron entre los dos grupos. Finalmente, al comparar los grupos Asn/Asn vs Asn/Ser y Asn/Ser vs a Ser/Ser, no se encontraron diferencias significativas entre ellos (3).

Basándonos en estos resultados, se puede discutir que las mujeres que presentan la variante homocigótica Ser del receptor FSHR no experimentan dificultades en el proceso de ovulación, es decir, sus folículos tienen capacidad para ovular de manera normal. No obstante, cuando esta situación se traslada en una clínica de fertilidad donde las mujeres con esta variante se someten a una estimulación ovárica, las diferencias en el grado de respuesta ovárica sí son evidentes. La mayoría de los estudios coinciden en afirmar que las pacientes que contienen la variante Ser/Ser van a requerir dosis mayores de FSH, estimulaciones más intensas, para alcanzar niveles de estradiol similares a las pacientes que no contienen esta variante en su genoma.

Por este motivo el hecho de conocer el genotipo del FSHR a priori de llevar a cabo una HOC podría ser útil para determinar la dosis inicial apropiada de FSH y de ese modo evitar o minimizar los riesgos a los que se someten las pacientes, y más importante aún conseguir que el ciclo de estimulación al que se someten las mujeres sea lo mejor posible, refiriéndose al número de ovocitos obtenidos y a la calidad de estos tras la punción folicular **(1)(5)(7)**.

## II. Ala307Thr (c.919G>A, rs6165)

En el año 2023 Felipe et al., realizaron un estudio de cohorte prospectivo con el objetivo de detectar cualquier asociación entre el polimorfismo Ala307Thr del gen FSHR (rs6165) y la respuesta ovárica o los resultados clínicos en el tratamiento de FIV/ICSI. En él participaron 450 mujeres que estaban sometidas a ciclos de FIV/ICSI. El ADN se extrajo de sangre periférica y se genotipó el polimorfismo de interés. A partir de las 450 mujeres incluidas en el estudio se crearon tres subgrupos: Thr/Thr (n:141), Thr/Ala (n=213) y Ala/Ala (n=96). Los resultados buscaban encontrar correlaciones con las principales características de las mujeres infértiles, con las características de un ciclo de estimulación ovárica (*Tabla 1*) y con el resultado clínico de los ciclos de FIV/ICSI (positivo o negativo en cuanto a tasa de embarazo). Los análisis estadísticos se realizaron mediante la prueba exacta de Fisher y la prueba de Kruskal-Wallis.

Tabla 1: *Características del ciclo de estimulación en la población de estudio, según su genotipo del gen FSHR Ala307Thr.*

Características del ciclo	Genotipo FSHR Ala307Thr
---------------------------	-------------------------

	Total	Thr/Thr	Thr/Ala	Ala/Ala	p
Protocolo de estimulación (%):					0.29
- GnRH protocolo agonista	52.0%(234/450)	57.4%(81/141)	49.8%(106/213)	49.0%(47/96)	
- GnRH protocolo antagonista	48.0%(216/450)	42.6%(60/141)	50.2%(107/213)	51.0%(49/96)	
Dosis total de FSH (IU)( $\mu \pm SD$ )	<b>2144<math>\pm</math>988</b>	<b>2085<math>\pm</math>922</b>	<b>1946<math>\pm</math>955</b>	<b>2364<math>\pm</math>1060</b>	<b>0.002</b>
Dosis total de LH (IU)( $\mu \pm SD$ )	1064 $\pm$ 363	1052 $\pm$ 368	1052 $\pm$ 377	1107 $\pm$ 323	0.28
Tiempo de estimulación (días)( $\mu \pm SD$ )	10.3 $\pm$ 2.4	10.3 $\pm$ 2.5	10.1 $\pm$ 2.4	10.5 $\pm$ 2.2	0.17
Fallo de estimulación ovárica	2.2%(10/450)	1.4%(2/141)	2.3%(5/213)	3.1%(3/96)	0.59
Número folículos (día hCG)					
≤10 mm	11.7 $\pm$ 7.1	11.4 $\pm$ 6.6	12.0 $\pm$ 7.4	11.6 $\pm$ 7.4	0.86
≤16 mm	5.8 $\pm$ 3.3	5.9 $\pm$ 3.0	5.9 $\pm$ 3.3	5.6 $\pm$ 3.7	0.52
≤18 mm	3.7 $\pm$ 2.1	3.8 $\pm$ 2.2	3.7 $\pm$ 2.0	3.6 $\pm$ 2.5	0.64
Número ovocitos recuperados					
Total	8.1 $\pm$ 5.2	8.2 $\pm$ 5.4	8.1 $\pm$ 5.1	8.2 $\pm$ 5.4	0.98
Metafase II	6.0 $\pm$ 4.3	6.1 $\pm$ 4.3	5.9 $\pm$ 4.1	6.1 $\pm$ 4.8	0.92
Metafase I	1.4 $\pm$ 1.7	1.4 $\pm$ 1.6	1.4 $\pm$ 1.7	1.2 $\pm$ 1.8	0.39
Vesícula germinal	0.7 $\pm$ 1.2	0.7 $\pm$ 1.2	0.7 $\pm$ 1.1	0.9 $\pm$ 1.2	0.20
Fallo en la recuperación de ovocitos (%)	1.8% (8/450)	2.8% (4/141)	1.9% (4/213)	0	0.26

*Nota:* 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 [Internet]. 2023 [citado 6 de agosto de 2023]; Disponible en:

[https://www.jbra.com.br/trab/pub/download\\_trabalho.php?fileSource=/var/www/vhosts/jbra.com.br/media/trab/arq\\_4479&fileName=14-2514%20-%20The%20Ala307Thr.pdf&id\\_trabalho=1956](https://www.jbra.com.br/trab/pub/download_trabalho.php?fileSource=/var/www/vhosts/jbra.com.br/media/trab/arq_4479&fileName=14-2514%20-%20The%20Ala307Thr.pdf&id_trabalho=1956)

Los resultados obtenidos solamente mostraron una asociación entre el genotipo del polimorfismo Ala307Thr y la dosis de r-FSH. Concretamente las mujeres homocigotas para la variante Ala (Ala/Ala) requirieron de una mayor dosis de r-FSH en comparación con las mujeres con genotipo Ala/Thr ( $p=0,0002$ ) o Thr/Thr ( $p=0,02$ ).

No obstante, cuando se intentó relacionar con las principales características de las mujeres infértiles, no se encontraron asociaciones significativas. Algunos ejemplos de estas características son la edad, el IMC, los niveles de AMH y AFC, etc. De la misma manera tampoco el número de folículos en el día de hCG, el número total de ovocitos recuperados y el número total de ovocitos maduros (metafase II) difirió según el genotipo de Ala307Thr (rs6165). De igual forma, no se encontraron diferencias significativas en los resultados clínicos como la tasa de implantación, la tasa de embarazo, la tasa de aborto espontáneo y la tasa acumulada de nacidos vivos según el genotipo Ala307Thr (rs6165).

(1). Otros estudios sugieren que las mujeres portadoras de la variante Thr/Thr muestran una mayor activación de FSHR (Trevisan et al., 2014; Alviggi et al., 2018).

Es decir, los resultados de los artículos coinciden en afirmar que el genotipo Ala/Ala del gen FSHR en la posición de aminoácido 307 se asocia con el uso de dosis más elevadas de r-FSH, lo que sugiere que la homocigosis de esta variante alélica (Ala) proporciona una menor sensibilidad a la r-FSH. Por otro lado, el hecho que las mujeres con la variante homocigótica Thr presenten una activación mayor del gen del receptor de la FSH, podría servir como indicativo de que las estimulaciones ováricas que reciben las pacientes con esta variante genética deben ser más cortas que las de la mujeres portadoras de las variantes Thr/Ala y Ala/Ala.

Por lo tanto, el genotipado del gen FSHR y la identificación de los SNP Ala-307Thr (rs6165) se pueden utilizar como una herramienta adicional en la individualización de los protocolos de estimulación ovárica (1).

### III. Relación SNPs FSHR y SHO

Como es bien conocido, el riesgo de desencadenar el SHO en mujeres que reciben una COS es uno de los aspectos más importantes a tener en consideración y en el que varias investigaciones han prestada atención.

Un artículo del año 2019 quiso investigar si la variante Asn680Ser del FSHR podía ser de utilidad para predecir la hipersensibilidad a la FSH exógena en mujeres sometidas a tratamientos de reproducción asistida. El estudio incluyó a 586 mujeres que se sometían

a su primer tratamiento de FIV, que presentaban ciclos menstruales regulares (de 21 a 35 días), edad < 40 años, ICM < 32 kg/m<sup>2</sup>, ovarios bilaterales y que no fueran fumadoras. Las medidas de resultados fueron el número de ovocitos recuperados y cualquier grado de SHO. (9)

La distribución de genotipos para FSHR entre la población de estudio fue: Asn/Asn (AA) 29 %, Asn/Ser (AG) 54 % y Ser/Ser (GG) 17 %. Del total de 596 mujeres analizadas, un 6% (n=36) desarrollaron el SHO, y cabe mencionar que ninguna de estas 36 pacientes presentaba la variante homocigótica de Ser (Ser/Ser). En base a esta distribución se pudo ver que las mujeres que desarrollaron SHO requirieron de una menor dosis total de tratamiento en comparación con las que no lo desarrollaron (1416 UI para SHO frente a 1777 UI sin SHO,  $p = 0,011$ ). Además el grupo con SHO produjo más ovocitos de manera significativa en comparación con el grupo sin SHO ( $16 \pm 8$  ovocitos frente a  $11 \pm 6$  ovocitos,  $p = 0,001$ ). Es de especial interés clínico el resultado que indicó que las pacientes portadoras de la variante Asn presentan una mayor probabilidad de padecer SHO, 1,7, intervalo de confianza del 95 %: 1,0–2,8,  $p = 0,04$ , en comparación con las portadoras de la variante Ser. Además en esta investigación se midió la capacidad del receptor de FSH para inducir un segundo mensajero, 3',5'-AMP cíclico, y los resultados indicaron que después de recibir la HOC las pacientes con la variante Asn presentaban una mayor producción de cAMP extracelular por miligramo de proteína total. De igual modo la cantidad producida de AMPc intracelular fue significativamente mayor para la variante Asn/Asn en comparación con la variante de Ser (9).

Otro estudio de mayor antigüedad de Daelmans et al. obtuvo resultados que indicaban que a medida que incrementaba la gravedad de SHO se observaba un aumento significativo de la variante Asn (7).

Todos estos hallazgos concuerdan con muchos estudios previos que han investigado sobre esta posible relación, y coinciden en que las mujeres portadoras de la variante Asn presentan un mayor riesgo de desencadenar el SHO, casi el doble, que las portadoras de la variante Ser, incluso aunque sean tratadas con una dosis hormonal menor. Por lo tanto, es evidente que el alelo Asn puede ser de gran utilidad a la hora de ser utilizado como marcador de la gravedad del SHO.

## 2- Polimorfismos genéticos y reserva ovárica

### I. Menarquia y edad menopáusica

La reserva ovárica en la mujer se compone por los folículos primordiales, se establece durante la vida fetal y está bajo la influencia de factores genéticos. La edad en la que aparece la menopausia está estrechamente relacionada con la reserva ovárica y por eso existe el planteamiento que esta característica biológica este influenciada por algunos SNPs del gen FSHR. Es decir, que las diferentes variantes genéticas de este receptor en las mujeres podrían dar lugar a variaciones en la reserva ovárica y en consecuencia en la edad en que se establece la menopausia **(1)(5)(22)(15)**.

Hasta la fecha existen escasos estudios que exploren esta posible asociación. Uno de ellos, en 2008 por Zerbetto et al., se centró en una población de mujeres italianas, mientras que otra investigación en 2013 por Jung-A. Pyun et al, que se enfocó concretamente en la población coreana.

El estudio de Zerbetto fue de carácter prospectivo, en el que se evaluó si la presencia de ciertos SNPs en el FSHR influían en la edad de aparición de la menarquia y la menopausia en una población caucásica (italiana). La muestra estudio estaba compuesta 250 mujeres, donde la mitad eran pacientes que requerían asesoramiento por trastornos posmenopáusicos o evaluaciones por riesgo de neoplasias malignas y que sufrían menopausia fisiológica, y la otra mitad de la población de estudio eran mujeres voluntarias que también presentaban menopausia fisiológica. Se registraron las edades de la menarquia y de la menopausia, así como el total de años de fertilidad. La edad de menarquia se estableció como la edad del primer período menstrual y la menopausia natural como la edad del último período sin tener más sangrado menstrual durante al menos 12 meses consecutivos. Del ADN genómico que se obtuvo de leucocitos en sangre se examinó el SNP FSHR Asn680Ser (c.2039A>G, rs6166) **(22)**.

Los resultados obtenidos revelaron una distribución de genotipos de carácter mendeliano. De la sujetos estudiados, 73 (29%) se clasificaron como Asn/Asn, 114 (45%) como Asn/Ser y 64 (26%) como Ser/Ser. La mediana de edad en el momento del estudio fue de 63 años en el grupo Asn/Asn, 65 años en el grupo Asn/Ser y 65,5 años en el grupo Ser/Ser, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos **(22)**.

- La mediana de edad de la menarquia fue de 13 años en el grupo Asn/Asn y de 12 años en los grupos Asn/Ser y Ser/Ser, lo cual es una diferencia estadísticamente significativa (Asn/Asn vs. Asn/Ser,  $p < 0,01$ ; Asn/Asn vs. Ser/Ser,  $p < 0,05$ , test de Dunn).
- La mediana de la edad de la menopausia fue de 50 años en los grupos Asn/Asn y Asn/Ser y de 51 años en el grupo Ser/Ser/, una diferencia no estadísticamente significativa ( $P=0.132$ , análisis de varianza de Kruskal-Wallis).

Por otro lado el estudio de Jung-A. Pyun et al., se centró en mujeres de procedencia coreana, con la participación de un total de 3452 sujetos en investigaciones sobre la edad de la menarquia y de 1827 sujetos en estudios sobre la edad de la menopausia natural. El objetivo era poder identificar los SNPs que están significativamente asociados con estos dos eventos biológicos. Los resultados obtenidos, fueron notoriamente similares a los del estudio de Zerbetto et al., se observó que para la edad en la que se establece la menarquia hubo tres interacciones significativas entre tres SNPs intrónicos en el gen FSHR. Aunque los tres SNPs del gen FSHR que mantienen la interacción con la edad de la menarquia no sean ninguno de los dos SNPs de la FSHR en los que se centra esta revisión bibliográfica, los resultados indican igualmente una clara relación con el gen de la FSHR (15).

De los dos estudios se pueden discutir varias ideas:

Se observa una clara asociación entre los polimorfismos del gen y los grupos de mujeres posmenopáusicas y la edad en la se establece la menarquia, pero no con la edad de la menopausia natural. Se conoce por varios estudios previos que el polimorfismo del codón 680 de la FSHR es un factor determinante que afecta a la sensibilidad ovárica a la FSH. Específicamente, las mujeres con la variante Asn/Asn en el codón 680 presentaron la edad de la menarquia 1 año más tarde que los otros grupos, sugiriendo un posible impacto del gen del receptor de FSH en la modulación del inicio de la pubertad.

Hay que prestar especial atención a que el genotipo que es homocigoto para Asn presenta concentraciones séricas basales de FSH más bajas en comparación con el resto de variantes para este codón. Esta situación implica que las mujeres que presentan Asn/Asn requieran de una menor cantidad de FSH exógena durante la HOC, es decir que esta variante del receptor es más sensible a la FSH. Es plausible pensar que el descubrimiento de una menarquia tardía en un grupo con mayor sensibilidad a la FSH y función ovárica

conservada sugiere que estas mujeres podrían tener una mayor sensibilidad hipotalámica al ciclo de retroalimentación negativa de la FSH. Este hecho podría provocar un retraso en el inicio de la pulsatilidad puberal de la GnRH. Esta hipótesis debe probarse experimentalmente, ya que solo son especulaciones (22).

## II. Insuficiencia ovárica precoz (IOP)

En 2019 Huang et al. publicaron el que es hasta el momento el metanálisis más completo que aborda la búsqueda de una posible correlación entre el desarrollo de IOP y los polimorfismos del gen FSHR. Para su redacción se recopilaban 16 estudios anteriores a 2018 que trataban sobre este tema. Los resultados derivados de los análisis generales no indicaron una asociación significativa entre el desarrollo de IOP y los polimorfismos rs6165 (Ala307Thr) y rs6166 (Asn680Ser). Sin embargo, al realizar un análisis por subgrupos basados en etnias, se reveló que en las poblaciones asiáticas portadoras de la variante rs6166 existe un riesgo estadísticamente significativo de desarrollar IOP (1)(5)(17).

A pesar de haber identificado esta asociación en la población asiática, es importante tener en consideración varias limitaciones presentes en este metanálisis. Entre las limitaciones presentes se encuentra la necesidad de haber incluido un mayor número de análisis además de los ya presentes, entre los que se consideran variables como la edad, género y condiciones de comorbilidad. Asimismo, hay que tener en cuenta la influencia de las interacciones gen-gen y gen-ambiente, ya que éstas podrían ejercer un efecto significativo en las asociaciones observadas. También es importante señalar que la inclusión exclusiva de estudios retrospectivos de casos y controles restringe la capacidad de establecer una relación causal directa entre los polimorfismos de FSHR y la IOP (17).

Otro estudio realizado por Cordts et al., publicado en 2015 también pretende evaluar la presencia de los SNPs de FSHR en una población brasileña de mujeres y contribuir con la explicación de la etiología de la IOP, se centra en solamente en el polimorfismo Ala307Thr. Este estudio incluyó a 283 mujeres de Brasil, un grupo de pacientes y un grupo control (estudio de casos y controles). El G1 eran 100 pacientes con IOP y fallo reproductivo, el G2 con 60 pacientes que presentan dosis aumentadas de FSH y fallo reproductivo y finalmente un grupo control con 123 mujeres con menopausia regular.

Se realizó un análisis citogenético con las muestras de DNA y se vio que el 92% de los pacientes G1 presentaban un cariotipo normal, el 4% presentaba variantes polimórficas,

el 3% presentaba cariotipo mosaico que involucraba el cromosoma X. En G2 se obtuvieron resultados muy parecidos. La comparación estadística mostró que el alelo polimórfico del polimorfismo Ala307Thr es más frecuente en pacientes que en controles (G1:  $p < 0,001$  y G2:  $p = 0,0259$ ) (16).

En base a los resultados de estos dos estudios, un metanálisis y un estudio centrado en una población concreta, y aún y presentando algunas de las limitaciones mencionadas, podemos deducir igualmente que el polimorfismo FSHR rs6166 podría utilizarse como un biomarcador genético potencialmente bueno de IOP en la población asiática, pero no en otras etnias (17). Y que el polimorfismo Ala307Thr se asocia al desarrollo de IOP en mujeres brasileñas y sí puede ser considerado como un buen marcador predictor de la enfermedad (16). Por lo tanto, los resultados carecen de aplicabilidad a nivel de la población general, sino que se debe considerar el análisis de manera individual de las diferentes etnias. También es relevante señalar que el mecanismo patogénico de la IOP es sumamente complejo y, por lo tanto, es poco probable que solamente uno o dos polimorfismo de un solo gen puedan contribuir significativamente a su desarrollo. ES muy probable que se requiera la realización de estudios adicionales que examinen otros genes en profundidad. (1)(5)(17).

### III. Marcadores de reserva ovárica; AMH y AFC

Los biomarcadores AMH y AFC son muy útiles para poder medir la reserva ovárica funcional de una mujer in vivo, y nos permiten indirectamente la obtención de una estimación fiable del número restante de folículos primordiales que hay en los ovarios.

Un estudio realizado por Mohiyiddeen et al. buscó la asociación que puede haber entre los polimorfismos genéticos Asn680Ser y Ala307Thr del gen FSHR con estos marcadores de la reserva ovárica (1)(5).

Es cierto que anteriormente ya se había investigado los SNPs de FSHR que podrían estar relacionados con los niveles basales de FSH como marcador único, pero nunca antes se había estudiado la influencia que podrían tener estas variantes en otros marcadores de la reserva ovárica. (1)(5).

Volviendo al estudio que publicó Mohiyiddeen et al. en 2012 se investigó en un total de 421 mujeres sometidas a programas de reproducción asistida entre marzo de 2009 y agosto de 2010 la posible asociación anteriormente mencionada. Todas las participantes

mujeres fueron genotipadas para p.Asn680Ser y p.Ala307Thr. Los resultados obtenidos mostraron las siguientes distribuciones: Las frecuencias de p.Asn680Ser fueron 30 % Asn/Asn, 51 % Asn/Ser y 19 % Ser/Ser, mientras que las frecuencias de p.Ala307Thr fueron 24 % Thr/Thr, 57 % Thr/Ala y 19 % Ala/Ala. Como estas variantes se encuentran en desequilibrio de ligamiento los valores obtenidos en las dos posiciones fueron similares. Se observó que la distribución de las características de las pacientes para diferentes genotipos de FSHR fueron parecidas. Y que cuando se analizó las variantes del gen FSHR en comparación con los marcadores de reserva ovárica utilizados en la actualidad se observó que no hubo evidencia de ninguna diferencia en la FSH basal, AMH o AFC entre los diferentes polimorfismos, con o sin ajuste por edad o IMC (1).

Otro estudio realizado también en el año 2012 por Genro et al. quería ver si la capacidad de respuesta de los folículos antrales a la administración de FSH, según la evaluación de FORT (tasa de producción folicular), se veía alterada según los SNPs de la FSHR que presentara la mujer, concretamente las variantes Asn680Ser y Ala307Thr. Este estudio prospectivo se basó en una población de 124 mujeres caucásicas y candidatas a programas de reproducción asistida. Se midió el nivel de FSH sérica, el estradiol y AMH en día 3 del ciclo y también se realizó el AFC y el recuento de folículos preovulatorios (PFC) tanto antes de la administración de la FSH como en el día de la administración de hCG. Los resultados obtenidos fueron similares para todos los haplotipos de las variantes de los SNPs estudiados, es decir que la capacidad de respuesta de los folículos antrales a la FSH no se ve influenciada por los SNPs mencionados (1)(5)(2).

Basándonos en los resultados de estos dos estudios, podemos discutir los siguientes aspectos. Es ampliamente aceptado que el uso de gonadotropinas durante la HOC es un paso crucial en cualquier tratamiento de reproducción asistida. Sin embargo, el riesgo de obtener una respuesta subóptima o excesiva sigue siendo un problema común en la actualidad. Por este motivo, las dosis que se administran de FSH exógena deben basarse en algunas de las características clínicas de la paciente, incluida la edad y el IMC, así como los marcadores de reserva ovárica. No obstante, estos marcadores podrían estar sujetos a predecir erróneamente debido a que influyan algunos polimorfismos genéticos en su previsión de la reserva y dando lugar a que marcadores como la AMH y la AFC tengan un valor modesto para predecir la respuesta a las gonadotropinas. Por este motivo varios estudios buscaron corroborar o refutar esta hipótesis (1).

Los resultados de los estudios revelan que las variantes Asn680Ser y Ala307Thr no influyen en los resultados de AMH y AFC y por lo tanto, no afectan a la predicción de la reserva ovárica. Estos hallazgos no deberían sorprender, dado que la reserva ovárica se basa en los folículos primordiales y justamente estos sabemos que no son activados por FSH y por ese motivo la expresión de FSHR no es determinante en su desarrollo. Es decir, en los folículos primordiales no se expresa FSHR hasta que estos no han entrado en la fase de crecimiento, de manera que es bastante improbable que la FSH desempeñe un papel en el proceso de crecimiento. Pero si existe la posibilidad que la FSH tenga un efecto indirecto sobre los folículos primordiales a través de aquellos folículos que ya son de mayor tamaño, que están ya en una etapa de crecimiento más avanzada, y por lo tanto, expresan FSHR **(1)(5)(2)**.

En el futuro debería considerarse investigar la influencia de variantes en otros genes que sí que se expresen en los folículos primordiales como por ejemplo el factor morfogénico óseo (BMP-15) y el factor de diferenciación de crecimiento-9 (GDF-9). Tanto BMP-15 como GDF-9 impulsan la proliferación de células de la granulosa desde las etapas primarias hasta las etapas dependientes de FSH **(1)**.

### **3- Polimorfismos genéticos y duración/dinámica de la menstruación**

La duración y la dinámica del ciclo ovárico dependen, al menos en parte, de la combinación de los genotipos del FSHR, ya que estos afectan al umbral de sensibilidad de la FSH. Esto puede dar lugar a heterogeneidad en la duración del ciclo menstrual y, en consecuencia a variaciones en el número total de ciclos ováricos que tiene una mujer al largo de su vida reproductiva. Según el genotipo FSHR que presente una mujer puede dar lugar a diferencias en el número total de ciclos ováricos, es decir variaciones de unos 30-40 ciclos totales de más o de menos a lo largo de su vida reproductiva. Por ende, algunos investigadores se han propuesto estudiar la influencia de los polimorfismos del FSHR en la dinámica y duración de la menstruación. Para conseguir este objetivo se deben monitorear los patrones de secreción de las hormonas pituitarias y ováricas **(1)(5)(7)**.

Loutradis et al., quisieron demostrar que existían diferencias en los patrones de secreción ovárica durante la fase de transición luteo-folicular entre mujeres que presentaban los alelos homocigotos para Ser680 y Asn680. Los resultados sí mostraron diferencias significativas en la fase de transición. Las mujeres con genotipo Ser/Ser presentaron una caída más temprana de algunos de los productos de secreción de la fase lútea, como son el estradiol, la progesterona y la inhibina A, hecho que da lugar a que la regresión del

cuerpo lúteo se produzca más temprano. Esta regresión adelantada provoca la disminución de la retroalimentación negativa del cuerpo lúteo sobre la hipófisis, dando lugar a que la secreción de FSH aumente antes y que este aumento se permanezca constantemente más alto durante toda la fase folicular y que esta se prolongue en el tiempo. Esta prolongación de la fase de maduración folicular que presentan las mujeres Ser/Ser coincide con lo ya visto anteriormente en varias investigaciones, donde las mujeres homocigotas por Ser680 presentan un mayor número de folículos antrales visibles. Finalmente, los resultados también mostraron como la duración del ciclo menstrual en mujeres Ser/Ser se veía incrementado un total de 3 días en comparación con el ciclo de mujeres homocigotas para Asn680, y esta prolongación es la principal responsable del mayor intervalo entre la luteólisis y la siguiente ovulación.

Sin embargo, el éxito del embarazo depende de la calidad del ciclo más que de la duración. (Vitzthum, 2009) (7).

#### **4- Polimorfismos genéticos e implicaciones en enfermedades reproductivas**

##### **I. SOP:**

Hasta el año 2017, la gran mayoría de los estudios que querían demostrar una asociación entre los polimorfismos de FSHR y el SOP se limitaban a muestras pequeñas en cuanto a número de sujetos. Sin embargo, si se realizaron dos estudios de mayor tamaño muestral que investigaron esta cuestión. El primero, llevado a cabo por Valkenburg et al., en el que se comparó a 518 pacientes caucásicas con SOP y 2996 mujeres controles. El segundo estudio realizado por Fu et al., comparó 384 mujeres chinas con SOP y 768 mujeres controles. Sin embargo, ninguno de estos estudios encontró una asociación entre los polimorfismos de FSHR y el SOP (19).

En el año 2017 Kim et al, publicaron uno de los estudios más relevantes para probar si los polimorfismos del gen FSHR, Ala307Thr (c.919A>G, rs6165) y Asn680Ser (c.2039A>G, rs6166) están relacionados con la susceptibilidad a padecer el SOP en mujeres de origen coreano. El estudio adoptó un enfoque de casos y controles, en el que se genotiparon los polimorfismos a estudiar a 377 mujeres diagnosticadas con el SOP y a 388 mujeres que actuaban como grupo control. Todas estaban pareadas por rango de edad (1 año +/-). Para poder realizar la evaluación de la asociación se realizaron análisis de regresión logística. Los resultados mostraron que las distribuciones de genotipos del

grupo que padecía el SOP sí diferían significativamente de las del grupo de mujeres control. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: **(19)**

- Para el polimorfismo Asn680Ser (c.2039A>G, rs6166), para el grupo diagnosticado con el SOP, las frecuencias de los genotipos Asn/Asn, Asn/Ser y Ser/Ser fueron 39,5, 47,2 y 13,3 % respectivamente, mientras que en el grupo control fueron 46,4, 45,4 y 8,2 %, respectivamente. La diferencia en estas frecuencias fue estadísticamente significativa ( $p = 0,035$ ).
- Para el polimorfismo Ala307Thr (c.919A>G, rs6165), para el grupo diagnosticado con el SOP las frecuencias de los genotipos Thr/Thr, Thr/Ala y Ala/Ala fueron 38,5, 46,7 y 14,9 % respectivamente y 46,6, 45,4 y 8,0 % para el grupo control, respectivamente. También la diferencia fue estadísticamente significativa ( $p = 0,005$ ).

Se utilizaron los genotipos de tipo salvaje como referencia para poder calcular la probabilidad de que una mujer termine desarrollando el SOP. Con intervalos de confianza del 95%, los resultados mostraron un aumento en la probabilidad para el genotipo Ala/Ala del 2,23, en el genotipo Ser/Ser del 1,87, y del 1,96 para la combinación de variantes homocigóticas (Ser/Ser-Ala/Ala). Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas en los marcadores séricos hormonales, ováricos y metabólicos según cada genotipo.

Es interesante señalar que la frecuencia del genotipo de la variante Ser/Ser (13,3% en mujeres con SOP y 8,2% en controles) que se calculó en este estudio en mujeres coreanas fue menor que la frecuencia que se observó en otro estudio en mujeres caucásicas (22% en mujeres con SOP y 25% en mujeres controles). Otro estudio realizado en mujeres italianas con SOP también encontró una mayor frecuencia (30 y 40% respectivamente) del genotipo de la variante Ser/Ser, lo que sugiere la importancia del origen étnico, ya que esta es un factor que claramente influye en los resultados.

Además en los resultados del estudio de Kim et al., se observó que el polimorfismo Asn680Ser estaba asociado con niveles más elevados de FSH y con resistencia al citrato de clomifeno (CC) **(19)(21)**.

Un estudio retrospectivo que centra su investigación en evaluar el papel del polimorfismo Ser680Ser de FSHR como predictor de la respuesta al CC, es el realizado por Overbeek et al.. Se analizaron 193 pacientes, diagnosticadas con SOP según los criterios de

Rotterdam y que recibieron tratamiento para inducir la ovulación. La composición étnica de este grupo de pacientes fue de un 92 % mujeres caucásicas, 3 % asiáticas, 4 % de raza negra y el 1 % de origen desconocido. Los resultados obtenidos muestran que la distribución de frecuencias del polimorfismo 680 de la FSHR fue del 26 % para el genotipo Asn/Asn, del 50 % para el genotipo Asn/Ser y del 24 % para el genotipo Ser/Ser. También se mostró que las pacientes homocigotas para Ser (Ser/Ser) fueron más resistentes a CC (28 %) en comparación con el grupo heterocigoto Asn/Ser (14 %) y el grupo homocigoto Asn/Asn (15%). Aún y así no hubieron diferencias significativas en los niveles de LH y testosterona entre las pacientes resistentes a CC y las que no lo eran. El hiperandrogenismo clínico y bioquímico, el volumen ovárico y la amenorrea previa no fueron significativamente diferentes entre las pacientes respondedoras al tratamiento con CC y las resistentes a él.

La mayor resistencia de las pacientes con SOP y la variante Ser/Ser al tratamiento con CC probablemente se deba a la ausencia de “feedback” hipofisario en las pacientes con SOP. En mujeres portadoras de la variante Ser/Ser, es más complicado superar el umbral de FSH a partir del cual comienza la maduración folicular, ya que presentan unas concentraciones séricas de FSH endógenas basales más altas (21).

Finalmente otro estudio reciente en 2018 de Baban et al, que se realizó en mujeres del norte de Irak, también demostró que existe una diferencia significativa en los niveles de FSH y LH en pacientes con SOP que tenían diferentes genotipos del polimorfismo Ala307Thr (21).

Es conocido de hace mucho años que la FSH desempeña un papel esencial en la foliculogénesis y teniendo en cuenta que el SOP se caracteriza por una fallo en el crecimiento folicular, se podría llegar a plantear que los SNPs del FSHR influyen de alguna manera en el SOP. Por este motivo desde hace ya unos 20 años muchos investigadores han estudiado ampliamente esta posible relación en varias etnias, aunque claramente con resultados contradictorios entre ellas. Esto se debe a que la procedencia étnica de las mujeres influye en gran medida en los resultados obtenidos. Además teniendo en cuenta que el trastorno en el desarrollo de los folículos es una característica clave del SOP, es de gran importancia que se continúe realizando estudios de polimorfismos de FSHR que podrían afectar la función del receptor y en consecuencia influir en el desarrollo y tratamiento de SOP (19)(20)(21).

## II. Endometriosis:

Muchas investigaciones han estudiado y debatido sobre la influencia que tiene los polimorfismos FSHR Ala307Thr y Asn680Ser en el riesgo de desarrollo y/o progresión de la endometriosis y en el estado de fertilidad de las mujeres (**18**).

Un estudio en 2018 realizado por André et al., incluyó a 862 mujeres de procedencia brasileña, de las cuales 352 padecían endometriosis y el resto formaban parte del grupo control (sin endometriosis). Además en este estudio el grupo de mujeres con endometriosis se subdividió en dos subgrupos más. El primer subgrupo se dividió en base a si la endometriosis que presentaban era mínima/leve (n=140) o moderada/grave (n=212), y el segundo subgrupo en base a si eran pacientes con endometriosis fértiles (n=112) o infértiles (n=240). Todas las pacientes con endometriosis eran menores de 38 años, con niveles normales de FSH ( $\leq 10.0$  IU/ml), presentaban ambos ovarios sin anomalías morfológicas, tenían una ovulación normal con ciclos de entre 25 y 35 días e IMC ( $\leq 30$ ). El diagnóstico de endometriosis se confirmó mediante laparoscopia y análisis histológico de las lesiones.

Los resultados obtenidos mostraron que no existían diferencias significativas en la incidencia de los polimorfismos Ala307Thr y Asn680Ser entre el grupo de mujeres que presentaban endometriosis (casos) y las que no la padecían (controles). Sin embargo, cuando se separaba el grupo de mujeres con endometriosis según el estado de fertilidad (infértil y fértil) y el estadio de la enfermedad (mínimo/leve y moderado/grave) en comparación con los controles, sí que existían diferencias significativas. Se observó que el genotipo homocigótico Ser/Ser del polimorfismo Asn680Ser se presentaba con mayor frecuencia en mujeres fértiles con endometriosis ( $p = 0,041$ , OR = 1,81, IC 95 % = 1,02–3,22).

Para explorar más a fondo el efecto de los alelos combinados de los dos polimorfismos del FSHR, se realizó un análisis de haplotipos. De este análisis consiguieron dos resultados estadísticamente significativos (**18**). El primer resultado mostró como el haplotipo Ala/Ser, siendo Ala el alelo salvaje del SNP Ala307Thr y Ser el alelo polimórfico del SNP Asn680Ser, presentaba una mayor frecuencia en mujeres fértiles con endometriosis. Concretamente este haplotipo se encontraba en una frecuencia del 45,4 % en mujeres fértiles con endometriosis, en cambio en el grupo control solo estaba presente en el 38,3% de las mujeres ( $p = 0,049$ ). Por otro lado, el segundo hallazgo mostró que el haplotipo Ala/Asn (alelos de tipo salvaje de ambos polimorfismos) tenía menor frecuencia en el grupo de mujeres con endometriosis independientemente de estado de

fertilidad y etapa de la enfermedad (frecuencia de haplotipos del 6,5 % en casos y del 11,9 % en controles,  $p = < 0,001$ ) **(18)**.

Sin embargo, la mayoría de los estudios previos que exploran la relación entre los polimorfismos de FSHR y la endometriosis no coinciden en sus resultados, ya que algunos indican que existen fuertes vínculos y otros muestran una ausencia total de relación. Que los resultados no coincidan y sean contradictorios podría deberse a las diferencias que presentan los estudios, principalmente debido a que la población estudiada en cada uno de ellos es distinta. Hay que tener en consideración el origen étnico, ya que este es un factor importante en la prevalencia de SNP entre diferentes poblaciones geográficas. Por ejemplo, en el estudio mencionado de André et al., la población de mujeres brasileñas es mixta, es una de las poblaciones más heterogéneas del mundo, con contribuciones de tres grupos parentales principales: amerindios, europeos y africanos. También hay que mencionar que el tamaño de la muestra es fundamental en los estudios de asociación genética. Los grupos estudiados, tanto los casos que presentan la enfermedad como los controles son heterogéneos y todos estos factores en conjunto dificultan la interpretación y comparación de los resultados.

La evidencia disponible sugiere que en mujeres sanas, el receptor de la FSH está presente en las células del estroma endometrial y en las glándulas endometriales de el endometrio proliferativo y secretor, así como en el endotelio de los vasos sanguíneos asociados (Stilley et al., 2014). Por lo tanto, llegar a pensar que los polimorfismo genéticos que puedan haber en el receptor tengan alguna influencia en la endometriosis es una idea plausible. Esta idea fue demostrada por Bosco et al., en 2017 donde se mostró que los polimorfismos Ala307Thr y Asn680Ser pueden dar lugar en mujeres infértiles sin endometriosis a perturbaciones en la red de señalización que contribuye a la supervivencia de las células de la granulosa y al desarrollo de folículos y la producción de progesterona y estradiol podría verse regulada de manera diferente y contribuir así en el desarrollo de la enfermedad.

Finalmente otros hallazgos mostraron que la expresión de FSHR se detectó en células epiteliales glandulares del endometrio, mientras que no se detectó expresión de este receptor en tejidos normales ubicados a más de 5 mm de las lesiones endometriósicas. Estos datos sugieren que la expresión de FSHR en lesiones del endometrio es cualitativa y cuantitativamente diferente de la del endometrio normal **(18)**.

## CONCLUSIONES

- La identificación de polimorfismos del receptor de la FSH en una paciente puede ser una herramienta complementaria con potencial para optimizar la personalización y la individualización de los tratamientos de estimulación ovárica controlada.
- Las mujeres portadoras tanto de la variante Ser680 como de la variante Ala307 del gen FSHR manifiestan una mayor resistencia frente al efecto de la FSH exógena. Por este motivo, requieren dosis más elevadas de FSH para alcanzar niveles óptimos de estradiol en el día de la administración de hGC.
- La presencia de la variante Asn680 se asocia con un incremento en el riesgo de desarrollar el SHO. La detección de la variante alélica en la posición 680 puede considerarse un buen marcador de la gravedad potencial del SHO.
- Los polimorfismos identificados en el receptor de la FSH no parecen tener una influencia directa en la reserva ovárica de las pacientes, al menos de manera evidente. Se requiere una mayor profundización e investigación en este aspecto para obtener conclusiones claras.
- La manifestación de la menarquia en las mujeres podría experimentar modificaciones dependiendo del polimorfismo en el gen FSHR, pero no consta que influya en la edad de la menopausia natural.
- Los polimorfismos en el gen FSHR, hasta la fecha, no son unos biomarcadores genéticos eficaces para la detección de la IOP. Dado su complejo mecanismo patogénico se debería tener en consideración la exploración de otros elementos genéticos, de otros genes.
- Los polimorfismos genético en el FSHR inciden directamente en la duración y dinámica del ciclo menstrual.
- Las investigaciones que persiguen establecer correlaciones entre enfermedades reproductivas, tales como el SOP y la endometriosis, con determinados polimorfismos del FSHR, arrojan resultados resultados contradictorios y dispares.

## BIBLIOGRAFIA

1. 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* [Internet]. 2023 [citado 6 de agosto de 2023]; Disponible en: [https://www.jbra.com.br/trab/pub/download\\_trabalho.php?fileSource=/var/www/vhosts/jbra.com.br/meda/trab/arq\\_4479&fileName=14-2514%20-%20The%20Ala307Thr.pdf&id\\_trabalho=1956](https://www.jbra.com.br/trab/pub/download_trabalho.php?fileSource=/var/www/vhosts/jbra.com.br/meda/trab/arq_4479&fileName=14-2514%20-%20The%20Ala307Thr.pdf&id_trabalho=1956)
2. Conforti A, Esteves SC, Cimadomo D, Vaiarelli A, Di Rella F, Ubaldi FM, et al. Management of Women With an Unexpected Low Ovarian Response to Gonadotropin. *Front Endocrinol.* 27 de junio de 2019;10:387.
3. Prodromidou A, Dimitroulia E, Mavrogianni D, Kathopoulos N, Pappa KI, Loutradis D. The Effect of the Allelics of Ser680Asn Polymorphisms of Follicle-Stimulating Hormone Receptor Gene in IVF/ICSI Cycles: a Systematic Review and Meta-analysis. *Reprod Sci.* febrero de 2023;30(2):428-41.
4. Conforti A, Tüttelmann F, Alviggi C, Behre HM, Fischer R, Hu L, et al. Effect of Genetic Variants of Gonadotropins and Their Receptors on Ovarian Stimulation Outcomes: A Delphi Consensus. *Front Endocrinol.* 1 de febrero de 2022;12:797365.
5. La Marca A, Sighinolfi G, Argento C, Grisendi V, Casarini L, Volpe A, et al. Polymorphisms in gonadotropin and gonadotropin receptor genes as markers of ovarian reserve and response in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* marzo de 2013;99(4):970-978.e1.
6. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update.* 1 de enero de 2014;20(1):124-40.
7. Loutradis D, Vlismas A, Drakakis P, Antsaklis A. *Pharmacogenetics in Ovarian Stimulation-Current Concepts.* *Ann N Y Acad Sci.* abril de 2008;1127(1):10-9.
8. Blumenfeld Z. What Is the Best Regimen for Ovarian Stimulation of Poor Responders in ART/IVF? *Front Endocrinol.* 17 de abril de 2020;11:192.
9. Nenonen HA, Lindgren IA, Prahl AS, Trzybulska D, Kharraziha I, Hultén M, et al. The N680S variant in the follicle-stimulating hormone receptor gene identifies hyperresponders to controlled ovarian stimulation. *Pharmacogenet Genomics.* julio de 2019;29(5):114-20.
10. Blumenfeld Z. The Ovarian Hyperstimulation Syndrome. En: *Vitamins and Hormones* [Internet]. Elsevier; 2018 [citado 18 de mayo de 2023]. p. 423-51. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0083672918300189>
11. Kalinderi K, Asimakopoulos B, Nikolettos N, Manolopoulos VG. Pharmacogenomics in IVF: A New Era in the Concept of Personalized Medicine. *Reprod Sci.* octubre de 2019;26(10):1313-25.
12. Bilal MY, Katara G, Dambaeva S, Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A, Beaman KD. Clinical molecular genetics evaluation in women with reproductive failures. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. abril de 2021 [citado 18 de mayo de 2023];85(4). Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aji.13313>
13. Salvi R, Pralong FP. Molecular Characterization and Phenotypic Expression of Mutations in Genes for Gonadotropins and Their Receptors in Humans. En: Quinton R, editor. *Frontiers of Hormone Research* [Internet]. S. Karger AG; 2010 [citado 18 de mayo de 2023]. p. 1-12. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/312688>
14. 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. *Obstet Gynecol Surv.* diciembre de 2008;63(12):785-95.
15. Pyun JA, Kim S, Cho NH, Koh I, Lee JY, Shin C, et al. Genome-wide association studies and epistasis analyses of candidate genes related to age at menarche and age at natural menopause in a Korean population. *Menopause.* mayo de 2014;21(5):522-9.
16. Cordts EB, Santos MC, Bianco B, Barbosa CP, Christofolini DM. Are *FSHR* polymorphisms risk factors to premature ovarian insufficiency? *Gynecol Endocrinol.* 3 de agosto de 2015;31(8):663-6.
17. Huang W, Cao Y, Shi L. Effects of FSHR polymorphisms on premature ovarian insufficiency in human beings: a meta-analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* diciembre de 2019;17(1):80.
18. André GM, Martins Trevisan C, Pedruzzi IN, Fernandes RFM, Oliveira R, Christofolini DM, et al. The Impact of *FSHR* Gene Polymorphisms Ala307Thr and Asn680Ser in the Endometriosis Development. *DNA Cell Biol.* 1 de junio de 2018;37(6):584-91.
19. Kim JJ, Choi YM, Hong MA, Chae SJ, Hwang K, Yoon SH, et al. FSH receptor gene p. Thr307Ala and p. Asn680Ser polymorphisms are associated with the risk of polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet.* agosto de 2017;34(8):1087-93.
20. Laven JSE. Follicle Stimulating Hormone Receptor (FSHR) Polymorphisms and Polycystic

Ovary Syndrome (PCOS). *Front Endocrinol.* 12 de febrero de 2019;10:23.

21. Nautiyal H, Imam SS, Alshehri S, Ghoneim MM, Afzal M, Alzarea SI, et al. Polycystic Ovarian Syndrome: A Complex Disease with a Genetics Approach. *Biomedicines.* 24 de febrero de 2022;10(3):540.

22. Zerbetto I, Gromoll J, Luisi S, Reis FM, Nieschlag E, Simoni M, et al. Follicle-stimulating hormone receptor and DAZL gene polymorphisms do not affect the age of menopause. *Fertil Steril.* diciembre de 2008;90(6):2264-8.