



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

“FARMACOGENÉTICA Y ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA”

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2018

Autor: Isabel Truyols García
Modalidad: Revisión bibliográfica
Tutor/es: Isabel Ochando Sánchez

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1. Farmacogenética y medicina de precisión.....	2
2.2. Reproducción asistida e hiperestimulación ovárica controlada	3
2.3. Marcadores que se utilizan actualmente para predecir la respuesta ovárica.....	5
2.4. Búsqueda de nuevos marcadores para predecir la repuesta ovárica.....	6
3. OBJETIVO	9
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
5. RESULTADOS.....	12
5.1. ¿Polimorfismos en el gen FSHR están relacionados con la reserva ovárica funcional?.....	12
5.2. ¿Condicionan los polimorfismos en el gen FSHR la respuesta ovárica al tratamiento con gonadotropinas?.....	15
5.3. ¿Los polimorfismos en el gen FSHR pueden ayudarnos a optimizar el tratamiento con gonadotropinas?	19
5.4. ¿Los polimorfismos en el gen FSHR pueden determinar la calidad de los ovocitos obtenidos tras la estimulación ovárica controlada?	21
6. DISCUSIÓN	24
7. CONCLUSIÓN	26
8. BIBLIOGRAFIA.....	27

1. RESUMEN

La estimulación ovárica controlada es el primer paso en las técnicas de reproducción asistida, es un proceso que tiene la finalidad de lograr la maduración de varios folículos a la vez para aumentar el número de ovocitos obtenidos y, por tanto, aumentar el número de embriones obtenidos que puedan ser transferidos al útero.

La variabilidad en la respuesta interindividual a los fármacos es un problema generalizado y puede llevar a tratamientos ineficaces. El estudio de la variación en la respuesta a los fármacos resultantes de la variabilidad genética ha dado lugar al campo de farmacogenética, y su principal intención es aumentar la eficacia y minimizar los riesgos.

Actualmente los marcadores usados para predecir la respuesta ovárica no bastan para lograr un tratamiento óptimo, ya que a veces pacientes con características muy similares, responden de forma muy diferente a la COH. Por eso se piensa que la aplicación de la farmacogenética puede predecir como la paciente responderá a la estimulación y ayudar así a ajustar y diseñar la antes de iniciar el tratamiento.

Se están estudiando polimorfismos genéticos que puedan estar relacionados con la respuesta ovárica, especialmente se están estudiando los polimorfismos en el gen que codifica el receptor de la FSH (*FSHR*) son los que se han estudiado más y además parecen tener una mayor capacidad clínica como marcadores, en comparación con los demás.

Por ello este trabajo pretende determinar si los polimorfismos genéticos en el gen *FSHR* pueden ser usados como marcadores farmacogenéticos que nos permitan optimizar la estimulación ovárica controlada.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Farmacogenética y medicina de precisión

Un hecho conocido es que no todos los individuos responden igual a los tratamientos farmacológicos, y que ningún medicamento es totalmente eficaz y seguro para todos los pacientes. La variabilidad en la respuesta interindividual a los fármacos es un problema generalizado y puede llevar a efectos adversos graves y tratamientos ineficaces. Los factores que provocan esta variabilidad pueden ser la edad, el sexo, el índice de masa corporal, los factores ambientales, las interacciones farmacológicas y los factores genéticos. El estudio de la variación en la respuesta a los fármacos resultantes de la variabilidad genética ha dado lugar al campo de farmacogenética.

La farmacogenética se puede definir como el estudio de la influencia de las variaciones genéticas interindividuales sobre la respuesta a determinados fármacos y su principal intención es aumentar la eficacia y minimizar los riesgos.

Sabemos que el 99,9% del genoma humano es idéntico en todos los individuos y que pequeñas diferencias en el ADN pueden predisponer a padecer una enfermedad o presentar una respuesta alterada a un fármaco. Más del 90% de las diferencias genéticas entre individuos son atribuibles a polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Los SNP son variaciones en la secuencia del ADN, que ocurren en al menos el 1% de la población, representan la forma de variación genética más abundante, las mutaciones en comparación son más raras.(1) Estas sustituciones pueden ocurrir en cualquier parte del DNA, actualmente hay identificadas más de 19 millones de SNPs(2) y solo un pequeño número de estas se encuentran en la región codificante de proteínas (exones).

El estudio de la farmacogenética puede predecir cómo va a responder el paciente a un fármaco, proporcionando así un medio adicional y muy específico para determinar la dosis de medicamento, que va más allá del peso y edad, considerando también, por ejemplo, la capacidad del paciente para metabolizar el medicamento. Llegar a establecer y comprender las determinantes genéticas que pueden influir en la respuesta farmacológica de un medicamento,

optimizará el uso de estos en lo que se conoce como “medicina de precisión”, que consiste en el uso del perfil genético de un individuo con el fin de diseñar una tratamiento a medida del paciente, de tal forma que se favorezca la mejor prescripción posible, con la mayor eficacia y seguridad.(3) “La promesa de la medicina de precisión es dar el tratamiento correcto, en el momento correcto, siempre, a la persona correcta”, esa es la definición que dan los Institutos Nacionales de la Salud (NIH). (4)

El estudio de las variaciones del genoma humano en la respuesta a los medicamentos ha avanzado mucho en los últimos años debido a la finalización del Proyecto Genoma Humano y, más recientemente, del Proyecto HapMap Internacional, cuyo objetivo era desarrollar un mapa de haplotipos del genoma humano que describiría los patrones comunes de la secuencia del ADN humano, y también gracias al gran avance en bioinformática.

2.2. Reproducción asistida e hiperestimulación ovárica controlada

Podemos definir la reproducción asistida como el conjunto de técnicas que se utilizan para sustituir el proceso natural de la reproducción. Estas técnicas de reproducción asistida (TRA), por tanto, diremos que son todos aquellos procesos que permiten la concepción y el normal desarrollo de la gestación en parejas con problemas de fertilidad, por medio de la manipulación médica. Hoy en día se utilizan las TRA para tratar diversas causas de infertilidad (Tabla 1).

(5)

Factor masculino
• Anomalías anatómicas
• Disfunción eréctil
• Azoospermia
• Oligozoospermia
• Teratozoospermia
• Astenozoospermia
Factor tubárico
Factor uterino
• Anormalidades anatómicas
• Mala historia obstétrica
• Antes de histerectomía
• Adherencias intrauterinas...
Disfunción ovulatoria
• Síndrome de ovario poliquístico
• Hipogonadismo hipogonadotropo
Endometriosis
Disminución de la reserva ovárica
Antes de radiación o quimioterapia
Enfermedades transmitidas genéticamente

Figura 1. Indicaciones de las técnicas de reproducción asistida.

Existen distintos tipos de técnicas de reproducción asistida:

- **Inseminación artificial (IA):** Es el método más sencillo, consiste en la introducción de espermatozoides en el aparato reproductor femenino con la finalidad de obtener la gestación. Dependiendo del origen del semen, puede ser conyugal (IAC) si el semen es de la pareja, o de un donante (IAD) por lo que pueden usar este método tanto parejas heterosexuales como lesbianas. Normalmente, los pasos a seguir en esta técnica son: primero, la estimulación ovárica, ya que permite controlar el ciclo y aumenta las posibilidades de fecundación. Por otro lado, se prepara el semen, se elimina el plasma seminal, se incuba en medios específicos y en perfectas condiciones ambientales para mejorar la movilidad y seleccionar los mejores espermatozoides, y finalmente, tras decidir el momento óptimo, se realiza la introducción del semen en el útero. (6,7)
- **Fecundación in vitro (FIV):** Esta técnica es una de las más usadas, es más compleja que la anterior y consiste en la unión de un óvulo y un espermatozoide en el laboratorio para crear un embrión y posteriormente introducirlo en el útero. Podemos diferenciar dos tipos: FIV convencional o ICSI, en la cual se selecciona un único espermatozoide y después se introduce directamente en el óvulo por una microinyección. A la hora de realizar esta técnica, igual que antes, lo primero sería realizar la estimulación ovárica controlada, después se realiza una punción folicular para extraer los óvulos del ovario, por otro lado se prepara el semen en el laboratorio, para después inseminar los óvulos con los espermatozoides seleccionados. Luego se cultivan en condiciones óptimas para la fertilidad y en el momento adecuado se transfieren los embriones en la cavidad endometrial.

En esta técnica tanto el semen como los óvulos, pueden ser el de la pareja y los propios o pueden ser de donantes. Y en el caso de parejas lesbianas, existe una variante de la técnica, conocida como método ROPA, en el cual se cogen los óvulos de una de las mujeres de la pareja

y se transfieren los embriones a la otra mujer, de modo que las dos participan en la gestación. (6,8)

Como hemos visto, la estimulación ovárica controlada (COH) es el paso inicial en las técnicas de reproducción asistida con la finalidad de lograr la maduración de varios folículos a la vez para aumentar el número de ovocitos obtenidos y, por tanto, aumentar el número de embriones que puedan ser transferidos al útero.

De forma natural en la mujer, las gonadotropinas liberadas por la hipófisis ejercen una acción sobre los ovarios, en estos los folículos empiezan a desarrollarse, pero finalmente solo en uno de ellos se produce la ovulación, es decir, solo uno de ellos libera un óvulo. En la estimulación ovárica lo que se pretende es que prácticamente todos los folículos que inician la maduración lleguen a la ovulación, y esto se consigue con medicación que contiene gonadotropinas (naturales o sintéticas) llamadas hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y gonadotropina coriónica humana (HCG). Existen distintos protocolos de estimulación ovárica, pero de forma general podemos decir que la medicación consta de tres pasos fundamentales: inducir la maduración ovárica, bloquear el control natural y estimular la ovulación. Actualmente se utilizan dos: el protocolo largo con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y el corto con antagonistas de la GnRH, que difieren en duración y número de inyecciones a administrar. En el protocolo corto la duración es de unos 15-17 días, mientras que en el protocolo largo hay que añadir 10-15 días de preparación previa. (9)

2.3. Marcadores que se utilizan actualmente para predecir la respuesta ovárica

Existe una gran variabilidad en la respuesta ovárica en las mujeres sometidas a COH. Hay mujeres que tienen una respuesta baja a la COH, a pesar de administrárseles altas dosis de gonadotropinas. Según la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), se considera que una mujer es baja respondedora cuando,

después de haberse sometido a dos ciclos de estimulación ovárica, obtiene 3 o menos folículos en cada una de ellas. En cambio, hay mujeres que tienen una hiperrespuesta que puede dar lugar a lo que se conoce como síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), que es una afectación que provoca el agrandamiento de los ovarios y extravasación del líquido del ovario a la zona abdominal. Por ello es importante intentar realizar un tratamiento individualizado a cada paciente en la COH, para predecir cuál será su respuesta y así evitar una hiper o hipo respuesta, usando distintos marcadores. (10)

Actualmente los marcadores que se usan para predecir la respuesta ovárica son: (11)

- Edad, está relacionada una menor respuesta ovárica a mayor edad.
- Índice de masa corporal (IMC), a mayor IMC menor respuesta
- Estilo de vida, como el tabaquismo que se asocia a una peor respuesta.
- Recuento de folículos antrales (AFC), es un indicador de reserva ovárica y para observarlos se hace una ecografía transvaginal en el tercer o quinto día del ciclo. Cuanto más baja es la reserva ovárica, menor será la respuesta.
- Hormona antimulleriana (AMH), esta se sintetiza en el ovario y es un marcador bioquímico que indica también la reserva de óvulos. La determinación de AMH se puede hacer en cualquier momento del ciclo, ya que no varía. A menor AMH, menor respuesta ovárica.
- FSH basal (FSHb). Se evalúa el tercer día del ciclo y es también un marcador bioquímico que se usa para valorar la reserva ovárica. Cuanto más elevados son los valores, peor será la respuesta ovárica.

2.4. Búsqueda de nuevos marcadores para predecir la respuesta ovárica

Está visto que con los marcadores usados actualmente para predecir la respuesta ovárica no basta para lograr un tratamiento óptimo, ya que a veces pacientes con características muy similares, responden de forma muy diferente

a la COH. Por eso se piensa que las diferencias genéticas de cada individuo pueden estar relacionadas con esta variabilidad en la respuesta y que la aplicación de la farmacogenética puede predecir como la paciente responderá a la estimulación y ayudar así a ajustar y diseñar la dosis antes de iniciar el tratamiento. Se están estudiando polimorfismos genéticos que puedan estar relacionados con la respuesta ovárica, especialmente se están estudiando polimorfismos en genes que codifican hormonas o receptores de hormonas que participan en el desarrollo folicular (*FSHR*, *FSHB*, *LHCGR*, *LHB*, *ESR1*...). Los polimorfismos en el gen que codifica el receptor de la FSH (*FSHR*) son los que se han estudiado más y además parecen tener una mayor capacidad clínica como marcadores, en comparación con los demás.

La hormona folículo estimulante (FSH) y su receptor (*FSHR*) tienen un papel fundamental en el desarrollo folicular. La activación del receptor de FSH, el cual está codificado por el gen *FSHR*, es necesaria para el funcionamiento hormonal de la FSH. El receptor de FSH pertenece al grupo de receptores acoplados a proteínas G y se encuentra principalmente en las células granulosas del ovario y en las células testiculares de Sertoli.(12)

El gen de *FSHR* está localizado en el cromosoma 2p21 y está constituido por 10 exones y 9 intrones. Se han localizado unos 1000 SNP en el gen *FSHR*, pero solo 8 se encuentran en región codificante (exones), 6 son asintomáticos y otros 2, ubicados en el exón 10, están relacionados con la respuesta ovárica. El primer SNP se encuentra en el dominio extracelular, en posición 919 que corresponde al codón 307 (T307A), donde se produce un cambio de Alanina (A o Ala) por Treonina (T o Thr) y el segundo se encuentra en el dominio intracelular, en posición 2039 que corresponde al codón 680 (N680S), donde se produce un cambio de Asparagina (S o Asn) por Serina (S o Ser). Ambos afectan a la función del gen cambiando las propiedades del receptor FSH y, en consecuencia, modificando la respuesta a la FSH. Estos polimorfismos están en desequilibrio de ligamiento, lo que da como resultado la combinación alélica más frecuente de T307-N680 y A307-S680.(2)

Recientemente, se ha descubierto otro polimorfismo en la región promotora de la FSHR, en posición -29 (-29G>A), este polimorfismo se caracteriza por la sustitución de guanina por adenina y parece reducir la expresión de FSHR. (13)

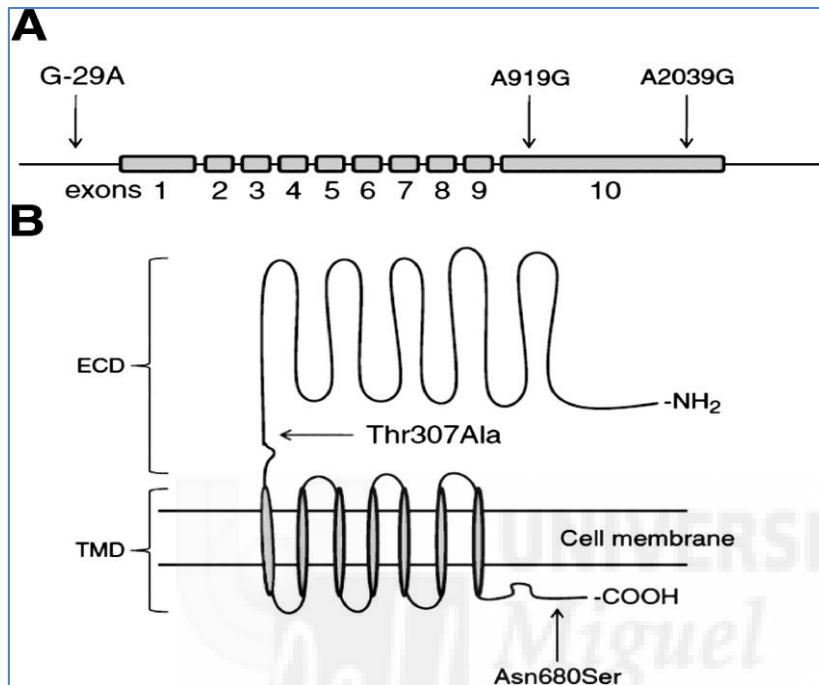


Figura 3. Modelo esquemático del gen FSHR (A) y la proteína (B). Se muestra la distribución de los SNP más comunes.

3. OBJETIVO

El objetivo principal de este trabajo es determinar si los polimorfismos genéticos en el gen *FSHR* pueden ser usados como marcadores farmacogenéticos que nos permitan optimizar la estimulación ovárica controlada.



4. MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño

Se realizó una revisión sistemática de los trabajos existentes relacionados con los polimorfismos del gen del receptor de FSH y la estimulación ovárica controlada, en la base de datos Medline, principal base de datos biomédicos, a través de su buscador PubMed. También se consultaron páginas web oficiales como Reproducción Asistida Org y Babygest.

Estrategia de búsqueda

Para poder realizar la búsqueda, lo primero fue seleccionar unos descriptores, utilizando la herramienta de Descriptores de Ciencias de la Salud (DeCS). Tras la consulta al DeCS se obtuvieron los descriptores en inglés que corresponde a Medical Subject Headings (MeSH). Después en PubMed, se realizó la búsqueda a través de "MeSH Database". En este caso los descriptores y MeSH utilizados fueron: "farmacogenética" (*pharmacogenetics*), "inducción de la ovulación" (*ovulation induction*), "receptor de FSH" (receptors, FSH) y "polimorfismo de nucleótido simple" (*polymorphism, single nucleotid*); se utilizaron varias ecuaciones de búsqueda en las que se usaron los conectores "AND" y "OR" para combinar los descriptores y aumentar la especificidad de la búsqueda. También se usó el subtítulo "genetics" que genera la base de datos, y se aplicó el filtro humans para afinar la búsqueda-

Ecuaciones usadas:

- (((("Polymorphism, Single Nucleotide"[Mesh]) OR "Polymorphism, Single Nucleotide"[Mesh])) AND (("Receptors, FSH"[Mesh]) OR "Receptors, FSH"[Title/Abstract])) Filters: Systematic Reviews; Guideline; published in the last 10 years; Humans; English; Spanish
- (((("Pharmacogenetics"[Mesh]) OR "Pharmacogenetics"[Title/Abstract])) AND ((("Ovulation Induction"[Mesh]) OR "Ovulation Induction"[Title/Abstract])) AND (("Receptors, FSH"[Mesh]) OR "Receptors, FSH"[Title/Abstract])) Filters: published in the last 10 years; Humans; English; Spanish

- ("Receptors, FSH/genetics"[Mesh]) AND ("Ovulation Induction"[Mesh]) OR "Ovulation Induction"[Title/Abstract]) Filters: published in the last 10 years; Humans; English; Spanish

Criterios de inclusión y exclusión

Para la selección de artículos usados en este trabajo se usaron principalmente como criterios de inclusión: aquellos trabajos que establecían una relación entre polimorfismos en el gen del receptor de FSH y la respuesta ovárica, aquellos que trataban la aplicación de la farmacogenética en la estimulación ovárica, todos ellos publicados en los últimos 10 años. Básicamente, los criterios de exclusión han sido: trabajos que no traten sobre los SNP en el gen del *FSHR* y artículos no escritos en lengua inglesa o española.

Extracción de datos

Tras la búsqueda en PubMed se encontraron 59 estudios, de los cuales finalmente se excluyeron 44 debido a que no eran relevantes para el objetivo del trabajo. Por lo que los artículos seleccionados para la revisión fueron 14, además de alguna información consultada en la web, como publicaciones en la revista de Reproducción Asistida ORG y alguna otra publicación sobre reproducción y farmacogenética encontrados a través de Google Scholar.

5. RESULTADOS

Como ya hemos mencionado antes, tenemos dos polimorfismos en el exón 10 que corresponde al codón 307 y al codón 680. Estos dos polimorfismos dan lugar a cuatro posibles combinaciones alélicas:

- **T307-N680** (60%)
- **A307-S680** (40%)
- A307-N680
- T307-S680

Las combinaciones alélicas A307-N80 y T307-S680 son mucho menos frecuentes que las otras dos, se encuentran en menos del 5% de la población. En cambio las otras dos combinaciones son mucho más frecuentes, T307-N680 es con diferencia la más abundante.

Para simplificar, la mayoría de los estudios se centran solamente en el codón 680, en este codón hay tres variantes alélicas posibles: NN, NS y SS. La combinación heterocigota NS es la que tiene una mayor frecuencia (24-50%).

5.1. ¿Polimorfismos en el gen FSHR están relacionados con la reserva ovárica funcional?

La reserva ovárica funcional hace referencia al número y a la calidad de los ovocitos que quedan en el ovario en el momento de la estimulación. Se puede determinar midiendo los niveles de estradiol, de FSH basal, hormona antimülleriana (AMH) y el número de folículos antrales (AFC).

Un estudio realizado por *Pérez-Mayorga et al* (14), fue de los primeros que intentaron evaluar el papel de las variantes alélicas del gen FSHR in vivo, determinando la capacidad de respuesta del ovario a la estimulación con FSH. El estudio se llevó a cabo en 161 mujeres en su primer ciclo de fecundación in vitro por infertilidad masculina o factor tubárico, en las que se aplicó protocolos de estimulación estándar y se midieron los niveles de FSH (tercer día del ciclo menstrual), en ciclos previos a la estimulación ovárica, y los niveles de estradiol se valoraron el día de la administración de la

gonadotropina coriónica humana (hCG). Las mujeres fueron genotipadas y la distribución de frecuencia de las variables alélicas fue: 29% NN, 45% NS y 26% SS. En los resultados se observó que al medir los niveles basales de FSH, las mujeres con la variante alélica SS tenían concentraciones más altas de FSH basal, en comparación con las otras mujeres con las variantes NS y NN (Figura 3). Respecto a los otros parámetros medidos que fueron: niveles de estradiol el día de la administración de hCG, el número de folículos preovulatorios y el número de ovocitos recuperados fueron parecidos en los tres grupos de las distintas variantes, lo que sugiere que el tratamiento fue igualmente exitoso, independientemente de la variante del FSHR (Figura 4).

Sin embargo, se apreció que para alcanzar el mismo nivel máximo de estradiol el día de la administración de hCG, las mujeres con genotipo SS requerían mayores dosis de FSH que las mujeres NS y NN, este hallazgo indica que las mujeres que presentan la variante SS son más resistentes a las acción de FSH exógena que las mujeres con otros genotipos, y por lo tanto, requieren una estimulación más fuerte (mayor cantidad de FSH) para lograr la misma respuesta a la estimulación.

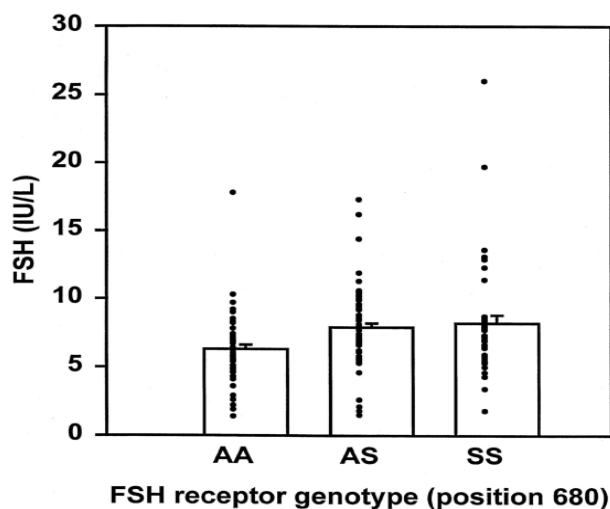


Figura 4. Niveles basales de FSH medidos el día 3 del ciclo menstrual según el genotipo de FSHR. AA (NN)= 6,4 UI/L; AS(NS) = 7,9 UI/L y SS= 8,3 UI/L.

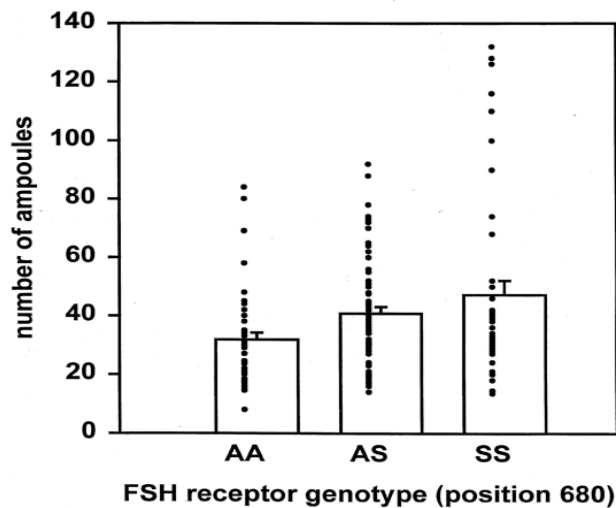


Figura 5. Número de ampollas de FSH (75 UI / ampolla) requeridas para lograr la inducción de la ovulación y la recuperación de oocitos en mujeres agrupadas según el genotipo FSHR. AA (NN)= 31,8; AS(NS)= 40,7 y SS= 46,8.

Otro trabajo, realizado por Mohiyiddeen et al(15), es un estudio observacional prospectivo realizado en 421 sometidas a su primer ciclo de estimulación ovárica para IVF, evaluó la asociación entre las variantes alélicas del gen *FSHR* y los marcadores de reserva ovárica (AMH, AFC, FSH). Las mujeres fueron genotipadas y la distribución de frecuencia de las variables alélicas fue: 30% NN, 51% NS y 19% SS.

Este estudio no pudo confirmar las observaciones de otros estudios de que el genotipo de la variante homocigótica (SS) está asociada con concentraciones más altas de FSH basal. Tampoco encontró evidencias de que los polimorfismos de *FSHR* estudiados estén relacionados con los marcadores de reserva ovárica usados actualmente (AMH y AFC), hallazgo que no resultó sorprendente, dado que la reserva ovárica consiste en folículos primordiales que no son activados por la FSH y la expresión de *FSHR* no es relevante para estos folículos.

5.2. ¿Condicionan los polimorfismos en el gen FSHR la respuesta ovárica al tratamiento con gonadotropinas?

Como ya se ha comentado antes y se ha descrito en el objetivo de este trabajo, es fundamental establecer si existe una asociación entre las variantes genéticas del receptor de FSH y la respuesta ovárica, ya que explicaría las respuestas tan variables entre pacientes similares en las que se aplican los mismos protocolos de estimulación.

Un estudio de cohortes realizado en 1250 mujeres chinas sometidas a un programa de FIV/ICSI(16), tenía como objetivo evaluar la asociación del polimorfismo S680N del gen de FSHR con el resultado de la estimulación ovárica controlada. Para valorar la respuesta se midieron diversos parámetros como: la dosis de gonadotropinas administradas, el número de días que se administró gonadotropinas, el nivel de estradiol medido el día de la administración hCG, el número de ovocitos recuperados. Estos valores se recogieron en una tabla (Figura 6)

Genotype Ser680Asn (S ⁶⁸⁰ N)	NN	NS	SS
<i>n</i>	506	572	172
Age (year)	31.05 ± 3.66	31.37 ± 3.30	31.50 ± 3.06
BMI (kg/m ²)	22.71 ± 1.18	22.57 ± 1.20	22.59 ± 1.17
Basal FSH (IU/l)	7.27 ± 1.46	7.48 ± 1.58	7.86 ± 1.34
AFC (<i>n</i>)	11.00 ± 2.11	11.18 ± 2.19	10.92 ± 2.37
Dosages of Gn administration (IU)	2088 ± 651	2124 ± 524	2273 ± 949
Days of Gn administration (d)	11.07 ± 2.17	11.00 ± 1.96	10.91 ± 2.16
E ₂ level on the day of hCG injection (pg/ml)	2453 ± 1734	2209 ± 1661	2057 ± 1400
No. of oocytes retrieved	12.65 ± 6.00	11.80 ± 6.62	10.32 ± 6.38
Fertility rate (%)	74.61 ± 8.22	73.84 ± 6.77	74.42 ± 8.43
Clinical pregnancy rate (%)	28.8 (146/506)	29.3 (168/572)	30.2 (52/172)

Figura 6. Características clínicas de las mujeres infértiles en el programa de FIV/ICSI agrupadas según genotipo.

A la hora de analizar los resultados, la respuesta ovárica a la estimulación con FSH se diferenció en función del número de ovocitos recuperados,

considerando que una producción de menos de cinco ovocitos era una respuesta baja (pobre respondedoras) y una producción mayor eran buenas respuestas. Se observó que el grupo con una baja respuesta había sido tratado con dosis más altas de FSH exógena para lograr una cantidad de óvulos en comparación con el grupo de buena respuesta. Esto nos indica que el genotipo SS tiene una sensibilidad menor a la FSH que los otros genotipos. A pesar de que otro estudio(14) sugirió que la resistencia de pacientes SS a la FSH se puede superar aumentando las dosis de FSH exógena administrada, este estudio no está de acuerdo en esta conclusión, ya que la concentración de estradiol el día de la inyección de hCG y el número de ovocitos recuperados son claramente menores en el grupo SS que en el grupo NN.

Las pacientes con genotipo SS presentan una frecuencia mayor que aquellas con genotipo NN y NS de tener una respuesta baja. También se demostró que el alelo recesivo S confiere un riesgo de 1,56 veces de obtener una respuesta baja, por ello los genotipos SS y NS se asociaron a un riesgo mayor de respuesta baja que el genotipo NN. El análisis del nivel de estradiol (E₂) en el fluido folicular mostró que la concentración de estradiol en la variante SS fue menor que en NN y NS.

Genotypes	PR	GR
NN	11.9% (60/506)	88.1% (446/506)
NS	20.3% (116/572)	79.7% (456/572)
SS	23.8% (41/172)	76.2% (131/172)
MAF (S allele)	0.45	0.37

Figura 7. Distribución según genotipo de las frecuencias de baja respuesta (PR) y buena respuesta (GR).

*MAF: Frecuencia alelo recesivo.

Se puede concluir que este estudio sí confirma que existe una relación entre el polimorfismo S680N del gen *FSHR* y el resultado a la estimulación ovárica y que, además, los pacientes que presentan el alelo S suelen necesitar dosis mayores de FSH para lograr una respuesta óptima a la estimulación.

Ya anteriormente, *Behre H.M et al*, llegó a esta conclusión, realizó un ensayo aleatorizado y controlado en 93 pacientes caucásicas que participaban en un programa de FIV/ICSI donde se estudió la respuesta de estradiol a la administración de FSH en mujeres con las variantes alélicas SS y NN. Se hicieron tres grupos de estudio:

- Grupo I: mujeres SS (150 UI/día de FSH)
- Grupo II: mujeres SS (225 UI/día de FSH)
- Grupo III: mujeres NN (150 UI/día de FSH)

Se observó la concentración de estradiol el día de la administración de la hCG, interpretándose así la respuesta ovárica. Los resultados mostraron que las mujeres del grupo I tenían valores de estradiol significativamente menores que las mujeres de los otros dos grupos. Por lo tanto, la administración de FSH en mujeres SS parece ser menos eficaz en términos de producción de estradiol, pero aumentando la dosis de FSH administrada se puede lograr alcanzar los mismos niveles que los otros grupos.

Respecto al otro polimorfismo, -29G/A, descubierto más recientemente también en el gen de *FSHR* parece que también está relacionado con la respuesta ovárica a la administración de gonadotropinas. Un estudio que se realizó en 50 mujeres en un programa de FIV demostró que las mujeres con el genotipo AA en posición -29 requerían mayores dosis de FSH, tuvieron concentraciones menores de estradiol, produjeron menor cantidad de folículos y el número de ovocitos recuperados fue menor. Otro artículo más reciente decía que la baja respuesta ovárica en las pacientes con genotipo AA está causada por una expresión reducida de los receptores que se encuentran en las células de la granulosa. (17,18)

Un estudio prospectivo llevado a cabo en 559 mujeres de distintas etnias que participaban en un programa de FIV/ICSI evaluó la relación entre el polimorfismo -29G>A del gen *FSHR* con los parámetros de reserva ovárica y con la respuesta ovárica, midiendo el número de ovocitos recuperados y la dosis de gonadotropina usada. Las mujeres fueron genotipadas y la

distribución de frecuencia de las variables alélicas fue: AA (9,1%), AG (41%) y GG (49,9%).

Respecto a los resultados, para los marcadores de reserva ovárica no se encontraron diferencias significativas entre los distintos genotipos.

Parameter	Median (10 th -90 th percentile) FSHR -29 G>A			Adjusted linear regression For age, BMI, ethnicity
	AA	GA	GG	log difference per allele (95% CI)
Basal FSH (IU/l)	7.1 (4.8-11)	6.7 (4.6-9.8)	6.6 (4.6-9.8)	0.03 (-0.01-0.08)
AFC	11.5 (8-19.3)	14 (8-24)	13 (8-22)	-0.04 (-0.09-0.02)
AMH (pmol/l)	11.8 (4.7-37.1)	16.3 (5.6-40.6)	14.4 (4.8-44.4)	-0.07 (-0.17-0.02)

Figura 8. Marcadores de reserva ovárica según los diferentes genotipos.

Tampoco hubo asociaciones significativas entre los genotipos y los marcadores de respuesta ovárica. Las mujeres portadoras del alelo A tenían más probabilidades de tener un embarazo clínico y un nacimiento vivo después de la estimulación ovárica. Sin embargo, estas relaciones no conservaron importancia cuando el análisis se ajustó para la cantidad de embriones transferidos.

Parameter	median (10 th -90 th percentile) FSHR -29 G>A			Adjusted regression analysis ^a
	AA	GA	GG	Difference per allele (95% CI)
Total dose gonadotropin used (IU)	3000 (1500-3825)	2550 (1350-3765)	2700 (1420-3750)	-4 (-124-117)
Oocytes retrieved	9 (4-18)	9 (3-18)	8 (3-19)	0.03 (-0.05-0.11)

Parameter	AA	GA	GG	Adjusted regression analysis	
				odds ratio per allele (95% CI)	P
Clinical pregnancy rate n (%)	20/51 (39)	91/229 (40)	87/279 (31)	1.32 ^a (1.01-1.74)	0.044
				1.27 ^b (0.95-1.71)	NS
Live-birth rate n (%)	18/51 (35)	67/229 (29)	68/279 (24)	1.37 ^a (1.02-1.84)	0.035
				1.33 ^b (0.98-1.81)	NS

Figura 9. Marcadores de respuesta ovárica y tasas de embarazo y nacimiento según genotipos.

A pesar de que, en los estudios anteriores sobre este polimorfismo, la dosis total de gonadotropina administrada fue mayor para el genotipo AA que para los otros dos, en este estudio no se observó una diferencia significativa con los otros grupos. Además, tampoco hubo diferencias en el número de ovocitos recuperados entre los diferentes grupos, mientras que en los otros estudios, en las mujeres con genotipo AA se recuperó un menor número de ovocitos maduros.

Por lo tanto, sería necesario un tamaño de muestra mayor para determinar si este SNP tiene un efecto sobre la reserva ovárica o la respuesta ovárica. Sin embargo, en términos prácticos, para que el SNP tenga utilidad clínica como marcador debería tener un efecto mayor. (19)

5.3. ¿Los polimorfismos en el gen FSHR pueden ayudarnos a optimizar el tratamiento con gonadotropinas?

Como ya hemos visto, varios trabajos han estudiado la relación entre los polimorfismos del gen *FSHR* y la respuesta ovárica a la administración de gonadotropinas; determinar si existe una asociación significativa es importante ya que puede ayudar en la elección de un tratamiento individual para cada paciente. También podría ser interesante evaluar si existe una relación entre los polimorfismos del gen *FSHR* y los distintos tratamientos de estimulación.

Un estudio retrospectivo de cohortes(20), realizado en 191 mujeres donantes de ovocitos sometidas a estimulación ovárica controlada con FSH recombinante (rFSH) y FSH altamente purificada (HP-FSH), tenía como objetivo mostrar si el polimorfismo N680S tiene valor predictivo para la respuesta ovárica a la estimulación según la naturaleza de las diferentes FSH administradas. En todas las mujeres se llevó a cabo dos ciclos, se diferenciaron tres grupos:

- Grupo 1: Un ciclo con rFSH y otro ciclo con HP-FSH
- Grupo 2: Dos ciclos con HP-FSH

- Grupo 3: Dos ciclos con rFSH

La frecuencia, total y por grupos de los genotipos fue:

	NN	NS	SS
Total	20%	37%	43%
Grupo 1	18%	41%	41%
Grupo 2	17%	34%	49%
Grupo 3	36%	36%	28%

Se observó que para las donantes del grupo 1 no hubo diferencias significativas entre el ciclo con rFSH y el ciclo con HP-FSH.

Sin embargo, se observó que para el genotipo SS, el número de ovocitos recuperados y de ovocitos maduros en metafase II (MII) fue mayor en el ciclo con HP-FSH. Y para las donantes con genotipo NS, el número de ovocitos recuperados y de ovocitos maduros en metafase II (MII) fue mayor en el ciclo con rFSH, mientras que para el genotipo NN no se encontraron diferencias entre un ciclo y otro.

- La estimulación ovárica en las donantes SS, es más eficiente con la HP-FSH (mayor vida media).
- La estimulación ovárica en las donantes NS, es más eficiente con la rFSH (menor vida media, mayor actividad *in vitro*).

En conclusión, se demostró que el polimorfismo N680S del gen FSHR afecta a la eficacia de HP-FSH y de rFSH, por lo que el genotipo de este polimorfismo es un factor importante para determinar la dosis y el tipo de gonadotropina que se van a usar en la estimulación. Aunque se necesitan más estudios que confirmen esta asociación.

5.4. ¿Los polimorfismos en el gen FSHR pueden determinar la calidad de los ovocitos obtenidos tras la estimulación ovárica controlada?

Como hemos visto muchos trabajos estudian la relación de los polimorfismos del gen FSHR con la respuesta ovárica a la FSH en tratamientos de estimulación ovárica, casi todos miden el número de ovocitos recuperados tras la estimulación, pero prácticamente ninguno ha evaluado la calidad de estos o si los polimorfismos del gen FSHR guardan relación con la calidad de estos ovocitos obtenidos.

Un estudio (21) llevado a cabo en 104 mujeres albanas que estaban en un programa de ICSI, investigó la relación entre las variantes genóticas del polimorfismo S680N del gen *FSHR* y la morfología de los ovocitos, obtenidos por estimulación ovárica controlada, antes de los procedimientos de ICSI. En todas las mujeres participantes, el motivo de infertilidad era por factor masculino. Las mujeres fueron genotipadas y las frecuencias de las variantes genóticas fueron: 21% NN, 47,1% NS y 30,8% SS.

La variante SS indicó una mayor tasa de ovocitos recuperados en la forma inmadura, metafase I (MI) en comparación con las otras dos variantes. El genotipo SS también mostró una menor tasa de ovocitos que después de una incubación in vitro de 2-6 horas excedieron la etapa de metafase II (MII) en comparación con los genotipos NS y NN. Además, la tendencia de la diferencia encontrada cuando comparamos tasas de ovocitos MII, la variante SS indica una tasa menor que las otras dos variantes genóticas. No hubo diferencias entre los genotipos con respecto al número de folículos dominantes el día de la administración de hCG ni con la tasa de embarazo.

Clinical and endocrinologic parameters	NN (n=23)	NS (n=49)	SS (n=32)
Age (years)	33.65 ± 6.278	34.06 ± 5.528	32.38 ± 5.707
BMI (kg/m ²)	22.00 (20.60-24.70)*	22.30(20.20-25.10)**	26.10 (22.88-27.70)*
bFSH (mIU/ml)	10.01 (7.60-12.16)	10.20 (8.58-11.92)	10.28 (8.32-12.18)
b Estradiol (pmol/l)	46.88 (36.75-55.09)	42.90 (34.5-61.20)	33.18 (26.25-45.53)
AFC	7.043 ± 1.965	7.122 ± 1.822	6.625 ± 2.379
FSH amount needed for ovulation induction (IU)	2482 ± 467.8	2441 ± 532.7	2466 ± 481.5
Estradiol on hCG day of administration (pg / l)	1746 ± 811.0	1782 ± 681.0	1467 ± 627.3
Number of oocytes retrieved	5.174 ± 1.946	5.633 ± 1.845	4.906 ± 1.653
Number of transferred embryos	2 (1-3)	3 (2-3)**	2 (1-2)**
Pregnancy rate	43.48 (10/23)	26.53 (13/49)	21.875 (7/32)

Figura 10. Características clínicas y endocrinas de los pacientes según su genotipo.

Genotyp variants (FSHR)	Asn/Asn (n=23)	Asn/Ser (n=49)	Ser/Se (n=32)	p
Total oocyte	147	294	164	0.0001
Number of dominant follicles (d≥17mm) on the day of hCG administration	4.565 ± 1.674	4.551 ± 1.542	3.813 ± 1.693	**NS
Number of oocytes retrieved (n)	5.174 ± 1.946	5.633 ± 1.845	4.906 ± 1.653	**NS
Mmetaphase stage I (n)	23.7%	21.9%	25.9%	***0.3020
In vitro culture (n) (M1 to MII, after 2-6 h)	8.4%	11.6%	5.2%	***0.0031
Metaphase stage II (n)	76.3% + 8.4%	78.1% + 11.6%	74.1% + 5.2%	***0.0258
Oocytes fertilized (%)	84.7%	89.7%	79.3%	NS
Pregnancy rate ,% (n)	79.8%	81.8%	78.6%	NS
	43.48 (10/23)	26.53 (13/49)	21.875 (7/32)	**NS

Figura 11. Frecuencia de fertilización y el desarrollo de embriones después de ICSI maduró M1 y MII.

Se obtuvieron en total 605 ovocitos de todas las pacientes por aspiración de los folículos. De estos, 414 tenían morfología normal y 191 tenían alguna anomalía. En la figura 12 aparecen los valores observados

Genotyp variants (FSHR)	Asn/Asn %,(n)	Asn/Ser %,(n)	Ser/Se %,(n)	p
Normal Morphology of oocyte	67.6%(99)	70.8% (208)	65.2% (107)	0.0480*
Oocytes with abnormalities	32.4% (48)	29.2% (86)	34.8% (57)	0.0417*
Vacuolated cytoplasm	10.06%	11.20%	9.82%	NS
Dark and granular cytoplasm	8.20%	9.07%	7.70%	NS
Debris in PVS	7.24%	7.15%	7.30%	NS
Large PVS	7.20%	8.40%	7.82%	NS
Fragmented 1st PB	10.12%	12.25%	10.31%	NS
Big polar body	0.46%	0.80%	0.65%	NS
Irregular ZP	8.35%	8.21%	8.63%	NS
Thin zona	3.10%	3.26%	3.01%	NS
Thick zona	5.25%	4.95%	5.62%	NS
Irregular shape	5.76%	4.35%	3.92%	NS
Giant oocyte	1.10%	1.50%	1.30%	NS
Small oocyte	4.66%	2.85%	2.62%	NS
>1 abnormalities	28.50%	17.80%	34.20%	0.0230
Total oocyte	147	294	164	

Figura 12. Frecuencia de anomalías de los ovocitos observadas en las tres variantes genotípicas. PB: polar body, PVS: perivitelline space, ZP: zona pelucida y NS: no significativo.

Por lo que este estudio concluyó que los polimorfismos del gen *FSHR* se asocian con una morfología normal y maduración genética (metafase II) de ovocitos según la variante genética del polimorfismo. Para confirmar estos hallazgos se deberían realizar estudios más amplios.

6. DISCUSIÓN

Muchos estudios han estudiado la relación entre los polimorfismos del gen *FSHR* y la función ovárica y la respuesta ovárica a la estimulación controlada, para ver si es posible predecir como la paciente va a responder y si puede ayudar a la elección y diseño de un tratamiento personalizado para cada paciente y así obtener respuesta óptima a la estimulación ovárica controlada.

Ha sido documentado que mujeres, tanto ovulatorias como anovulatorias, con genotipo homocigoto SS del polimorfismo N680S tienen niveles de FSH basal mayores que los genotipos NS y NN; y que con respecto a la respuesta ovárica, se relacionan también con una peor respuesta (respuesta baja). Por lo tanto, el genotipo SS se relaciona con una leve resistencia a las gonadotropinas exógenas y que, por ello, las pacientes con este genotipo necesitarían dosis mayores de gonadotropinas para lograr una buena respuesta a la estimulación.

Respecto a la reserva ovárica funcional, estudios investigaron si los polimorfismos tenían relación con esta y para ello observaron los valores de hormona antimülleriana y de folículos antrales (indicadores de la reserva ovárica) en relación con los distintos genotipos. No se encontraron evidencias de que los polimorfismos del gen de *FSHR* alteren los niveles de AMH ni AFC.

Asimismo, existen discrepancias respecto a la relación entre los polimorfismos del gen *FSHR* y la respuesta ovárica a la estimulación controlada con gonadotropinas. Respecto al polimorfismo N680S algunos estudios sugieren que las pacientes con genotipo SS se relacionan con una respuesta más baja, debido a menor número de ovocitos recuperados y a niveles menores de estradiol el día de la administración de hCG. Por lo que se piensa que el genotipo SS es más resistente (menos sensible) a la acción de la FSH, algunos estudios dicen que aumentando la dosis administrada de FSH en el grupo SS se puede superar esta resistencia pero otro estudio no coincide con esto. Para el polimorfismo -29 G/A, un estudio concluyó que el genotipo AA necesitan mayores dosis de FSH, ya que el nivel de estradiol y los ovocitos recuperados

eran menores, sin embargo otro estudio no encontró diferencias significativas entre los distintos genotipos.

Estas discrepancias entre los estudios pueden deberse al pequeño tamaño muestral, a las diferentes etnias estudiadas, a la heterogeneidad de la población de estudio.

Con respecto a si los polimorfismos del gen FSHR podrían servir para determinar qué tipo de gonadotropina es la más adecuada para cada paciente podemos concluir que, dado el pequeño tamaño muestral del único estudio publicado (20) se necesitaría más estudios que confirmen la asociación entre el genotipo y la gonadotropina más adecuada.



7. CONCLUSIÓN

En definitiva, teniendo en cuenta toda la información recogida y analizada, la pregunta es: ¿pueden estos polimorfismos utilizarse en la clínica como marcadores predictivos de la respuesta ovárica?

Con los conocimientos actuales, no existe suficiente evidencia que apoye que los polimorfismos del gen *FSHR* puedan ser usados como marcadores farmacogenéticos para predecir la respuesta a la estimulación ovárica controlada y así poder optimizar los protocolos a usar.

Son necesarios más estudios que consideren el uso de otros polimorfismos junto con marcadores como la edad, los hábitos de vida e indicadores bioquímicos y ecográficos para así lograr el diseño de tratamientos personalizados. Ya que parece que un único marcador no va a ser suficiente para predecir un proceso tan complejo como la estimulación ovárica.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Loutradis D, Vlismas A, Drakakis P, Antsaklis A. Pharmacogenetics in Ovarian Stimulation—Current Concepts.
2. Lledo B, Guerrero J, Turienzo A, Ortiz JA, Morales R, Ten J, et al. Effect of follicle-stimulating hormone receptor N680S polymorphism on the efficacy of follicle-stimulating hormone stimulation on donor ovarian response. *Pharmacogenet Genomics*. 2013;23(5):262–8.
3. Gómez AI. La Medicina Genómica Un Cambio De Paradigma De La Medicina Moderna Retos Para La Bioética Y El Derecho. *Rev Latinoam Bioética*. 2011;11(2):72–85.
4. La medicina de precisión como estrategia _ Revista de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular _ SEEBM.
5. Ortiz Movilla R, Acevedo Martín B. Reproducción asistida y salud infantil. *Pediatr Aten Primaria*. 2010;12(48):651–71.
6. Salvador Z. Técnicas de reproducción asistida. Reproducción asistida ORG.
7. Reus R. La inseminación artificial (IA). Reproducción asistida ORG. 2017.
8. Salvador Z. La fecundación in vitro (FIV). Reproducción asistida ORG. 2017.
9. Salgado S. ¿Qué es la estimulación ovárica? Reproducción asistida ORG2. 2017.
10. Morón FJ, Ruiz A. Pharmacogenetics of controlled ovarian hyperstimulation: time to corroborate the clinical utility of FSH receptor genetic markers. *Pharmacogenomics* [Internet]. 2010;11(11):1613–8. Available from: <http://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/pgs.10.156>
11. Mohiyiddeen L, Nardo LG. Single-nucleotide polymorphisms in the FSH

- receptor gene and ovarian performance: Future role in IVF. *Hum Fertil*. 2010;13(2):72–8.
12. Laan M. Europe PMC Funders Group Pharmacogenetics of FSH action. 2012;1–15.
 13. Allegra A, Marino A, Raimondo S, Maiorana A, Gullo S, Scaglione P, et al. The carriers of the A/G-G/G allelic combination of the c.2039 A>G and c.-29 G>A FSH receptor polymorphisms retrieve the highest number of oocytes in IVF/ICSI cycles. *J Assist Reprod Genet [Internet]. Journal of Assisted Reproduction and Genetics*; 2017;34(2):263–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-016-0835-9>
 14. Mayorga MP. Ovarian Response to Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Stimulation Depends on the FSH Receptor Genotype. *J Clin Endocrinol Metab [Internet]*. 2000;85(9):3365–9. Available from: <http://press.endocrine.org/doi/10.1210/jcem.85.9.6789>
 15. Mohiyiddeen L, Newman WG, McBurney H, Mulugeta B, Roberts SA, Nardo LG. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphisms are not associated with ovarian reserve markers. *Fertil Steril [Internet]. Elsevier Inc.*; 2012;97(3):677–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.12.040>
 16. Huang X, Li L, Hong L, Zhou W, Shi H, Zhang H, et al. The Ser680Asn polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is associated with the ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82(4):577–83.
 17. Desai SS, Achrekar SK, Pathak BR, Desai SK, Mangoli VS, Mangoli R V., et al. Follicle-Stimulating Hormone Receptor Polymorphism (G⁻²⁹ A) Is Associated with Altered Level of Receptor Expression in Granulosa Cells. *J Clin Endocrinol Metab [Internet]*. 2011;96(9):2805–12. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2011-1064>
 18. 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. 2013;99(4).

19. Tohlob D, Abo Hashem E, Ghareeb N, Ghanem M, Elfarahaty R, Byers H, et al. Association of a promoter polymorphism in FSHR with ovarian reserve and response to ovarian stimulation in women undergoing assisted reproductive treatment. *Reprod Biomed Online* [Internet]. Elsevier Ltd; 2016;33(3):391–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2016.06.001>
20. Lledó B, Dapena P, Ortiz JA, Morales R, Llacer J, Bernabeu R. Clinical efficacy of recombinant versus highly purified follicle-stimulating hormone according to follicle-stimulating hormone receptor genotype. *Pharmacogenet Genomics*. Alicante; 2016;26(6):6.
21. Gashi Z, Elezaj S, Zeqiraj A, Grabanica D, Shabani I, Gruda B, et al. Relationship Between Genotype Variants Follicle-stimulating Hormone Receptor Gene Polymorphisms (FSHR) and Morphology of Oocytes Prior to ICSI Procedures. *Med Arch* [Internet]. 2016;70(5):364. Available from: <http://www.scopemed.org/fulltextpdf.php?mno=247074>
22. Achrekar SK, Modi DN, Desai SK, Mangoli VS, Mangoli RV, Mahale SD. Follicle- stimulating hormone receptor polymorphism (Thr307Ala) is associated with variable ovarian response and ovarian hyperstimulation syndrome in Indian women. *Fertil Steril* 2009;91:432–9.