بررسی پلی مورفیسم کدون‌های ۱۶۴ و ۲۷ ژن گیرنده بتادو آدرنرژیک در زنان مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک

دکتر فریده ظفری زنگنه[۱*]، محمد مهدی نقی زاده[۲]، طیبه جعفریان[۳]، سعیده نژاد فتح مقدم[۳]، آرش سلمانی[۴]

۱. دانشیار مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر (عج)، بیمارستان ولیعصر (عج)، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲. مربی گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران.
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیولوژی و کلوپ محققان جوان، دانشکده علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.
۴. دانشجوی دکترای ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۴/۱۱/۱۷

خلاصه

مقدمه: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS) یک بیماری شایع و پیچیده در زنان است. اگرچه نقش عوامل ژنتیکی در PCOS به شدت مطرح است، ولی ژن‌هایی که در سبب شناسی یا اتیولوژی این سندرم درگیر است، تاکنون به طور کامل بررسی و گزارش نشده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم یا چند شکلی دو کدون ۱۶۴ و ۲۷ ژن گیرنده بتادو آدرنرژیک در PCO انجام شد.

روش کار: این مطالعه مقطعی در سال ۹۳-۱۳۹۲ بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در بیمارستان امام خمینی تهران انجام شد. نمونه خون به میزان ۳ سی سی جهت ژنومیک DNA توسط کیت کیاژن استخراج و سپس پرایمر جهت PCR بر اساس بانک ژن تهیه شد. نمونه‌های DNA تأیید شده توسط شرکت Macrogen توالی شد و توالی‌های به دست آمده با نرم افزار Chromas (نسخه ۲/۴) مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش بوت استراپ با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تحلیل پلی مورفیسم کدون ۱۶۴ نشان داد که در زنان PCO، ۴۴/۴٪ پلی مورفیسم رخ داده بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۰۲$). کدون ۲۷ تفاوت معنی‌داری را در پلی مورفیسم بین گروه‌های غیر PCO و PCO نشان نداد ($p=۰/۶۰۶$). هموزیگوت و هتروزیگوت هر دو کدون تفاوت معنی‌داری داشت، به ترتیب ($p=۰/۰۰۴$) و ($p=۰/۰۴۵۰$)

نتیجه‌گیری: در بررسی پلی مورفیسم دو کدون ۲۷ و ۱۶۴ ژن گیرنده بتادو آدرنرژیک، کدون ۱۶۴ با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک همراهی دارد.

کلمات کلیدی: پلی مورفیسم (چندشکلی) ژنتیک، پلی مورفیسم Glu27Gln، پلی مورفیسم Thr164Ile، تخمدان پلی‌کیستیک، گیرنده بتادو آدرنرژیک

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر فریده ظفری زنگنه ؛ مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر (عج)، بیمارستان ولیعصر (عج)، مجتمع بیمارستانی امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. **تلفن:** ۶۶۵۸۱۶۱۶-۰۲۱ ؛ **پست الکترونیک:** zangeneh14@gmail.com

مقدمه

امروزه مشخص شده است که عملکرد تخمدان توسط پیام یا سیگنال‌های هورمونی خارج و داخل تخمدانی به طور همزمان، باعث کنترل رشد فولیکولی، ترشح استروئید و اوولاسیون در تخمدان می‌شود (۱). یافته‌های چند سال اخیر نقش سیستم سمپاتیک تخمدانی را در رشد فولیکول (۲) و روند استروئیدوژنز تخمدانی کاملاً مؤثر گزارش کرده اند (۳). مطالعات مدل حیوانی نیز نقش سمپاتیک محیطی را پیشنهاد می‌کنند (۴) که فعالیت بالای این سیستم عصبی می تواند در سبب شناسی یا اتیولوژی و همچنین در روند پیشرفت سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نقش موثری را داشته باشد. تشخیص بیماری نیاز به یافته‌های تخمدانی دارد و علائم بالینی نظیر هیرسوتیسم، اختلال قاعدگی و گاه چاقی و افزایش هورمون لوتئینی (LH) و یا به هم خوردن نسبت آن به هورمون محرک فولیکولی (FSH) یعنی LH/FSH بطور شایع وجود دارد (۵، ۶). قابل ذکر است که فقدان فولیکول غالب قبل از اوولاسیون، از شایع‌ترین علائم بیماری مذکور شمرده می‌شود (۷). بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک در خطر وقوع بیماری‌هایی از جمله: دیابت قندی، بیماری‌های قلبی - عروقی (خطر افزایش فشار خون و انفارکتوس میوکارد) (۸، ۹)، کارسینوما (آندومتر، پستان و تخمدان) (۱۰) و آپنه یا وقفه تنفسی در حین خواب (۱۱) قرار دارند و گزارشات زیادی در این زمینه وجود دارد. بررسی سابقه خانوادگی در بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک نشان می‌دهد که عوامل ژنتیکی نقش مهمی در رخداد این بیماری ایفا می نماید. مطالعات اخیر نشان داده است که این اختلال می‌تواند یک صفت پیچیده باشد، بدین معنی که ژن‌های متعددی در تعامل با عوامل محیطی می‌توانند منجر به فنوتیپ PCOS شوند (۱۲، ۱۳). تحقیقات سال‌های اخیر از منظر ژنتیک نیز به بیماری تخمدان پلی‌کیستیک پرداخته و تاکنون چندین ژن از جمله: ژن‌های بیوسنتز و متابولیسم استروژن، ژن‌های چاقی، تنظیم انرژی، ترشح و عملکرد انسولین، آزمایش و بررسی شده‌اند (۱۲). آندروژن دوران جنینی می تواند به یک فنوتیپ PCO در دوران نوجوانی زنان مبتلا بیانجامد (۱۳، ۱۴)، مطالعات سال‌های اخیر از منظر ژنتیک بیانگر این امر مهم است که فاکتورهای ژنی در اتیولوژی بیماری نقش موثر دارد (۱۵).

پلی مورفیسم ژنتیکی عبارت از تفاوت در ردیف اسید آمینه‌های دی نوکلئیک اسید که عامل تنوع در افراد، گروه ها و یا جمعیت ها است. حال اگر در این ردیف اسید آمینه‌های دی نوکلئیک اسید افراد تفاوت یا اختلافی حادث شود، به آن موتاسیون یا جهش ژنتیکی اطلاق می‌شود. پلی مورفیسم های نوکلئوتیدی منفرد (SNPs)[1] ساده‌ترین فرم و منبع اصلی پلی مورفیسم ژنتیک در ژنوم انسانی هستند (۹۰٪ از تمام پلی مورفیسم DNA انسان). تنوع ژنومیکی و بنابراین SNPs پاسخگوی تنوع گونه‌های انسانی است. نقشه SNP به طور موفقیت‌آمیزی در تشخیص ژن‌های افراد در بیماری‌های منوژنیک مانند هانتینگتون شناسایی شده است، اگرچه قابل ذکر است که اکثر صفات از ژن‌های مولتیپل یا چندگانه و همچنین فاکتورهای محیطی تأثیرپذیری دارند (۱۶). مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر پلی مورفیسم ژن گیرنده بتا ۲ آدرنرژیک در بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک که تاکنون از آن گزارشی نشده است، انجام شد. تنوع و تفاوت در سکانس DNA انسان‌ها می‌تواند نحوه ایجاد بیماری‌ها و پاسخ به پاتوژن‌ها، مواد شیمیایی، داروها، واکسن‌ها و سایر عوامل را تحت تأثیر قرار دهد، لذا پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در تولید داروهای مختص هر شخص نقش مهمی دارند. بزرگ ترین اهمیت SNP ها در تحقیقات زیست دارویی در مقایسه نواحی ژنوم بین افراد هم دوره و معاصر در مطالعات وابسته به ژنوم است. مطالعه پلی مورفیسم LH و LHRH نشان می‌دهد که موتاسیون ژن LH G1052A می‌تواند در استعداد و فنوتیپ‌های تخمدان پلی‌کیستیک مؤثر باشد (۱۷). همچنین تنوع ژن بتا زیر واحد هورمون لوتئینی در زنان مبتلا در هند جنوبی گزارش شده است (۱۸). گزارشات پلی مورفیسم کیورا بایاشی و همکاران (۲۰۰۶) و همچنین تله کا و همکاران (۲۰۱۲) در زمینه مقاومت به انسولین، تأییدکننده مشارکت بین هاپلوتیپ‌های گیرنده بتا ۲ و

[1] single nucleotide polymorphisms

مقاومت انسولینی در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می باشد(۱۹، ۲۰).

گیرنده β2 آدرنرژیک عضو زیر خانواده G پروتئین است که دارای هفت ناحیه عرض غشایی می‌باشد. این گیرنده پروتئینی با ۴۱۳ اسیدآمینه و وزن مولکولی۴۶ کیلو دالتن است که توسط یک ژن بدون اینترون روی کروموزوم q31-325، رمز شده است که این گیرنده G پروتئینه فعالیت کاتکول آمین‌ها را در بافت‌های متعدد میانجی‌گری می‌کند. گیرنده مذکور دارای سه لوپ خارج سلولی و ۳ لوپ داخل سلولی با پایانه کربوکسی است (۲۱).

با توجه به این نکته مهم که سیستم سمپاتیک در انسان و مدل حیوانی با افزایش فعالیت سیستم سمپاتیکی همراه است و با توجه به اینکه بیان ژن گیرنده‌های بتا ۲ در تخمدان نیز صورت گرفته است، لذا بررسی تأثیر پلی مورفیسم ژن گیرنده مذکور در نمونه خون بیماران مبتلا به سندرم مذکور می‌تواند راهگشای روند فارماکوژنومیکس (بکارگیری تکنیک‌های پروتئومیکس در یافتن هدف داروها) در سندرم یا بیماری تخمدان پلی‌کیستیک باشد که خود مهم‌ترین و بیش‌ترین عامل ناباروری زنان جوان است، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر پلی مورفیسم ژن گیرنده بتا ۲ آدرنرژیک در بیماران مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک انجام شد.

روش کار

این مطالعه مقطعی در سال ۹۳-۱۳۹۲ بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام شد. اگر فرض شود که پلی مورفیسم در بیماران مبتلا به PCOs برابر با ۵۰٪ است، برای بررسی تفاوت ۱۰ درصدی با خطای نوع اول α=۰/۰۵، به بررسی حداقل ۹۵ نفر نیاز خواهد بود. لذا در این مطالعه از بین مراجعه‌کنندگان به درمانگاه نازایی بیمارستان امام خمینی تهران ۱۰۰ بیمار که نازایی ناشی از PCOS داشتند، بر مبنای ضوابط یا معیارهای رتردام سال ۲۰۰۳ انتخاب شدند (۲۲). در این مطالعه گروهی از زنان سالم نیز مورد بررسی قرار گرفتند. این گروه از زنان سالم که به صورت در دسترس انتخاب شده بودند، همسران نابارور داشتند.

هر دو گروه با پرکردن فرم رضایت نامه و ضوابط کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران طرح مصوب ۱۹۴۹۳ سال ۱۳۹۱ وارد مطالعه شدند. از هر دو گروه ۳ سی سی خون گرفته شد و نمونه های خونی در لوله حاوی EDTA جمع آوری و در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: ابتلاء به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، محدوده سنی ۴۰-۲۰ سال و شاخص توده بدنی زیر ۲۸ کیلوگرم بر متر مربع بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل: عدم ابتلاء به بیماری دیگر به جز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و عدم مصرف داروی دیگر بود.

استخراج DNA: از هر یک از افراد حدود ۳ سی سی خون تازه گرفته شد و در لوله حاوی EDTA ذخیره گردید. سپس با استفاده از کیت کیاژن با توجه به دستورالعمل مربوطه DNA ها استخراج شد. برای بررسی کیفیت و غلظت DNA از روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه نانودراپ استفاده شد. هر PCR به حجم ۲۵ میکرولیتر شامل: 1 µl of 2X genomic DNA
7 µl Master Mix (Taq DNA Polymerase Master Mix Red, 1.5 mm $MgCL_2$)
15 µl ddH_2O , 1 µl Forward primer
1 µl Reverse primer.

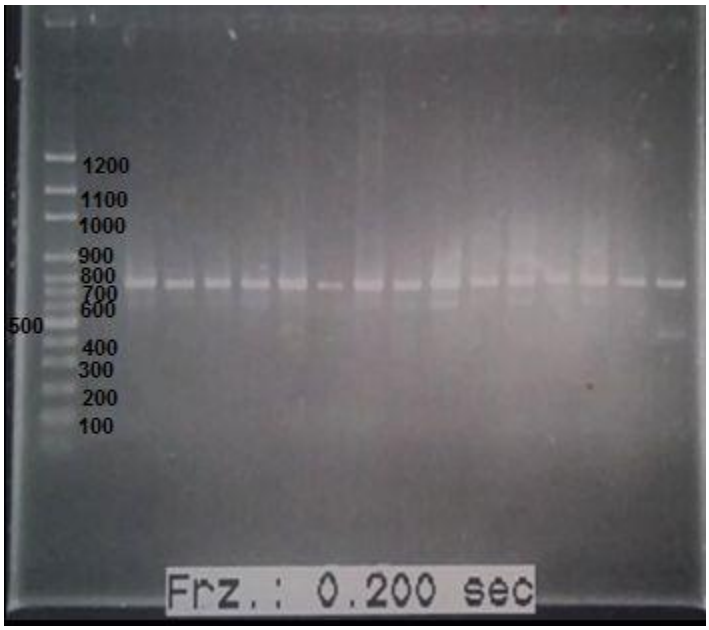
جفت پرایمرهای رفت و برگشت شامل:
5'AAGCGGCTTCTTCAGAGCA3'(forward)
5'GATGGCTTCCTGGTGGGTG3' (reverse) تهیه شده از شرکت FAZA Biotech می باشد.

شرایط ترموسایکلر پس از بهینه سازی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- شرایط ترموسایکلر بعد از بهینه سازی

مراحل	دما (درجه سانتی گراد)	زمان (ثانیه و دقیقه)	
مرحلهٔ قبل واسرشت (Pre-denaturation)	۵۹ درجه سانتی گراد	۵ دقیقه	مرحله اول
مرحلهٔ واسرشت (Denaturation)	۵۹ درجه سانتی گراد	۳۰ ثانیه	مرحله دوم ۳۰ سیکل در سه مرحله
مرحلهٔ اتصال (Annealing)	۶۱ درجه سانتی گراد	۳۰ ثانیه	
Extention (مرحلهٔ طویل سازی)	۷۲ درجه سانتی گراد	۲۰ ثانیه	
Final extension (مرحلهٔ طویل سازی نهایی)	۷۲ درجه سانتی گراد	۵ دقیقه	مرحله سوم

صحت تکثیر قطعه مورد نظر بر روی ژل ۱/۵٪ آگارز با استفاده از کنترل منفی بررسی و باندهای DNA به کمک دستگاه U.V Transilluminator مشاهده و عکس برداری شد.



شکل ۱- ژل ۱/۵٪ آگارز الکتروفورزیس

نمونه های DNA تأیید شده، توسط شرکت Macro gen، توالی شد (تصاویر۱، ۲) و توالی‌های به دست آمده با نرم افزار Chromas (نسخه ۲/۴) مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میزان p کمتر از ۰۵ /۰معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه پلی مورفیسم کدون ۲۷ در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت که این موضوع با روش مرسوم و بوت استراپ چک و تأیید شد، اما هتروزیگوسیتی در دو گروه تفاوت داشت که تفاوت معنی‌دار مربوط به هتروزیگوسیتی بود (p=۰/۰۴۵). معنی‌دار نشدن تفاوت p=۰/۶۰۶ می‌تواند به دو دلیل باشد: دلیل اول اینکه ماهیتاً این پلی مورفیسم در دو گروه تفاوت ندارد. دلیل دوم عدم تفاوت به دلیل شانس می‌باشد. برای رد دلیل دوم، توان آزمون در شرایط مسئله محاسبه شد که توان نسبتاً بالا بود که به معنی رد دلیل دوم بود. وقتی توان بالا است این مفهوم منتقل می‌شود که عدم تفاوت نه به دلیل حجم کم نمونه، بلکه به دلیل ماهیت مسئله است.

بررسی دقیق‌تر با استفاده از روش بوت استراپ نیز عدم وجود تفاوت معنی‌دار را تأیید کرد. در حالت عادی احتمال وجود پلی مورفیسم در گروه PCO، ۰/۷ برابر گروه کنترل است. روش فوق ۱۰۰۰ بار از مجموعه ۱۱۳ نفری فوق نمونه گیری می‌کند و نتیجه را جمع‌بندی و گزارش می‌کند. این روش به عنوان راه

گریز و ناچاری در مواقعی که حجم نمونه کوچک است، استفاده می‌شود. اما باز هم امکان محاسبه توان آزمون و روش بوت استراپ وجود ندارد، لذا باید با پیش‌بینی روند آتی در مورد قطعیت یافته‌ها استدلال کرد. اگر فرد جدیدی به گروه کنترل اضافه شود و پلی مورفیسم نداشته باشد که قطعاً مقدار p کمتر شده و تفاوت بین دو گروه بیشتر و معنی‌دارتر خواهد بود، اما اگر فرد چهاردهم گروه کنترل چندشکلی باشد باز هم تفاوت معنی‌دار است، همچنین فرد ۱۵ و ۱۶؛ یعنی اگر سه نفر به گروه کنترل اضافه شوند و هر سه چندشکلی باشند، باز هم تفاوت معنی‌دار است. لذا با توجه به یافته فوق می‌توان استدلال کرد که پلی مورفیسم کدون ۶۴ در دو گروه متفاوت است و نسبت هموزیگوت و هتروزیگوت در دو گروه تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (جدول ۲).

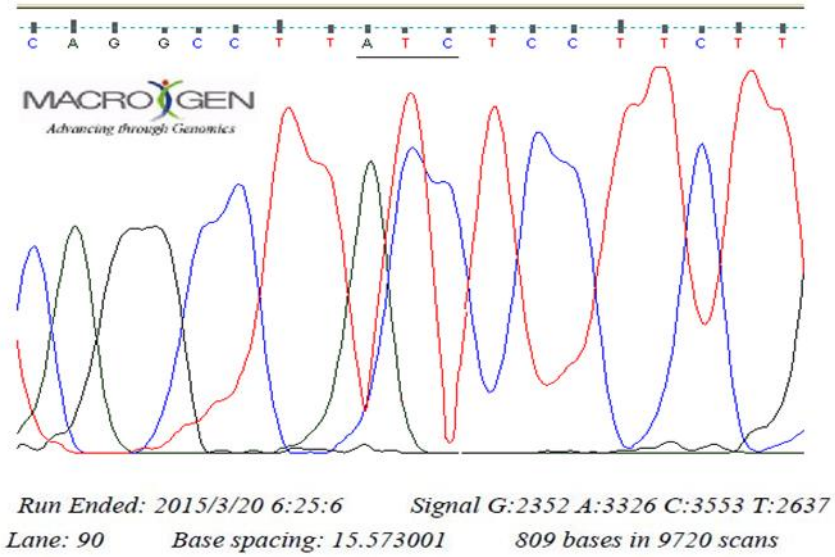
جدول ۲- ژنوتیپ (درصد فرکانس) کدون ۲۷ (Glu27Gln) در دو گروه PCO و غیر PCO

		افراد PCO و غیر PCO				ارزش P تست کای اسکوئر	توان آزمون
		افراد غیر PCO		افراد PCO			
		تعداد	درصد	تعداد	درصد		
وجود پلی مورفیسم	خیر	۳	٪۲۳/۱	۳۰	٪۳۰	۰/۶۰۶	۰/۶۷۲
	بله	۱۰	٪۹/۷	۷۰	٪۷۰		
توالی	AAA Hetro	۰	٪۰	۱	٪۱	۰/۰۹۵	
	CAA Hemo	۵	٪۳۸/۵	۵۹	٪۵۹		
	CAA Hetro	۵	٪۳۸/۵	۹	٪۹		
	GAA Hemo	۲	٪۱۵/۴	۲۰	٪۲۰		
	GAA Hetro	۱	٪۷/۷	۱۰	٪۱۰		
	TAA Hetro	۰	٪۰	۱	٪۱		
توالی	CAA Hemo	۵	٪۳۸/۵	۵۹	٪۵۹	۰/۰۵۳	
	CAA Hetro	۵	٪۳۸/۵	۹	٪۹		
	GAA Hemo	۲	٪۱۵/۴	۲۰	٪۲۰		
	GAA Hetro	۱	٪۷/۷	۱۰	٪۱۰		
	Other	۰	٪۰	۲	٪۲		
فرم آللی	Hetro	۶	٪۴۶/۲	۲۱	٪۲۱	۰/۰۴۵	
	Hemo	۷	٪۵۳/۸	۷۹	٪۷۹		

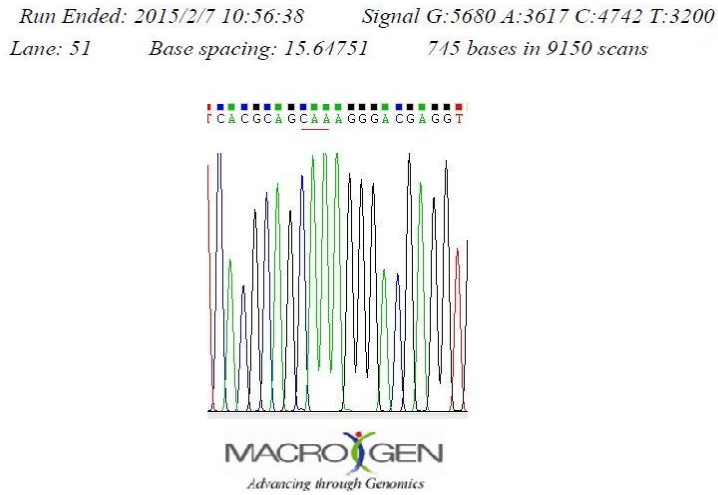
کدون ۲۷ تفاوت معنی‌داری را در پلی مورفیسم بین گروه‌های غیر PCO و PCO نشان نداد (p=۰/۶۰۶). در بررسی و تحلیل کدون ۱۶۴ نیز در گروه غیر PCO هیچ مورد چندشکلی مشاهده نشد. اما در گروه مطالعه ٪۴۴/۴ پلی مورفیسم رخ داده بود که نشان دهنده تفاوت معنی‌داری بین دو گروه بود (p=۰/۰۰۲).

جدول ۳- ژنوتیپ (درصد فرکانس) کدون ۱۶۴ (Thr164Ile) در دو گروه PCO و غیر PCO

		گروه				سطح معنی داری
		افراد غیر PCO		افراد PCO		
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	
پلی مورفیسم	خیر	۱۳	٪ ۱۰۰	۵۵	٪ ۵۵/۶	
	بله	۰	٪۰/۰	۴۴	٪۴۴/۴	۰/۰۰۲
آلل	هترو			۷	٪۸/۲	۰/۰۰۴
	همو			۷۸	٪۹۱/۸	
توالی	ACC			۵۵	٪۵۵/۶	
	ATC			۴۴	٪۴۴/۴	



تصویر ۲- سکوئنسینگ (ردیف یا توالی) کدون۱۶۴ گیرنده بتادو آدرنرژیک (Thr164Ile)



تصویر۳- سکوئنسینگ (ردیف یا توالی) کدون ۲۷ گیرنده بتادو آدرنرژیک (Glu27Gln)

بحث

شواهد زیادی در مدل حیوانی تخمدان پلی‌کیستیک و همچنین در انسان، افزایش فعالیت عصبی سیستم سمپاتیک را تأیید می کند. مطالعات بسیاری نیز نشان داده اند که فعالیت عصبی سمپاتیک در رشد فولیکول تخمدانی نقش دارد. مطالعه لونا (۲۰۱۲) نشان داد که آگونیست گیرنده‌های بتادو آدرنرژیک (ایزوپره ترنول) می‌تواند باعث تخمدان پلی‌کیستیک در جونده شود و این اثر توسط آنتاگونیست آن (پروپرانولول) قابل برگشت است. تحریک گیرنده فوق باعث افزایش فاکتور رشد عصب و هورمون لوتئینی داخل تخمدان می‌شود (۲۳). مطالعات چندین دهه قبل نشان داده اند وقتی تخمدان از تون عصبی سمپاتیک محروم شود، کاهش چشمگیری در گیرنده‌های بتا آدرنرژیک تخمدانی رخ می‌دهد. مطالعات اتورادیوگرافی نشان می‌دهند که در pco پراکندگی گیرنده های بتا کاهش و بدنبال آن دو تا سه برابر ظرفیت تخمدانی این گیرنده ها نیز کاهش می‌یابد. این نتایج به وضوح نشان می‌دهند که حذف کامل تون آدرنرژیک تخمدانی باعث کاهش عمیق در غلظت LHRH و گیرنده‌های آن در تخمدان می‌شود (۲۴).

نقش نورومدولاتوری یا تعدیل عصبی توسط نورآدرنالین در روند استروئیدوژنزیس فولیکولی در درک بهتر مکانیسم‌های تنظیمی محلی یا لوکال داخل فولیکولی (intrafollicular) کمک می‌کند، چراکه نورآدرنالین از ترمینال های عصبی خارج لایه رها می‌شود و همچنین شواهدی وجود دارد که اووسیت نیز سنتز یا ساخت نورآدرنالین را به عهده دارد (۲۵). این نکته مهم و قابل ذکر است که یافته‌های فوق در مورد نورآدرنالین و گیرنده بتادو در جوندگان بسیار مطالعه و گزارش شده و قابل تأیید می‌باشد ولی این یافته‌ها کاملاً در مورد انسان و پریمیت قابل اشاعه نیستند. مطالعه مرزل و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که بیان ژن گیرنده بتادو آدرنرژیک در رشد بهتر فولیکول در محیط کشت همراهی نشان می دهد (۲۶). در مطالعه زنگنه و همکاران (۲۰۱۲) در امر روزه‌داری نشان داد که نورآدرنالین در زنان روزه‌دار مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک نسبت به گروه کنترل PCO که روزه نبودند، به طور معنی‌داری پایین‌تر بود (۲۷) و همچنین در مطالعه سال ۲۰۱۳ نشان دادیم که پرکاری سیستم عصبی سمپاتیک در این بیماری می تواند موجب افزایش سطح پلاسمایی آدرنالین-نورآدرنالین در بیماران pco بشود (۲۸). با توجه به نقش محوری گیرنده بتا ۲ آدرنرژیکی در تنظیم فعالیت‌های طبیعی قلب، ریه، عروق، سیستم آندوکرین و عصبی، مطالعه حاضر با هدف بررسی دو کدون ۲۷ و ۱۶۴ انجام شد که این کدون‌ها در بیماری‌هایی مثل: آسم (۲۹)، آرتریت روماتوئید (۳۰)، قلبی- عروقی (۳۲، ۳۱)، دیابت (۳۳)، چاقی (۳۴)، هیپرگلیسمی (۳۵)، متابولیک (۳۶) بررسی شده است. پلی مورفیسم ژنتیک در تخمدان پلی‌کیستیک نیز گزارشاتی تاکنون داشته است که در زمینه های پلی مورفیسم ژن گیرنده آندروژن (۳۷)، گیرنده انسولینی (۳۸)، گیرنده هورمون محرک فولیکول (۳۹) و در بیماری کوشینگ (۴۰) که همراه با تخمدان پلی‌کیستیک مطالعه شده است. مطالعه حاضر اولین گزارشی است که بر روی پلی مورفیسم ژن گیرنده بتا انجام شده و نتیجه آن عبارت است از همراهی کردن کدون ۱۶۴ در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می باشد. با توجه به اینکه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک یک اختلال نوروآندوکرین- متابولیک است و کاهش فعالیت گیرنده بتا در آن محرز است، لذا پیچیدگی کار می‌طلبد که پلی مورفیسم سایر ژن‌ها نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

در بررسی پلی مورفیسم دو کدون ۲۷ و ۱۶۴ ژن گیرنده بتادو آدرنرژیک، کدون ۱۶۴ با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک همراهی دارد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران در مرکز تحقیقات باروری ولیعصر (عج) بیمارستان امام خمینی با طرح شماره ۱۹۴۹۳ مصوب سال ۱۳۹۱ انجام شد. بدین وسیله از تمام افرادی که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند، تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. Lara HE, Dissen GA, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler JL, et al. An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. Endocrinology 2000; 141(3):1059-72.
2. Lara HE, McDonald JK, Ojeda SR. Involvement of nerve growth factor in female sexual development. Endocrinology 1990; 126(1):364-75.
3. Adashi EY, Hsueh AJ. Stimulation of beta 2-adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. Endocrinology 1981; 108(6):2170-8.
4. Lara HE, Ferruz JL, Luza S, Bustamante DA, Borges Y, Ojeda SR. Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. Endocrinology 1991; 133(6):2690-5.
5. Rebar R, Judd HL, Yen SS, Rakoff J, Vandenberg G, Naftoline F. Characterization of the inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome. J Clin Invest 1976; 57(5):1320-9.

6. Lobo RA, Kletzky OA, Campeau JD, diZerega GS. Elevated bioactive luteinizing hormone in women with polycystic ovary system. Fertil Steril 1981; 39(5):674-8.
7. Norman RJ, Wu R, Stankiewiecz MT. 4: Polycystic ovary syndrome. Med J Aust 2004; 180(3):132-7.
8. Kannel WB: The Framingham Study: historical insight on the impact of cardiovascular risk factors in men versus women. J Gend Specif Med 2002; 5(2):27-37.
9. Mather KJ, Kwan F, Corenblum B. Hyperinsulinemia in polycystic ovary syndrome correlates with increased cardiovascular risk independent of obesity. Fertil Steril 2000; 73(1):150–6.
10. Balen A. Polycystic ovary syndrome and cancer. Hum Reprod Update 2001; 7(6):522–5.
11. Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. N Engl J Med 2005; 352(12):1223–36.
12. Jakubowski L. Genetic aspects of polycystic ovary syndrome. Endocrinol Pol 2005; 56(3):285-93.
13. Xita N, Tsatsoulis A. Review: fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies. J Clin Endocrinol Metab 2006; 91(5):1660-6.
14. Franks S, McCarthy MI, Hardy K. Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. Int J Androl 2006; 29(1):278-85.
15. Franks S, Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Williamson R, et al. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. Hum Reprod 1997; 12(12):2641-8.
16. Polymorphism biology. Encyclopaedia Britaninica School and Library Subscribers. Available at: URL: http://www.britannica.com/science/polymorphism-biology; 2015.
17. Liu N, Ma Y, Wang S, Zhang X, Zhang Q, Zhang X, et al. Association of the genetic variants of luteinizing hormone, luteinizing hormone receptor and polycystic ovary syndrome. Reprod Biol Endocrinol 2012; 10:36-43.
18. Dasgupta S, Sirisha PV, Neelaveni K, Anuradha K, Sudhakar G, Reddy BM. Role of luteinizing hormone β-subunit gene variants among South Indian women with polycystic ovary syndrome. Gene 2012; 494(1):51-6.
19. Kurabayashi T, Yahata T, Quan J, Tanaka K. Association of polymorphisms in the beta2 and beta3 adrenoceptor gene with polycystic ovary syndrome. J Reprod Med 2006; 51(5):389-93.
20. Tellechea ML, Muzzio DO, Iglesias Molli AE, Belli SH, Graffigna MN, Levalle OA, et al. Association between β2-adrenoceptor (ADRB2) haplotypes and insulin resistance in PCOS. Clin Endocrinol 2013; 78(4):600-6.
21. Daaka Y, Luttrel LM,lefkowists RJ.switching of the coupling of the beta2-adrenergic receptor to differentG protein by protein kinase A.Nature.1997;0390(6655):88-91.
22. Rotterdom ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). Hum Reprod 2004; 19(1):41-7.
23. Luna SL, Neuman S, Aguilera J, Brown DI, Lara HE. In vivo β-adrenergic blockade by propranolol prevents isoproterenol-induced polycystic ovary in adult rats. Horm Metab Res 2012; 44(9):676-81.
24. Marchetti B, Cioni M, Badr M, Folléa N, Pelletier G. Ovarian adrenergic nerves directly participate in the control of luteinizing hormone-releasing hormone and beta-adrenergic receptors during puberty: a biochemical and autoradiographic study. Endocrinology 1987; 121(1):219-26.
25. Aguado LI, Petrovic Sl, Ojeda SR. Ovarian beta-adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. Endocrinology 1982; 110(4):1124-32.
26. Merz1 C, Saller S, Kunz L, Xu J, Yeoman RR,Ting AY, et al. Expression of the beta-2 adrenergic receptor (ADRB-2) in human and monkey ovarian follicles: a marker of growing follicles? J Ovarian Res 2015; 8:8.
27. Zafari Zangeneh F, Naghizadeh MM, Salman Yazd R, Abedinia N, Madani T. Effect of Ramadan fasting on activity of hypothalamus-pituitary-adrenal axis in polycystic ovary syndrome patients. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2013; 16(57):7-16. (Persian).
28. Zangeneh F, Naghizadeh MM, Abdollahi A, Bagheri M. Evaluation of neurohormones in sleep pattern of patients with polycystic ovary syndrome. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2015; 17(130):10-20. (Persian).
29. de Paiva AC, Marson FA, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Asthma: Gln27Glu and Arg16Gly polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor gene as risk factors. Allergy Asthma Clin Immunol 2014; 10(1):8.
30. Xu B, Arlehag L, Rantapää-Dahlquist SB, Lefvert AK. Beta2-adrenergic receptor gene single-nucleotide polymorphisms are associated with rheumatoid arthritis in northern Sweden. Scand J Rheumatol 2004; 33(6):395-8.
31. Lanfear DE, Jones PG, Marsh S, Cresci S, McLeod HL, Spertus JA. Beta2-adrenergic receptor genotype and survival among patients receiving beta-blocker therapy after an acute coronary syndrome. JAMA 2005; 294(12):1526-33.
32. Wallerstedt SM, Eriksson AL, Ohlsson C, Hedner T. Haplotype association analysis of the polymorphisms Arg16Gly and Gln27Glu of the adrenergic beta2 receptor in a Swedish hypertensive population. J Hum Hypertens 2005; 19(9):705-8.
33. Gjesing AP, Andersen G, Burgdorf KS, Borch-Johnsen K, Jorgensen T, Hansen T, et al. Studies of the associations between functional beta2-adrenergic receptor variants and obesity, hypertension and type 2 diabetes in 7808 white subjects. Diabetologia 2007; 50(3):563-8.
34. Jalba MS, Rhoads GG, Demissie K. Association of codon 16 and codon 27 beta 2-adrenergic receptor gene polymorphisms with obesity: a meta-analysis. Obesity (Silver Spring) 2008; 16(9):2096-106.
35. Wu HM, Bai H, Fan P, Liu R, Liu Y, Liu BW. Analysis of beta2-adrenergic receptor gene (beta2AR) Arg16Gly polymorphism in patients with endogenous hypertriglyceridemia in Chinese population. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi 2008; 25(1):50-4.

36. Lima JJ, Feng H, Duckworth L, Wang J, Sylvester JE, Kissoon N, et al. Association analyses of adrenergic receptor polymorphisms with obesity and metabolic alterations. Metabolism 2007; 56(6):757-65.
37. Lin LH, Baracat MC, Maciel GA, Soares JM Jr, Baracat EC. Androgen receptor gene polymorphism and polycystic ovary syndrome. Int J Gynaecol Obstet 2013; 120(2):115-8.
38. Ramezani Tehrani F, Daneshpour M, Hashemi S, Zarkesh M, Azizi F. Relationship between polymorphism of insulin receptor gene, and adiponectin gene with PCOS. Iran J Reprod Med 2013; 11(3):185–94.
39. Singhasena W, Pantasri T, Piromlertamorn W, Samchimchom S, Vutyavanich T. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism in chronic anovulatory women, with or without polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study. Reprod Biol Endocrinol 2014, 12:86.
40. Eriksena MB, Brusgaardd K, Andersena M, Tan Q, Altinok ML, Gaster M, et al. Association of polycystic ovary syndrome susceptibility single nucleotide polymorphism rs2479106 and PCOS in Caucasian patients with PCOS or hirsutism as referral diagnosis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2012; 163(1):39-42.