

Прогнозирование исходов программ вспомогательных репродуктивных технологий с использованием молекулярно-генетических маркеров

И.В.Владимирова, Е.А.Калинина, А.Е.Донников

ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава России, Москва

Резюме

Вариабельность овариального ответа среди пациенток в программах экстракорпорального оплодотворения исключает возможность единого подхода к стимуляции функции яичников. Генетический скрининг может позволить прогнозировать исходы стимуляции супер-овуляции, индивидуализировать тем самым терапию бесплодия. Цель исследования – поиск молекулярно-генетических предикторов особенностей фолликулогенеза, оогенеза, эмбриогенеза в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: полиморфизм генов, молекулярно-генетические предикторы, бесплодие, ЭКО, овариальный ответ.

Genetic predictors of outcomes of assisted reproductive technology

IV.Vladimirova, EA.Kalinina, AE.Donnikov

Summary

Variability in the subfertile patient population excludes the possibility of a single approach to controlled ovarian stimulation. Genetic screening may allow an individual patient's response to stimulation during controlled ovarian stimulation to be predicted based on genotype. The objective of the study was to analyze the specific features of folliculogenesis, oogenesis, and embryogenesis in patients in relation to single nucleotide polymorphisms in assisted reproductive technology.

Key words: single-nucleotide polymorphism, genetic predictors, infertility, IVF, ovarian response.

Сведения об авторах

Владимирова Инна Владимировна – аспирант отд-ния вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: i_teterina@orapina4.ru

Калинина Елена Анатольевна – д-р мед. наук, зав. отд-нием вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: e_kalinina@orapina4.ru

Донников Андрей Евгеньевич – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. молекулярно-генетических методов ФГБУ НЦАГиП им. акад. В.И.Кулакова. E-mail: a_donnikov@orapina4.ru

Согласно определению Всемирной организации здравоохранения, бесплодие – неспособность к зачатию спустя 12 мес регулярной половой жизни без контрацепции [1]. Примерно у 10% супружеских пар существуют проблемы с наступлением беременности естественным путем, более 80 млн пар по всему миру страдают бесплодием и прибегают к лечению методом вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [2]. Наиболее успешной и часто используемой методикой ВРТ является экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), сложный и многоэтапный процесс, каждый шаг которого имеет решающее значение для успешного исхода программы в целом [3]. Одним из таких этапов является стимуляция суперовуляции, главная цель которой состоит в получении оптимального количества зрелых ооцитов, что позволило бы выбрать наиболее качественный эмбрион для переноса в полость матки [4]. В среднем аспирация 8–10 ооцитов (по последним публикациям – до 15) рассматривается как наиболее успешный результат стимуляции функции яичников [5].

Тем не менее овариальный ответ (ОО) широко варьирует среди пациенток, находящихся в программе ЭКО [6]. Примерно в 9–24% случаев ОО гораздо ниже ожидаемого [6], с другой стороны, непредвиденное развитие гиперответа яичников может привести к такому серьезному осложнению, как синдром гиперстимуляции яичников (СГЯ) [3]. Таким образом, прогнозирование ОО с целью персонализации терапии представляет большой клинический интерес.

Предложены различные прогностические маркеры исходов стимуляции функции яичников, такие как: возраст, овариальный резерв, гормональный статус, курение и др. Кроме того, генетическая изменчивость также представляется важным фактором. Хорошо известно о существующей индивидуальной вариабельности ответа на терапию разными лекарственными препаратами [7]. Применение знаний фармакогенетики к ОО может помочь не только

прогнозировать успех стимуляции суперовуляции [8], но и скорректировать дозы вводимых препаратов с целью индивидуализации лечения.

В геноме человека идентифицированы более 10 млн однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) [9]. Влияние полиморфизмов генов на исходы стимуляции функции яичников в программе ЭКО анализировалось многими группами исследователей, но фармакогенетический подход в отношении дозирования препаратов фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) не до конца разработан. Большинство исследований сосредоточены на полиморфизме гена рецептора ФСГ (FSHR) [10], влиянии изменчивости разных биохимических путей, участвующих в синтезе эстрогенов (гены эстрогеновых рецепторов – ESR), фолликулогенезе и некоторых других маркерах (см. таблицу) [10].

Полиморфизм гена FSHR

ФСГ является ключевым гормоном в репродукции человека. ФСГ и его рецептор (FSHR) играют важную роль в фолликуло- и стероидогенезе [24]. Ген FSHR локализуется на участке хромосомы 2p21 и состоит из 10 экзонов [18]. В гене FSHR идентифицировано почти 1 тыс. SNP. Два полиморфизма, расположенные в кодонах 307 [rs6165] и 680 [rs6166], ассоциированы с ОО; rs6165 приводит к аминокислотной замене Thr307Ala (треонин – Т может быть заменен аланином – А в положении 307) во внеклеточном домене белка (гормонсвязывающей области), а rs6166 – к аминокислотной замене Asn680Ser во внутриклеточном (серин – S на аспарагин – N в позиции 680) [18]. Эти полиморфизмы в основном исследуются с целью оценки реакции рецепторов на стимуляцию препаратами ФСГ. Хотя и есть некоторые несоответствия [14], существует достаточно доказательств того, что полиморфизм N680S способен прогнозировать ОО на стимуляцию препаратами ФСГ у

| Ассоциация полиморфизма генов с исходами программ ВРТ | | | | |
|---|--------------------------|------------|--|--|
| Ген | Локализация на хромосоме | Номер rs | Замена белка или кодирующей последовательности | Основные гипотезы проведенных исследований по изучению ассоциации полиморфизма генов с исходами программ ВРТ |
| FSHR | 2p21 | rs6166 | N680S | При носительстве аллеля 680S требуются более высокие дозы препарата ФСГ при стимуляции суперовуляции [11–14] |
| | | rs1394205 | -29G/A | Женщины с генотипом -29A/A нуждаются в более высоких дозах препарата ФСГ, у них отмечен более низкий уровень эстрадиола, они продуцируют меньшее число фолликулов и ооцитов [15, 16] |
| LHB | 11p13 | rs1800447 | W8R | Женщинам с генотипом W8R [rs1800447] и I15T [rs3439826] требуется введение повышенных доз препарата ФСГ; отмечается аспирация малого количества ооцитов [17, 18] |
| | | rs3439826 | I15T | |
| LHCGR | 2p21 | rs4073366 | 28G>C | Носительство аллеля С ассоциировано с трехкратным повышением риска СГЯ [13, 18, 19] |
| ESR1 | 6q25 | rs2234693 | -397T>C | У носителей генотипа С/С отмечается получение большего количества фолликулов, зрелых ооцитов, эмбрионов хорошего качества [20, 21] |
| | | rs9340799 | -351A>G | У носителей генотипа G/G выше шанс получения большего числа ооцитов и оплодотворения [20, 21] |
| | | rs3138774 | (TA) _n | Длинные повторы (TA) ассоциированы с лучшими исходами стимуляции суперовуляции [20, 21] |
| AMГ | 19p13 | rs10407022 | I49S | Носители аллелей AMГ 49Ser и AMHR2 -482G имеют повышенную чувствительность к препаратам ФСГ [21–23] |
| AMHR2 | 12q13 | rs2002555 | -482A>G | |

Примечание. LHB – ген лютеинизирующего гормона.

пациентов, находящихся в программе ЭКО [11, 25, 26]. Так, чтобы достичь сравнимого (одинакового) пикового уровня эстрадиола, дозы препарата ФСГ, назначаемого при стимуляции суперовуляции, ниже у женщин с генотипом N/N в позиции 680 по сравнению с женщинами – носителями аллеля 680S. Таким образом, при наличии аллеля 680S отмечены снижение чувствительности к гонадотропинам, предрасположенность к «бедному» ОО (БОО) [3]. Уровень эстрадиола, определяемый на момент введения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) у пациенток с генотипом S/S, статистически значимо ниже по сравнению с пациентками с генотипами N/S и N/N. Интересно, что в ходе исследования, выполненного на контрольной группе доноров ооцитов, были получены аналогичные данные [13]. В проведенном Y.Yao и соавт. метаанализе необходимость увеличения вводимых доз гонадотропинов пациенткам с генотипом S/S объясняется изначально более высоким уровнем базального ФСГ [26]. Другие исследования, проведенные на разных популяциях, подтвердили этот вывод [12, 27]. Генотип N/N, в свою очередь, ассоциирован с риском развития СГЯ [3].

Таким образом, ген FSHR является важным фактором, способным прогнозировать исход стимуляции функции яичников, и может дополнить арсенал имеющихся маркеров.

Полиморфизм гена лютеинизирующего гормона

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) – пептидный гормон, секретируемый гонадотропными клетками передней доли гипофиза. Совместно с другим гипофизарным гонадотропином, например ФСГ, ЛГ необходим для нормальной работы репродуктивной системы. ЛГ стимулирует выработку андрогенов, выступающих в роли субстрата для синтеза эстрогенов фолликулами [10].

ЛГ является сложным белком – гетеродимерным гликопротеином. По строению он похож на другие гормоны-гликопротеины – ФСГ, тиреотропный гормон, ХГЧ. ЛГ имеет димерную структуру и состоит из 2 субъединиц – α и β. β-Субъединица ЛГ, которая и определяет биологическое действие гормона, взаимодействует с мембранным рецептором, представлена 121 аминокислотой [28]. Различная структура олигосахаридных фрагментов влияет на биологическую активность и скорость разрушения гормонов [10].

Ген, кодирующий α-субъединицу, локализован на длинном плече хромосомы 6 (6q12.21) [10]. Ген, кодирующий β-субъединицу, локализован на коротком плече хромосомы 11 (11p13) и содержит 3 экзона [10, 28]. В данном гене описано 179 SNP [10]. Было обнаружено 3 функционально значимых полиморфизма в кодирующей области гена, приводящих к снижению активности ЛГ [10]. Замены триптофан–аргинин в позиции 8 (Trp8Arg) [rs1800447] и изо-

лейцин–треонин в позиции 15 (Ile15Thr) [rs3439826] связаны со снижением фертильности [29], бесплодием, ассоциированным с нарушением менструального цикла [10]. Среди пациенток, обратившихся для проведения программы ЭКО, гаплотип 8Arg-15Thr чаще встречался в группе со сниженным ОО на стимуляцию суперовуляции препаратами рекомбинантного ФСГ (рФСГ) или вовсе резистентных даже к высоким дозам препаратов, соответственно, у таких пациенток получали малое количество ооцитов [17].

Авторы сделали вывод, что таким пациенткам целесообразно проводить стимуляцию суперовуляции комбинированными ЛГ-содержащими препаратами, такой подход улучшает исход программ ВРТ и снижает потребность в высоких дозах рФСГ [10].

Полиморфизм гена рецептора ЛГ

Рецептор ЛГ (LHR) является G-белком. Он экспрессируется во многих тканях, включая гонады, матку, фаллопиевы трубы, плаценту [30, 31]. LHR находится на поверхности клеток и путем связывания с лигандами способствует созреванию фолликулов и овуляции. Ген локализован на участке хромосомы 2p21, состоит из 11 экзонов. LHR также известен как LHCGR (Luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor – рецептор ЛГ/ХГЧ), так как ЛГ и ХГЧ связываются с одними и теми же рецепторами (ЛГ и ХГЧ – эндогенные лиганды для рецептора ЛГ) [10, 32]. LHCGR содержит не менее 300 полиморфизмов, некоторые из которых оказывают существенное влияние на половое развитие и фертильность [18]. Так, недавно изученный полиморфизм 28G>C [rs4073366] потенциально способен оказывать влияние на процессинг матричной РНК LHCGR [19]. Носительство аллеля С данного генотипа ассоциировано с трехкратным увеличением риска развития СГЯ [33]. Это интересное открытие, безусловно, требует дальнейших исследований на других популяциях.

Полиморфизм генов ESR

При стимуляции суперовуляции эндогенно продуцируемые эстрогены пролонгируют воздействие препаратов ФСГ на фолликулогенез. Кроме того, эстрогены играют важную роль и в подготовке эндометрия. Эстрогеновые сигналы опосредованы рецепторами, которые в свою очередь кодируются генами ESR1 (локализуется на хромосоме 6q25) и ESR2 (локализуется на хромосоме 14q22). Первый фармакогенетический подход, примененный в программе ЭКО, был сфокусирован на полиморфизме гена ESR1 [3]. Наиболее изучены полиморфизмы гена ESR1 -397T>C [rs2234693] и -351A>G [rs9340799] в интроне 1, повторы (TA)_n [rs3138774] в промоторной области. У пациенток с генотипом С/С полиморфизма гена ESR1 -397T>C отмечается

большее число фолликулов, зрелых ооцитов, эмбрионов хорошего качества [20, 21]. Что касается пациентов с генотипом G/G полиморфизма гена ESR1 -351 A>G, то они так же, как и пациенты, несущие в генотипе длинные повторы (TA), предрасположены к более благоприятным исходам стимуляции суперовуляции, высокому ОО, получению большего количества зрелых ооцитов [20, 21].

При изучении одиночного влияния полиморфизма гена ESR2 1730G>A [rs49866938] на ОО статистически значимых результатов получено не было [20]. Однако другие исследования [4, 34] подтверждают гипотезу, что мультигенные модели, в том числе с ESR2 и другими генами, ассоциированы с исходами стимуляции суперовуляции.

Полиморфизм гена антимюллера гормона и его рецептора

Концентрация антимюллера гормона (АМГ) в сыворотке крови все чаще используется как один из предикторов овариального резерва и ответа на стимуляцию суперовуляции [35]. АМГ оказывает свое влияние посредством рецептора типа 2 (AMHR2). Гены, кодирующие АМГ и AMHR2, локализируются на хромосомах 19p13 и 12q13 соответственно. Изменчивость гена AMH представляет собой интерес и описана в работах M.Kevenaar и соавт. [36]. В исследовании, в которое были включены нормогонадотропные пациентки, полиморфизм AMH 146G>T (I49S) [rs10407022] и AMHR2 -482A>G [rs2002555] ассоциирован с повышенными концентрациями эстрадиола, что косвенно может свидетельствовать о высокой чувствительности к ФСГ. В литературе наблюдается некоторое несоответствие данных о взаимосвязи полиморфизмов с типом ОО, что требует дальнейших исследований.

На базе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия ФГБУ «НЦАГиП им. академика В.И.Кулакова» Минздрава России проведено проспективное исследование, целью которого явился анализ особенностей фолликулогенеза, оогенеза, эмбриогенеза в программах ВРТ в зависимости от полиморфизма генов AMH 146G>T (Ile49Ser) [rs10407022]; AMHR2 (-482A>G) [rs2002555]; ESR1 -397T>C [PvuII] [rs2234693]; ESR1 -351A>G [XbaI] [rs9340799]; FSHR 2039G>A (Ser680Asn) [rs61666]; LHCGR 935A>G (Asn312Ser) [rs2293275]; VEGFA -634G>C [rs2010963]; ESR2 G>A [RsaI] [rs4986938]; LHCGR 872A>G (Asn291Ser) [rs12470652]; SERPINE1 (PAI-1) -675(5G>4G) [rs1799889].

В исследование включены 160 пациенток, разделенных на 3 группы в зависимости от типа ОО на стимуляцию суперовуляции: основная группа (80 пациенток с нормальным ОО – 4–10 фолликулов), 1-я группа сравнения (40 пациенток с БОО – менее 3 фолликулов, согласно Европейскому обществу репродукции человека и эмбриологии – ESHRE, 2011) [37], 2-я группа сравнения (40 пациенток с гиперответом яичников – более 10 фолликулов, согласно Американскому обществу репродуктивной медицины, 2008) [38, 39]. Все пациентки соответствовали критериям включения (возраст 18–36 лет, женское бесплодие трубного происхождения, мужской фактор бесплодия при отсутствии выраженной патозооспермии, регулярный менструальный цикл) и исключения (эндокринный фактор бесплодия, перенесенные оперативные вмешательства на яичниках, эндометриоз, генетические аномалии, пороки развития половых органов и др.). При проведении анализа анамнестических данных, роста-весовых показателей пациенток с разным типом ОО различий выявлено не было. По типу и этиологии бесплодия группы пациенток были сравнимы между собой. При проведении анализа полученных данных выявлены некоторые факторы, учтенные как конфаундеры (во 2-й группе сравнения преобладали пациентки моложе 30 лет, отмечалось удлинение менструального цикла и увеличение продолжительности менструации, в плазме крови уровень ФСГ был ниже, а АМГ – выше по сравнению с пациентками с нормальным ОО и БОО).

Стимуляция суперовуляции проводилась по «короткому» протоколу с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормона со 2–3-го дня менструального цикла с использованием препаратов рФСГ. Эмбрионы классифицировались по морфологическим критериям в соответствии с классифика-

Нео-Пенотран® Форте Л

ЕДИНСТВЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ШИРОКОГО СПЕКТРА ДЕЙСТВИЯ С АНЕСТЕТИКОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВАГИНАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

750 мг МЕТРОНИДАЗОЛ

200 мг МИКОНАЗОЛ

100 мг ЛИДОКАИН

Уникальная комбинация, обеспечивающая*:

Комплектный курс лечения: за 7 дней

Устранение зуда и жжения за несколько минут**

Удобный режим дозирования 1 раз в день

* По данным государственного реестра лекарственных средств от 2014 года

** Инструкция по медицинскому применению препарата



sopharm

Россия, 127006, г. Москва,
ул. Малая Дмитровка, д. 4, этаж 3
Тел.: +7 (495) 937 5608
Факс: +7 (495) 937 5614

РЕКЛАМА

РУ № ЛП 000486

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ

цией, принятой Istanbul consensus workshop on embryo assessment (ESHRE, 2011), – «модифицированной» классификацией D.Gardner [40]. Полиморфизм генов определялся методом полимеразной цепной реакции с анализом кривых плавления модифицированным методом «примыкающих проб» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Исследование было одобрено комитетом по этике ФГБУ «НЦАГиП им. В.И.Кулакова». Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных программ SPSS Statistics 17.0. В качестве меры центральной тенденции количественных признаков была выбрана медиана (Me), а в качестве интервальной оценки – верхний (H) и нижний квартили (L). Результаты представлены в виде Me (L-H). Для оценки значимости межгрупповых различий нескольких независимых выборок использовался тест Крускала–Уоллиса. В случае двух выборок применялся U-критерий Манна–Уитни для несвязанных совокупностей. Оценку соответствия выявленных частот генотипов по закону Харди–Вайнберга проводили по критерию χ^2 в сравнении с ожидаемыми частотами генотипов равновесного распределения. Достоверность различий в частоте встречаемости качественных признаков определяли по критерию χ^2 . Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$. Отношение шансов (ОШ) приведено с 95% доверительным интервалом (ДИ).

При анализе ассоциации полиморфизмов исследуемых генов с типом ОО установлено, что наличие генотипа G/G полиморфизма гена FSHR 2039G>A (Ser680Asn) предрасполагает к гиперответу [χ^2 с поправкой Бонферрони, $p=0,021$; ОШ 3,49 (95% ДИ 1,3–11,6)].

При анализе распределения частоты генотипов исследуемых генов в зависимости от степени зрелости ооцитов выявлена статистически значимая ассоциация генотипа G/G полиморфизма гена LHCGR935 A>G (Asn312Ser) [ОШ 3,41 (95% ДИ 1,05–11,1), $p=0,039$]; генотипа C/C полиморфизма гена VEGFA -634G>C [(ОШ 4,09 (95% ДИ 1,3–11,71), $p=0,040$), генотипа A/A полиморфизма гена AMHR2 -482 A>G [ОШ 2,23 (95% ДИ 1,1–4,3), $p=0,025$]] с получением только незрелых ооцитов.

При анализе ассоциации генотипа пациенток с качеством получаемых эмбрионов установлено, что согласно аутосомно-доминантной модели носительство аллеля G полиморфизма гена ESR1 -351A>G [XBa] более чем в 2 раза повышает риск получения эмбрионов низкого качества класса C [ОШ 2,3 (95% ДИ 1,1–4,6), $p=0,022$].

Таким образом, геном-ассоциированные исследования, направленные на выявление генетических факторов, предрасполагающих не только к тому или иному типу ОО, но и исходам программы ВРТ в целом, являются весьма актуальными. Поиск новых биомаркеров в данной области продолжается. Разработка панели лабораторных тестов, анализирующих мультилокусное взаимодействие разных генов между собой, в перспективе позволит повысить диагностическую и практическую значимость полиморфизмов и даст возможность спрогнозировать исходы программ ВРТ.

Литература

- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. *Hum Reprod* 2009; 24 (11): 2683–7.
- Rosenbluth EM, van Voorbis BJ. Evolving role of assisted reproductive technologies. *Clin Obstet Gynecol* 2011; 54 (4): 734–45.
- Lledo B, Ortiz JA, Llacer J, Bernabeu R. Pharmacogenetics of ovarian response. *Pharmacogenomics* 2014; 15 (6): 885–93.
- Boudjenab R, Molina-Gomes D, Torre A et al. Genetic polymorphisms influence the ovarian response to rFSH stimulation in patients undergoing in vitro fertilization programs with ICSI. *PLoS one* 2012; 7 (6): e38700.
- Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N et al. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod* 2011; 26 (7): 1768–74.
- Oebninger S. Ovulation induction in IVF. *Minerva Ginecol* 2011; 63 (2): 137–56.
- Mutsaers S, Currid TJ. Pharmacogenetics: a reality or misplaced optimism? *J Psychiatr Ment Health Nurs* 2013; 20 (4): 314–20.
- Fausser BC, Diedrich K, Devroey P. Predictors of ovarian response: progress towards individualized treatment in ovulation induction and ovarian stimulation. *Hum Reprod Update*. 2008; 14 (1): 1–14.
- Wang J, Pang GS, Chong SS, Lee CG. SNP web resources and their potential applications in personalized medicine. *Current Drug Metab* 2012; 13 (7): 978–90.
- Altmäe S, Hovatta O, Stavreus-Evers A, Salumets A. Genetic predictors of controlled ovarian hyperstimulation: where do we stand today? *Hum Reprod Update* 2011; 17 (6): 813–28.

- Laan M, Grigorova M, Huhtaniemi IT. Pharmacogenetics of follicle-stimulating hormone action. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2012; 19 (3): 220–7.
- Livshyts G, Podlesnaja S, Kravchenko S et al. A distribution of two SNPs in exon 10 of the FSHR gene among the women with a diminished ovarian reserve in Ukraine. *J Assist Reprod Genet* 2009; 26 (1): 29–34.
- Lledo B, Guerrero J, Turfeno A 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.
- Mobiyideen L, Newman WG, Cerra C et al. FSH receptor genotype does not predict metaphase-II oocyte output or fertilization rates in ICSI patients. *Reprod Biomed Online* 2013; 27 (3): 305–9.
- Desai SS, Achrekar SK, Paranjape SR et al. Association of allelic combinations of FSHR gene polymorphisms with ovarian response. *Reprod Biomed Online* 2013; 27 (4): 400–6.
- Desai SS, Achrekar SK, Pathak BR et al. Follicle-stimulating hormone receptor polymorphism (G-29A) is associated with altered level of receptor expression in Granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96 (9): 2805–12.
- Avtigi C, Clarizia R, Pettersson K et al. Suboptimal response to GnRHα long protocol is associated with a common LH polymorphism. *Reprod Biomed Online* 2009; 18 (1): 9–14.
- Bentov Y, Kenigsberg S, Casper RF. A novel luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor mutation associated with amenorrhea, low oocyte yield, and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2012; 97 (5): 1165–8.
- Haasi RJ, Abmadi MR, Meetbal SV et al. A luteinizing hormone receptor intronic variant is significantly associated with decreased risk of Alzheimer's disease in males carrying an apolipoprotein E epsilon4 allele. *BMC Med Genet* 2008; 9: 37.
- Altmäe S, Haller K, Peters M et al. Allelic estrogen receptor 1 (ESR1) gene variants predict the outcome of ovarian stimulation in vitro fertilization. *Mol Human Reprod* 2007; 13 (8): 521–6.
- Ayaz OU, Ekmekci A, Baltaci V et al. Evaluation of in vitro fertilization parameters and estrogen receptor alpha gene polymorphisms for women with unexplained infertility. *J Assist Reprod Genetics* 2009; 26 (9–10): 503–10.
- Hanevik HI, Hilmarsen HT, Skjelbred CF et al. Single nucleotide polymorphisms in the anti-Müllerian hormone signalling pathway do not determine high or low response to ovarian stimulation. *Reprod Biomed Online* 2010; 21 (5): 616–23.
- Yoshida Y, Yamashita Y, Saito N et al. Analyzing the possible involvement of anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian hormone receptor II single nucleotide polymorphism in infertility. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31 (2): 163–8.
- Dupakuntla M, Mabale SD. Accessibility of the extracellular loops of follicle stimulating hormone receptor and their role in hormone-receptor interaction. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 315 (1–2): 131–7.
- Moron FJ, Galan JJ, Ruiz A. Controlled ovarian hyperstimulation pharmacogenetics: a simplified model to genetically dissect estrogen-related diseases. *Pharmacogenomics* 2007; 8 (7): 775–85.
- Yao Y, Ma CH, Tang HL, Hu YF. Influence of follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) Ser680Asn polymorphism on ovarian function and in vitro fertilization outcome: a meta-analysis. *Mol Genet Metab* 2011; 103 (4): 388–93.
- Jun JK, Yoon JS, Ku SY et al. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphisms and ovarian responses to controlled ovarian hyperstimulation for IVF-ET. *J Hum Genet* 2006; 51 (8): 665–70.
- Jiang X, Dias JA, He X. Structural biology of glycoprotein hormones and their receptors: insights to signaling. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382 (1): 424–51.
- Berger K, Billerbeck AE, Costa EM et al. Frequency of the allelic variant (Trp8Arg/Le15Thr) of the luteinizing hormone gene in a Brazilian cohort of healthy subjects and in patients with hypogonadotropic hypogonadism. *Clinics* 2005; 60 (6): 461–4.
- Ziecik AJ, Kaczmarek MM, Blitek A et al. Novel biological and possible applicable roles of LH/hCG receptor. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 269 (1–2): 51–60.
- Perrier d'Hauterive S, Berndt S, Tsampalás M et al. Dialogue between blastocyst hCG and endometrial LH/hCG receptor: which role in implantation? *Gynecol Obstet Invest* 2007; 64 (3): 156–60.
- O'Brien T, Kalmin MM, Harralson AF et al. Association between the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor (LHCGR) rs4073366 polymorphism and ovarian hyperstimulation syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. *Reproductive biology and endocrinology* 2013; 11 (1): 71.
- O'Brien TJ, Kalmin MM, Harralson AF et al. Association between the luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor (LHCGR) rs4073366 polymorphism and ovarian hyperstimulation syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. *Reproductive biology and endocrinology* 2013; 11 (1): 71.
- Anagnostou E, Mavrogiani D, Theofanakis C et al. ESR1, ESR2 and FSHR receptor gene polymorphisms in combination: a useful genetic tool for the prediction of poor responders. *Curr Pharmaceutical Biotech* 2012; 13 (3): 426–34.
- Nelson SM, Yates RW, Lyall H et al. Anti-Müllerian hormone-based approach to controlled ovarian stimulation for assisted conception. *Hum Reprod* 2009; 24 (4): 867–75.
- Kevenaar ME, Themmen AP, Laven JS et al. Anti-Müllerian hormone and anti-Müllerian hormone type II receptor polymorphisms are associated with follicular phase estradiol levels in normo-ovulatory women. *Hum Reprod* 2007; 22 (6): 1547–54.
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod* 2011; 26 (7): 1616–24.
- American Society of Reproductive Medicine. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2008; 90 (5, Suppl): S188–193.
- Delvigne A. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. *Epidemiology of OHSS. Reprod Biomed Online* 2009; 19 (1): 8–13.
40. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* 2011; 26 (6): 1270–83.