

MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA ĐA HÌNH GEN THỤ THỂ FSH VÀ ĐÁP ỨNG KÍCH THÍCH BUỒNG TRỨNG CẬN TỐI ƯU TRÊN NHÓM PHỤ NỮ THỰC HIỆN IVF TẠI VIỆT NAM

Mã Phạm Quế Mai⁽¹⁾, Lê Long Hồ⁽²⁾, Phạm Thiệu Quân⁽¹⁾, Hồ Mạnh Tường^(1,2), Vương Thị Ngọc Lan^(1,2,3)
(1) Trung tâm nghiên cứu HOPE, Bệnh viện Mỹ Đức, (2) Bệnh viện Mỹ Đức, (3) Đại học Y Dược TP.HCM

DOI 10.46755/vjog.2019.1.598

1. Đặt vấn đề

Sự kích thích buồng trứng có kiểm soát (Controlled Ovarian Stimulation – COS) cho từng cá thể ngày càng chứng minh hiệu quả, giúp cho người nữ hiếm muộn có nhiều cơ hội thành công với những rủi ro tối thiểu sau khi điều trị IVF. Tuy nhiên, trong khi nhóm đáp ứng kích thích buồng trứng kém đã được xác định (1), thì cho đến nay vẫn chưa có một nghiên cứu mang tính hệ thống nào được thực hiện để xác định ngưỡng phát hiện cho một người có đáp ứng bình thường. Do đó, những bệnh nhân không đáp ứng kém mà cũng không đáp ứng quá cao thì được xem là đáp ứng bình thường, và thường có khoảng từ 4 đến 15 noãn. Tuy nhiên, nhóm bệnh nhân này không đại diện cho một quần thể đồng nhất, bởi có sự khác biệt đáng kể đối với khả năng mang thai và trẻ sinh sống; đồng thời, các nghiên cứu chỉ ra rằng số lượng noãn tối ưu để tối đa hóa tỷ lệ có thai là từ 10 đến 15 noãn (2). Vì vậy, một tỷ lệ đáng kể những bệnh nhân nữ hiện đang được xếp vào nhóm “đáp ứng bình thường” (normoresponders) nhưng có số lượng noãn không nằm trong giới hạn tối ưu từ 10-15 noãn, thì được xếp loại là nhóm đáp ứng cận tối ưu (suboptimal responders) (3).

Nhóm đáp ứng cận tối ưu với lượng noãn thu nhận từ 4-9 noãn chiếm tỷ lệ 40% các trường hợp vô sinh nữ và được xem là nhóm đối tượng cần quan tâm, bởi nhận biết được nhóm bệnh nhân này và kết hợp tối ưu trong chỉ định điều trị kích thích buồng trứng cho những chu kỳ kế tiếp có thể làm tăng đáng kể tỷ lệ sinh sống tích lũy của họ(4). Trong nỗ lực nhận biết nhóm bệnh nhân này, nguyên nhân dẫn đến việc đáp ứng cận tối ưu do các biến đổi về mặt di truyền được quan tâm, có thể giải thích cho sự nhạy cảm với việc kích thích buồng trứng và sự đáp ứng cận tối ưu trong quần thể này. Một số nghiên cứu đã chứng minh vai vị trí đặc biệt của các đa hình đơn nucleotide (single nucleotide polymorphisms – SNPs) trên gen mã hóa thụ thể hormone kích thích nang noãn (FSHR) hoặc gen mã hóa tiểu đơn vị β của hormone LH có liên quan đến sự thay đổi của việc

Tác giả liên hệ (Corresponding author):
Mã Phạm Quế Mai,
email: maphamquemaib6@gmail.com
Ngày nhận bài (received): 10/05/2019
Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised):
10/07/2019
Ngày bài báo được chấp nhận đăng
(accepted): 01/09/2019

đáp ứng kích thích buồng trứng (5). Vì vậy, người nữ thuộc nhóm đáp ứng cận tối ưu có thể mang một trong những đa hình nucleotide nêu trên và cần liều gonadotropin cao hơn hoặc kích thích kéo dài, khác với dự đoán đáp ứng kích thích của họ dựa vào những dấu hiệu dự trữ buồng trứng.

Có hàng trăm biến thể (variants) hoặc vị trí đa hình đơn nucleotide phổ biến trên gen mã hóa FSHR đã được xác định. Trong đó, amino acid biến đổi nằm trên exon 10 tại vị trí 680 từ Asparagine thành Serine (p.Asn680Ser) cho thấy có thể có liên quan đến sự suy giảm chức năng buồng trứng và ảnh hưởng đến hiệu quả của việc kích thích buồng trứng có kiểm soát đối với người nữ có chức năng buồng trứng bình thường (6). Hầu hết các nghiên cứu về vai trò của tính đa hình di truyền FSHR cho thấy trường hợp đồng hợp tử của biến thể Serine tại cùng vị trí 680 ở những bệnh nhân nữ có nồng độ FSH ban đầu cao hơn (7). Tuy nhiên, kết quả từ những nghiên cứu có sự mâu thuẫn, và sự phân tích tổng hợp các nghiên cứu trước đây thất bại trong việc khẳng định mối liên quan giữa tính đa hình Asn680Ser của gen FSHR với kết quả điều trị trong trường hợp quá kích buồng trứng có kiểm soát, nguyên nhân có thể là do cỡ mẫu không đủ lớn và quần thể dị hợp tử khá cao trong các nghiên cứu này (8). Thêm vào đó, từ việc nhìn nhận nhóm đáp ứng buồng trứng cận tối ưu có thể liên quan đến một sự biến đổi di truyền, chúng ta có thể có cái nhìn khác về các xét nghiệm dự đoán khả năng dự trữ buồng trứng, các xét nghiệm này chỉ có thể dự đoán khả năng dự trữ buồng trứng mà không đánh giá được sự nhạy của buồng trứng khi đáp ứng với kích thích (9).

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá mối tương quan giữa tính đa hình gen FSHR và sự đáp ứng kích thích buồng trứng cận tối ưu trên nhóm phụ nữ thực hiện thụ tinh trong ống nghiệm (In vitro fertilization - IVF). Thông qua một phương pháp nghiên cứu đáng tin cậy bởi việc sử dụng cùng một phác đồ kích thích buồng trứng cho cùng nhóm đối tượng được dự đoán là có đáp ứng bình thường, nghiên cứu hướng đến việc có thể xác định tần suất kiểu gen mã hóa FSHR trên quần thể bệnh nhân nữ hiếm muộn tại Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Đây là một nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu được thực hiện từ tháng 12/2016 đến tháng 07/2018. Tư vấn bệnh và thu nhận mẫu máu tại IVFMD, Đơn vị Hỗ trợ sinh sản, bệnh viện Mỹ Đức, Hồ Chí Minh. Mẫu máu sau thu nhận được phân tích di truyền tại Trung tâm nghiên cứu HOPE, bệnh viện Mỹ Đức.

Đối tượng nghiên cứu

Tổng cộng có 200 bệnh nhân ký đồng thuận tham gia vào nghiên cứu. Bệnh nhân nữ điều trị hiếm muộn tại bệnh viện Mỹ Đức tuổi từ 18-36, có chỉ số BMI khoảng 18-25kg/m², thực hiện chu kỳ kích thích buồng trứng lần đầu cho IVF/ICSI và được chỉ định điều trị kích thích buồng trứng với liều 150 IU rFSH kết hợp phác đồ GnRH antagonist. Và các chỉ số dự trữ buồng trứng nằm trong ngưỡng bình thường (1,1 ng/ml ≤ AMH ≤ 4ng/ml và 9 ≤ AFC ≤ 20). Bệnh nhân có một trong các tiêu chí sau như hội chứng PCOS theo tiêu chuẩn Rotterdam, có chỉ định IVM hoặc bất thường nội tiết sẽ bị loại khỏi nghiên cứu.

Phác đồ kích thích buồng trứng

Vào ngày thứ 2 hoặc thứ 3 của chu kỳ kinh nguyệt, tất cả bệnh nhân đều nhận liều tiêm recFSH 150IU/ ngày trong suốt phác đồ. Từ ngày thứ 5 của phác đồ, liều tiêm GnRH antagonist 0.25mg/ ngày bắt đầu. Ngay khi có ít nhất 3 nang noãn đạt ≥ 17 mm, liều tiêm hCG 5000IU được sử dụng cho đạt trưởng thành noãn.

Phân tích đa hình gen

Sau tiêm hCG 36 giờ, vào ngày chọc hút, mỗi bệnh nhân sẽ được thu 1,5ml máu tĩnh mạch vào ống chứa chất chống đông EDTA cho phân tích tính đa hình gen FSHR.

Sau đó DNA bộ gen được tách chiết bởi DNeasy blood and tissue extraction kit (Qiagen). Kiểu gen của gen mã hóa FSHR được phân tích bằng kỹ thuật qPCR và bộ mẫu dò thương mại TaqMan Genotyping assays (Life Technologies) cho vị trí đa hình đơn gen p.Asn680Ser (rs6166, C_2676874_10).

Phân tích số liệu

Để phân loại nhóm đối tượng bệnh nhân trong nghiên cứu và lựa chọn kết quả để phân tích, phân

tích thống kê sẽ dựa trên phân loại nhóm đối tượng đáp ứng kích thích buồng trứng, phản ánh bởi số lượng noãn chọc hút được. Các biến liên tục sẽ được mô tả như trung bình, độ lệch chuẩn, trung vị, phương sai. Sử dụng so sánh Kruskal-Wallis cho các biến liên tục phụ thuộc vào sự phân phối chuẩn của kết quả, và kiểm định chi bình phương sẽ dùng phân tích các nhóm biến.

3. Kết quả

Dữ liệu của bệnh nhân được thu nhận vào nghiên cứu

Trong nghiên cứu, từ tháng 12/2016 đến tháng 07/2018, tổng cộng có 200 bệnh nhân nữ điều trị thụ tinh trong ống nghiệm được tư vấn và đồng ý ký vào bảng đồng thuận tham gia nghiên cứu. Đặc điểm nền bệnh nhân ghi nhận tất cả các tiêu chuẩn đều thỏa với tiêu chuẩn nhận và loại của nghiên cứu đề ra. Trong đó, tuổi trung bình của bệnh nhân khoảng $29,9 \pm 3,6$ tuổi với chỉ số BMI trung bình $20,4 \pm 2,0$ kg/m². Các chỉ số dự trữ của nhóm bệnh nhân này đều nằm trong ngưỡng bình thường như AMH $4,2 \pm 2,1$ ng/ml và AFC là $19,3 \pm 20,1$. Số noãn chọc hút được trung bình là $13,7 \pm 6,2$ noãn. Dựa trên số noãn chọc hút được, trong tổng 200 bệnh nhân này được phân loại thành 4 nhóm bệnh nhân theo khả năng đáp ứng kích thích buồng trứng, trong đó nhóm đáp ứng cận tối ưu (4-9 noãn) có 44 bệnh nhân (chiếm 22%) (Bảng 1).

Tần suất kiểu gen FSHR tại vị trí SNP rs6166 trong nhóm bệnh nhân thực hiện IVF tại Việt Nam

Tại vị trí SNP rs6166, sự thay đổi trình tự amino axit từ Asparagine (Asn) thành Serine (Ser) tại vị trí 680 làm thay đổi cấu trúc FSHR trên màng tế bào, ảnh hưởng đến sự tương tác với FSH và các con đường truyền tín hiệu sử dụng FSH cho việc phát triển nang noãn. Trong nhóm 200 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, kết quả ghi nhận được tần suất xuất hiện kiểu gen FSHR tại vị trí p.Asn680Ser gồm 45,5% đồng hợp tử Asn/Asn, 45,0% dị hợp tử Asn/Ser và 9,5% đồng hợp tử Ser/Ser (Biểu đồ 1). Đây là nghiên cứu đầu tiên thực hiện đánh giá tần suất kiểu gen FSHR tại Việt Nam.

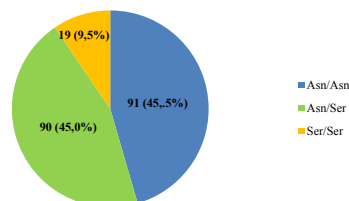
Khi tiến hành phân tích đặc điểm nền của 3 nhóm kiểu gen FSHR tại vị trí rs6166, kết quả cho

Bảng 1: Dữ liệu của bệnh nhân được thu nhận vào nghiên cứu

| Đặc điểm (n= 200) | Trung bình ± độ lệch chuẩn |
|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Tuổi bệnh nhân (năm) | 29,9 ± 3,6 |
| BMI (kg/m ²) | 20,4 ± 2,0 |
| AMH (ng/ml) | 4,2 ± 2,1 |
| AFC | 19,3 ± 20,1 |
| Thời gian kích thích (ngày) | 8,9 ± 1,3 |
| Tổng liều FSH sử dụng (IU) | 1449,8 ± 433,6 |
| Số noãn thu được khi chọc hút (noãn) | 13,7 ± 6,2 |
| Tổng bệnh nhân thuộc từng nhóm đáp ứng nhóm đáp ứng cận tối ưu (người:%) | |
| Nhóm đáp ứng kém (0-3 noãn) | 6 (3%) |
| Nhóm đáp ứng cận tối ưu (4-9 noãn) | 44 (22%) |
| Nhóm đáp ứng bình thường (10-15 noãn) | 85 (42,5%) |
| Nhóm đáp ứng cao (trên 15 noãn) | 65 (32,5%) |

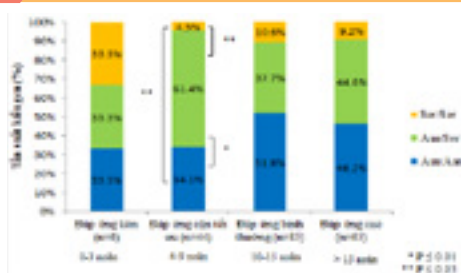
Bảng 2: So sánh đặc điểm nền của của bệnh nhân trong nghiên cứu giữa các kiểu gen FSHR tại vị trí SNP rs6166

| Đặc điểm (n= 200) | Asn/Asn (n=91) | Asn/Ser (n=90) | Ser/Ser (n=19) | P-value |
|--------------------------------------|----------------|----------------|----------------|---------|
| Tuổi bệnh nhân (năm) | 29,9 ± 3,7 | 29,9 ± 3,6 | 29,6 ± 3,2 | 0,93 |
| BMI (kg/m ²) | 20,4 ± 2,0 | 20,3 ± 1,9 | 21,4 ± 2,8 | 0,42 |
| AMH (ng/ml) | 4,2 ± 1,9 | 4,3 ± 2,3 | 3,5 ± 1,8 | 0,29 |
| AFC | 20,2 ± 20,5 | 19,1 ± 21,5 | 15,4 ± 4,3 | 0,66 |
| Thời gian kích thích (ngày) | 8,7 ± 1,2 | 9,0 ± 1,3 | 9,0 ± 1,6 | 0,34 |
| Tổng liều FSH sử dụng (IU) | 1402,8 ± 384,3 | 1483,3 ± 458,9 | 1515,8 ± 526,5 | 0,36 |
| Số noãn thu được khi chọc hút (noãn) | 14,3 ± 6,6 | 13,1 ± 5,9 | 13,2 ± 5,7 | 0,38 |



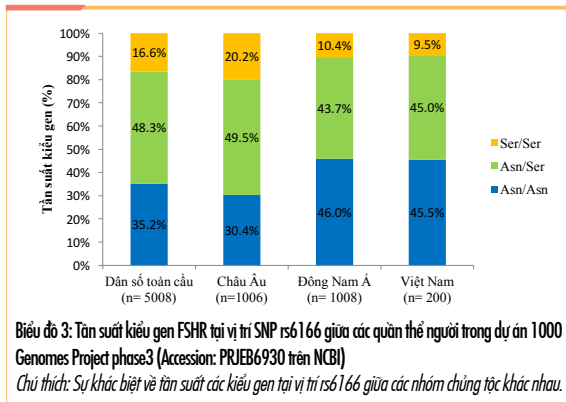
Biểu đồ 1: Tần suất kiểu gen FSHR tại vị trí SNP rs6166 trong nhóm bệnh nhân thực hiện IVF tại Việt Nam

Chú thích: Tần suất kiểu gen FSHR tại vị trí SNP rs6166 gồm đồng hợp tử Asn/Asn (45,5%), dị hợp tử Asn/Ser (45,0%) và đồng hợp tử Ser/Ser (9,5%)



Biểu đồ 2: Sự tương quan giữa đa hình gen FSHR tại vị trí SNPs rs6166 và sự đáp ứng kích thích buồng trứng

Chú thích: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 3 nhóm kiểu gen FSHR tại vị trí SNP rs6166 trong nhóm đáp ứng cận tối ưu (4-9 noãn).



thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 3 nhóm kiểu gen Asn/Asn, Asn/Ser và Ser/Ser trong 200 bệnh nhân (Bảng 2).

Sự tương quan giữa đa hình gen FSHR tại vị trí SNPs rs6166 và sự đáp ứng kích thích buồng trứng

Nhóm đáp ứng cận tối (4-9 noãn chọc hút) ưu ghi nhận có 44 bệnh nhân (22%). Kết quả phân tích tần suất kiểu gen FSHR tại vị trí p.Asn680Ser gồm 34,1% đồng hợp tử Asn/Asn, 61,4% dị hợp tử Asn/Ser và 4,5% đồng hợp tử Ser/Ser. Tỷ lệ dị hợp tử Asn/Ser cho thấy có sự xuất hiện cao hơn với hai kiểu gen còn lại ở nhóm đáp ứng cận tối. Sự khác biệt này ghi nhận có ý nghĩa thống kê; trong đó, khi phân tích so sánh cho từng cặp kiểu gen đều thấy có sự khác biệt có ý nghĩa (Biểu đồ 2).

Kết quả không ghi nhận sự khác biệt về kiểu gen FSHR vị trí SNP rs6166 cho nhóm đáp ứng kém (0-3 noãn) bởi số bệnh nhân nhóm này trong nghiên cứu quá ít, chỉ có 6 bệnh nhân. Ở hai nhóm đáp ứng bình thường và đáp ứng cao, nhóm bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp tử Asn/Asn có xu hướng cao hơn ở hai nhóm kiểu gen còn lại, lần lượt là 58,4% Asn/Asn ở nhóm đáp ứng bình thường (10-15 noãn) và 46,2% Asn/Asn ở nhóm đáp ứng cao (> 15 noãn) (Biểu đồ 2).

4. Thảo luận

Trong kỹ thuật thụ tinh trong ống nghiệm, kích thích buồng trứng luôn là bước quan trọng trong phác đồ điều trị hiếm muộn. Việc kích thích buồng trứng liên quan đến sử dụng gonadotropin như FSH nhằm kích thích sự phát triển các nang noãn nhờ vào sự tương tác giữa FSH và FSHR. Một vài

nghiên cứu trước đó cho thấy tính đa hình gen mã hóa FSHR có ảnh hưởng đến đáp ứng kích thích buồng trứng của từng cá thể. Từ việc có thể xác định kiểu gen FSHR nào ảnh hưởng đến tỷ lệ đáp ứng buồng trứng sẽ giúp cho chiến lược sử dụng thuốc kích thích đúng liều cho từng cá thể, giúp cải thiện chất lượng điều trị (10).

FSHR thuộc nhóm thụ thể cặp protein G, nằm trên màng tế bào granulosa trong nang noãn, tương tác gắn với FSH. Trên cơ sở dữ liệu của dự án HapMap Database (<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>) gần đây cho thấy có khoảng 900 SNPs đã được phát hiện trên gen FSHR. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu trước đây tập trung vào 4 vị trí SNPs gồm 2 SNPs rs6166 (p.Asn680Ser), rs6165 (p.Ala307Thr) nằm trên exon 10 của gen FSHR và 2 SNPs khác là rs1394205 (c.-29G>A), rs10385683 (c/-211G>T) nằm trên vùng promoter của gen FSHR. Trong đó, vị trí rs6166 cho thấy có thể là một biomarker dự đoán khả năng đáp ứng kích thích buồng trứng; đồng thời, các vị trí SNPs này có khả năng tác động kết hợp với nhau (11). Sau khi phân tích meta-analysis gần đây trên 16 nghiên cứu cohort cho 4287 bệnh nhân, nhóm tác giả đánh giá vị trí SNPs rs6166 (p.Asn680Ser) có thể là một chỉ thị di truyền tiềm năng cho việc dự đoán khả năng đáp ứng kích thích buồng trứng cho nhóm bệnh nhân Châu Á (12).

Trong một nghiên cứu meta-analysis vào năm 2014 của Pabalan và cộng sự, kết quả cho thấy các nghiên cứu trước đó đều chỉ ra kiểu gen đồng hợp tử Ser có liên quan đến đáp ứng kích thích buồng trứng kém (8). Tuy nhiên, dữ liệu nghiên cứu mới liên quan giữa tính đa hình gen FSHR với nhóm đáp ứng cận tối ưu vẫn còn hạn chế. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi có thể xem là kết quả đầu tiên nhằm đánh giá tần suất kiểu gen FSHR tại vị trí rs6166 trên người Việt Nam, cũng như đánh giá ảnh hưởng của tính đa hình gen FSHR trên nhóm đối tượng thực hiện IVF có đáp ứng buồng trứng cận tối ưu. Điều này có thể là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm phát hiện các biến thể di truyền là các biomarker tiềm năng liên quan đến các bệnh lý hoặc nguyên nhân ảnh hưởng đến kết cục điều trị trong lĩnh vực hỗ trợ sinh sản.

Kết quả tần suất kiểu gen FSHR vị trí rs6166 trong 200 bệnh nhân tham gia nghiên cứu cũng cho thấy sự tương đồng với kết quả trong dự án 1000 Genomes Project phase3 (Accession: PRJEB6930 trên NCBI). Trong dự án này, cho thấy có sự khác biệt về tần suất các kiểu gen tại vị trí rs6166 giữa các nhóm chủng tộc khác nhau. Điều thú vị là tỷ lệ đồng hợp tử Ser ở quần thể người Đông Nam Á thấp hơn so với quần thể người Châu Âu (10,4% so với 20,2%). Bên cạnh đó, kiểu gen đồng hợp tử Ser chiếm tỷ lệ thấp nhất trong quần thể người Việt Nam (4,5%) và ở người Đông Nam Á (10,4%). Điều này cho thấy tần suất kiểu gen vị

trí rs6166 ở người Việt Nam cũng khá tương đồng với nhóm quần thể người Đông Nam Á (Biểu đồ 3).

5. Kết luận

Tần suất tính đa hình gen thị thể của vị trí rs6166 (p.Asn680Ser) trong nhóm bệnh nhân làm IVF của nghiên cứu này gồm 45% đồng hợp tử Asn (wild-type), 45,4% dị hợp tử Asn/Ser và 9,5% đồng hợp tử Ser. Bên cạnh đó, bệnh nhân có kiểu gen dị hợp tử Asn/Ser có tỷ lệ cao nhất trong nhóm đáp ứng buồng trứng cận tối ưu, theo sau là đồng hợp Asn/Asn và Ser/Ser.

Tài liệu tham khảo

1. Ferraretti A, La Marca A, Fauser B, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Human reproduction*. 2011;26(7):1616-24.
2. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Human reproduction*. 2011;26(7):1768-74.
3. Polyzos N, Sunkara S. Sub-optimal responders following controlled ovarian stimulation: an overlooked group? *Human Reproduction*. 2015;30(9):2005-8.
4. Drakopoulos P, Blockeel C, Stoop D, Camus M, de Vos M, Tournaye H, et al. Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos? *Human reproduction*. 2016;31(2):370-6.
5. Alviggi C, Pettersson K, Longobardi S, Andersen CY, Conforti A, De Rosa P, et al. A common polymorphic allele of the LH beta-subunit gene is associated with higher exogenous FSH consumption during controlled ovarian stimulation for assisted reproductive technology. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2013;11(1):51.
6. Simoni M, Tempfer C, Destenaves B, Fauser B. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part I: Polycystic ovary syndrome and ovarian response. *Human reproduction update*. 2008;14(5):459-84.
7. Yao Y, Ma C-h, Tang H-l, Hu Y-f. Influence of follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) Ser680Asn polymorphism on ovarian function and in-vitro fertilization outcome: a meta-analysis. *Molecular genetics and metabolism*. 2011;103(4):388-93.
8. Pabalan N, Trevisan CM, Peluso C, Jarjanazi H, Christofolini DM, Barbosa CP, et al. Evaluating influence of the genotypes in the follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) Ser680Asn (rs6166) polymorphism on poor and hyper-responders to ovarian stimulation: a meta-analysis. *Journal of ovarian research*. 2014;7(1):285.
9. 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. *Fertility and sterility*. 2012;97(3):677-81.
10. Wunsch A, Sonntag B, Simoni M, editors. Polymorphism of the FSH receptor and ovarian response to FSH. *Annales d'endocrinologie*; 2007: Elsevier.
11. Simoni M, Casarini L. Mechanisms in endocrinology: genetics of FSH action: a 2014-and-beyond view. *European journal of endocrinology*. 2014;170(3):R91-R107.
12. Tang H, Yan Y, Wang T, Zhang T, Shi W, Fan R, et al. Effect of follicle-stimulating hormone receptor Asn680Ser polymorphism on the outcomes of controlled ovarian hyperstimulation: an updated meta-analysis of 16 cohort studies. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2015;32(12):1801-10.