# بررسی پلی‌مورفیسم TaqI در ژن رسپتور ویتامین D و ارتباط آن با سطح گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های استروئیدی بین زنان چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و زنان چاق گروه شاهد

مینا توکلی[۱]، دکتر مریم استاد شریف[۲،۳*]، دکتر هاشم نیری[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.
۲. استادیار گروه علوم پایه پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
۳. استادیار قطب علمی ترانسژنزیز، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
۴. استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، اصفهان، ایران.

**تاریخ دریافت:** ۱۳۹۷/۰۵/۰۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۷/۰۸/۰۷

## خلاصه

**مقدمه:** سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، یکی از شایع‌ترین اختلالات زنان در سنین باروری است. یافته‌ها نشان می‌دهد که تغییرات ژنتیکی در ژن گیرنده ویتامین D، می‌تواند در توسعه این سندرم مؤثر باشد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی ارتباط پلی‌مورفیسم *TaqI*، در ژن گیرنده ویتامین D با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و همچنین بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم با شاخص‌های هورمونی استروئیدی و گنادوتروپین‌ها در دو گروه شاهد و بیمار انجام شد.

**روش‌کار:** این مطالعه مورد- شاهدی بر روی ۷۷ نفر از زنان استان اصفهان که در طی سه ماه تابستان ۱۳۹۵ به مرکز باروری و ناباروری اصفهان مراجعه کرده بودند، انجام شد. ۳۸ زن چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک به عنوان گروه بیمار و ۳۹ زن چاق سالم به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. سطوح سرمی هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و پروژسترون با روش الایزا و فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم *TaqI* با استفاده از تکنیک PCR-RFLP انجام پذیرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) و آزمون‌های تی مستقل، من‌ویتنی و کراسکال والیس و کای دو انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** بر اساس نتایج آزمون کای دو، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی آللی و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم *TaqI* در دو گروه شاهد و مبتلا وجود نداشت (p>۰/۰۵). سطح سرمی FSH (p=۰/۰۱۲) و تستوسترون (p=۰/۰۱۷) در گروه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه بیمار بود. تفاوت معناداری در مقدار سرمی LH و پروژسترون بین افراد دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد (p>۰/۰۵). همچنین، مقدار هورمون LH در بین افراد با ژنوتیپ TT، به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد با ژنوتیپ Tt/tt بود (p=۰/۰۱).

**نتیجه‌گیری:** در جمعیت زنان مورد مطالعه، هیچ ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های tt، Tt وTT با هورمون‌های FSH، تستوسترون و پروژسترون مشاهده نشد، از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت پلی‌مورفیسم *TaqI* ارتباطی با خطر سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ندارد.

**کلمات کلیدی**: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، گنادوتروپین‌ها، گیرنده ویتامین D، هورمون‌های استروئیدی

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر مریم استاد شریف؛ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران. **تلفن:** ۰۳۱-۳۵۳۵۴۰۵۸؛ **پست الکترونیک:** maryam.ostadsharif@gmail.com

## مقدمه

سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (PCOS)[1]، شایع‌ترین اختلال آندوکرین در زنان سنین باروری (۱) و یکی از مهم‌ترین دلایل ناباروری ناشی از عدم تخمک‌گذاری، اختلال در قاعدگی و پرمویی می‌باشد (۲). در حال حاضر، این سندرم بر اساس معیار رتردام (۲۰۰۳) تشخیص داده می‌شود (۳) که به داشتن حداقل ۲ مورد از ۳ معیار الیگومنوره یا آمنوره علائم بیوشیمیایی یا کلینیکی هیپرآندروژنیسم و یافته‌های سونوگرافیک مبنی بر داشتن تخمدان‌های پلی‌کیستیک اطلاق می‌گردد (۴). شیوع این سندرم در دنیا ۱۰-۵٪ (۳) و در ایران در مطالعه رمضانی و همکاران (۲۰۱۱) بر اساس معیار رتردام، ۱۴/۶٪ گزارش شد (۵). پاتوفیزیولوژی این سندرم شامل اختلال عملکرد طبیعی تخمدان است که خود تحت تأثیر عوامل خارجی مانند اختلال محور هیپوتالاموس- هیپوفیز - تخمدان و هیپرانسولینمی است. افزایش هورمون آزاد کننده گنادوتروپین‌ها منجر به افزایش ترشح هورمون لوتئینی می‌شود که روی تولید آندروژن‌های تخمدانی و تخمک‌گذاری تأثیرگذار است. اشکال در فیدبک تخمدانی - هیپوفیزی و هیپوتالاموسی، اختلال ترشح گنادوتروپین‌ها را تشدید می‌کند (۶). مقاومت انسولینی با ایجاد هیپرانسولینمی جبرانی به عنوان عامل مهمی در پیشرفت علائم این سندرم شناخته شده است. هیپرانسولینمی با تحریک تولید آندروژن تخمدانی و کاهش گلوبولین متصل شونده به هورمون جنسی (SHBG)[2] منجر به هیپرآندروژنیسم و علائم بالینی مربوط به آن می‌شود (۷). اختلالات قاعدگی (الیگومنوره یا آمنوره)، مشکلات باروری، علائم افزایش سطح آندروژن، پرمویی و آکنه، اغلب دلایل اصلی برای مراجعه افراد به پزشک می‌باشند (۸). مشخصه دیگر در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، شیوع چاقی مفرط است که آن نیز به نوبه خود فاکتور مستقلی برای بیماری‌های قلبی - عروقی بوده و بی‌نظمی در قاعدگی را تشدید می‌کند. از دیگر تغییرات متابولیک، شیوع بالای دیابت ملیتوس نوع ۲ می‌باشد. اپیدمی چاقی و افزایش عوارض قلبی - عروقی و شیوع PCOS به‌خصوص در آینده، به یک نگرانی عمده در زمینه بهداشت عمومی تبدیل شده است (۹).

علی‌رغم پیشرفت علوم در زمینه‌های مختلف، تاکنون علت اصلی این سندرم ناشناخته مانده است، اما عوامل چندژنی، محیطی و مولتی فاکتوریال را در ایجاد آن دخیل دانسته‌اند (۱۰). فاکتورهای محیطی مختلف، نقش اساسی در بروز و درمان این سندرم دارند که می‌توان به نوع رژیم غذایی و ریز مغذی‌ها، فعالیت بدنی، سیگار و استرس اشاره کرد (۱۱، ۱۲).

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فاکتورهای چندژنی در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مشارکت دارند. از جمله ژن‌های درگیر در مسیرهای سنتز انسولین، استروئیدوژنز و ژن‌های مرتبط با التهاب، در این راستا مطرح هستند (۱۳، ۱۴).

با توجه به طیف گسترده اثرات ویتامین D در فرآیندهای فیزیولوژیک بدن، نقش و ارتباط این ویتامین با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک غیرقابل انکار است. کمبود ویتامین D که به عنوان سطح سرمی کمتر از ۲۰ نانوگرم در میلی‌لیتر در نظر گرفته می‌شود، در سنین باروری شایع است و کمبود ویتامین D در عملکردهای تولید مثل مانند سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، فیبروم رحمی، پارامترهای نامناسب اسپرم و در شکست درمان IVF نقش دارد، بنابراین مکمل ویتامین D در درمان ناباروری زنان و مردان توصیه می‌شود (۱۵). بنابراین در توجیه اثرات ویتامین D، مطالعه گیرنده ویتامین D (VDR)[3] که این مکانیسم‌ها را میانجی‌گری می‌کنند، بسیار اهمیت دارد.

از طرفی بررسی‌ها نشان می‌دهد، پلی‌مورفیسم گیرنده ویتامین D با برخی الگوهای بیان شده به‌وسیله PCOS ارتباط معنی‌دار دارد. پاتوژنز PCOS به اثرات پلی‌مورفیسم VDR (*Bsm*I، *Taq*I، *Apa*I، *Fok*I، *Cdx2*) در سطوح LH و SHBG، سطوح تستوسترون، مقاومت به انسولین و انسولین سرم نسبت داده شده می‌شود (۱۴، ۱۵).

[1] Polycystic Ovary Syndrome
[2] Sex Hormone Binding Glubolin
[3] Vitamin D Receptor

پلی‌مورفیسم یا چندشکلی ژنی (SNP)[1]، می‌تواند اثرات بیولوژیکی نسبتاً کم و نامحسوس، اما واقعی داشته باشد. فراوانی آن‌ها در ژنوم انسان و نیز فراوانی بالای آن‌ها در جمعیت انسان، آنها را به هدفی برای توضیح تفاوت‌ها در خطر بیماری‌های شایع تبدیل کرده است. بنابراین ژنوتیپ‌های خاصی به عنوان عامل خطر محسوب می‌شوند و شناسایی آن‌ها در تشخیص به موقع این بیماری مهم و ضروری است (۱۶).

در همین راستا مطالعه حاضر با هدف ارزیابی ارتباط پلی‌مورفیسم *TaqI*، در ژن گیرنده ویتامین D با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در میان زنان ایرانی شهر اصفهان و همچنین تحقیق در مورد ارتباط این پلی مورفیسم‌ها با شاخص‌های هورمونی درون‌ریز LH، FSH، تستوسترون و پروژسترون در زنان چاق سالم و چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام گرفت.

## روش‌کار

این مطالعه مورد- شاهدی بر روی ۷۷ زن (۳۹ نفر گروه شاهد و ۳۸ نفر بیمار) بین سنین ۴۲-۱۹ سال، از زنان استان اصفهان که در طی سه ماه تابستان ۱۳۹۵ به مرکز باروری و ناباروری اصفهان مراجعه کرده بودند، انجام شد. افراد با پر کردن پرسشنامه و موافقت‌نامه به دو گروه شاهد و بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک تقسیم شدند. گروه بیمار زنان چاق با شاخص توده بدنی مساوی یا بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع، دارای سندرم پلی‌کیستیک (تشخیص بر اساس معیارهای مؤسسه ملی سلامت (NIH)، متأهل و نازا، بدون سابقه فامیلی ابتلاء به PCOS و گروه شاهد زنان چاق سالم با شاخص توده بدنی مساوی یا بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع، متأهل بچه‌دار یا بدون بچه و بدون سابقه فامیلی ابتلاء به PCOS بودند. زنان در هر دو گروه بر اساس سن و شاخص توده بدنی با یکدیگر همسان شدند. معیارهای خروج از مطالعه شامل: زنان باردار که امکان اندازه‌گیری مشخصات تن‌سنجی آنها وجود نداشت، مصرف متفورمین، مصرف الکل و داشتن رژیم غذایی خاص بود.

حجم نمونه بر اساس فرمول حجم نمونه در مقایسه میانگین دو جامعه، ۴۵ نفر در هر دو گروه شاهد و بیمار به‌دست آمد که به دلیل ریزش نمونه و عدم همکاری برخی از بیماران و افراد، ۳۹ نفر در گروه شاهد و ۳۸ نفر در گروه بیمار به‌دست آمد.

از هر فرد، حدود ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته شد که ۳ میلی‌لیتر خون آن به یک لوله آزمایش حاوی ضد انعقاد EDTA[2] جهت استخراج DNA و ۷ میلی‌لیتر نیز به یک لوله آزمایش دیگر جهت تهیه سرم برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی منتقل شد و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای سنجش سطح گنادوتروپین‌ها (FSH، LH) و هورمون‌های استروئیدی (تستوسترون و پروژسترون) سرم، از کیت‌های اختصاصی (شرکت مونوبایند آمریکا) با روش الایزا و تعیین جذب نوری نمونه‌ها و استانداردها از دستگاه الایزا ریدر (کمپانی آوارنس، آمریکا) استفاده شد. در این تحقیق روش مطالعه برای بررسی پلی‌مورفیسم، PCR-RFLP بود.

در این مطالعه نمونه‌های DNA ژنومی طبق روش کیت Irazol استخراج گردید. بعد از استخراج DNA از نمونه‌ها، برای انجام فرآیند PCR و تکثیر قطعه ژن مورد نظر، یک مخلوط ۲۵ میکرولیتری شامل ۱۲/۵ میکرولیتر (Master mix)، ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۵ پیکو مول پرایمر F، ۵ پیکو مول پرایمر R و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه شد.

یک جفت پرایمر برای انجام PCR پلی‌مورفیسم از: پرایمر F (5'-AGCAGAGCAGAGTTCCAAGC-3') و پرایمر R (5'-GTGAGGAGCGCTGCTGAGTA-3')

(شرکت ماکروژن کاپا بیوسیستم، آمریکا) استفاده شد.

برنامه اجرا شده برای PCR در دستگاه ترموسایکلر (مدل BIO RAD- T100) ساخت آمریکا شامل یک دوره برای مرحله واسرشت اولیه[3] در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ مرتبه برای مراحل واسرشت[4] در دمای ۹۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال

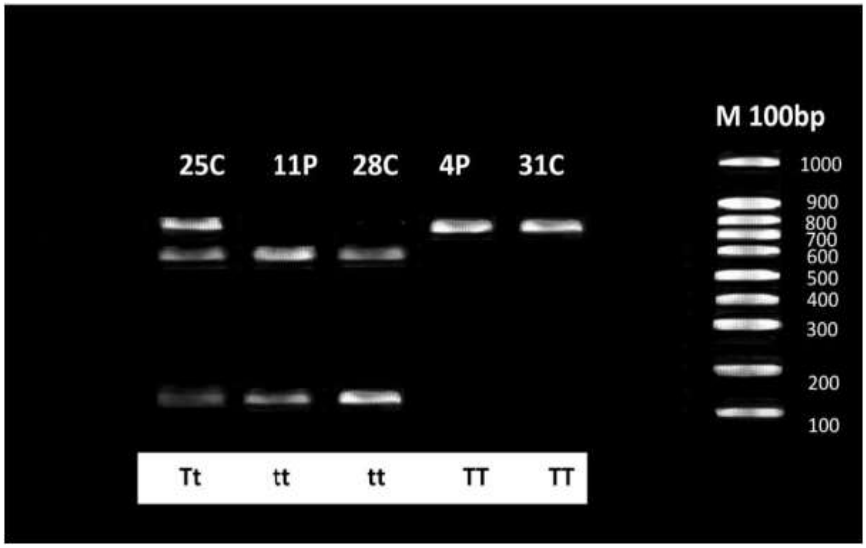
[1] Single Nucleotide polymorphism

[1] Ethylenediaminetetra-acetic.Acid (EDTA)
[2] Initial Denaturation
[3] Denaturation

آغازگرها[1] در دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و مرحله بسط[2] در دمای ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۱ مرتبه برای مرحله بسط نهایی[3] به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود که به‌منظور تکثیر قطعه مورد نظر اجرا شد.

برای تفکیک قطعات DNA به روش الکتروفورز، از بافر 10x TBE، برای ساخت ژل آگارز ۱٪ استفاده شد. جهت رنگ‌آمیزی ژل از ژل رد ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای ارزیابی وزن مولکولی، مقایسه و اندازه قطعات جدا شده از bp 100 ladder (Bioron، آلمان) استفاده گردید. در پایان، ژل توسط دستگاه ژل داک مشاهده و عکس‌برداری شد.

به منظور انجام هضم آنزیمی، آنزیم *Taq*I (شرکت نب) بر اساس دستورالعمل اجرا گردید. در ابتدا، طول محصول PCR ۷۰۱ جفت باز بود که پس از هضم آنزیمی با *Taq*I قطعات به‌دست آمده ۱۱۴ و ۵۸۷ جفت باز بود، لذا ژنوتیپ TT یک باند ۷۰۱ جفت بازی، ژنوتیپ Tt دارای سه باند ۷۰۱، ۱۱۴ و ۵۸۷ جفت بازی و افراد واجد ژنوتیپ tt دارای دو باند ۱۱۴ و ۵۸۷ جفت بازی بودند (شکل ۱).




**شکل ۱- نمونه الگوی الکتروفورز هضم آنزیمی محصول PCR (PCR-RFLP) با آنزیم محدودکننده *Taq*I بر روی ژل آگارز ۲٪ به همراه مارکر bp ۱۰۰، C: کنترل P : بیمار M : مارکر**

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۲) انجام گرفت. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد که در صورت برقراری فرض نرمال بودن، برای مقایسه متغیرهای کمی بین دو گروه از آزمون تی مستقل و در غیر این‌صورت از آزمون من‌ویتنی و کراسکال والیس استفاده شد. همچنین به‌منظور بررسی تفاوت توزیع ژنوتیپ‌ها و مدل‌های غالب و مغلوب از آزمون کای دو استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

بر اساس نتایج آزمون کای دو، بین آلل‌های پلی‌مورفیسم *Taq*I (T و t) با بیماری سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و بین ژنوتیپ‌های پلی‌فورمیسم *Taq*I (TT، Tt و tt) با بیماری PCOS ارتباط معناداری مشاهده نشد ($p>0/05$) (جدول ۱).

[1] Annealing
[2] Extension
[3] Final extension

**جدول ۱- بررسی رابطه پلی‌مورفیسم *TaqI* با ابتلاء به سندرم تخمدان پلی کیستیک**

| پلی‌مورفیسم | گروه | شاهد | بیمار | آماره | درجه آزادی | سطح معناداری |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) | کای دو | | |
| آلل | (T) T | ۳۶ (۴۶/۲) | ۴۲ (۵۵/۳) | ۱/۲۷۸ | ۱ | ۰/۲۵۸ |
| | (C) t | ۴۲ (۵۳/۸) | ۳۴ (۴۴/۷) | | | |
| | کل | ۷۸ (۱۰۰) | ۷۶ (۱۰۰) | | | |
| ژنوتیپ | (TT) TT | ۱۲ (۳۰/۸) | ۱۵ (۳۹/۵) | ۰/۹۳۶ | ۲ | ۰/۶۲۶ |
| | (TC) Tt | ۱۲ (۳۰/۸) | ۱۲ (۳۱/۶) | | | |
| | (CC) tt | ۱۵ (۳۸/۵) | ۱۱ (۲۸/۹) | | | |
| مغلوب | TT+Tt | ۲۴ (۶۱/۵) | ۲۷ (۷۱/۱) | ۰/۷۷۹ | ۱ | ۰/۳۷۷ |
| | tt | ۱۵ (۳۸/۵) | ۱۱ (۲۸/۹) | | | |
| غالب | TT | ۱۲ (۳۰/۸) | ۱۵ (۳۹/۵) | ۰/۶۴۰ | ۱ | ۰/۴۲۴ |
| | Tt+tt | ۲۷ (۶۹/۲) | ۲۳ (۶۰/۵) | | | |
| | کل | ۳۹ (۱۰۰) | ۳۸ (۱۰۰) | | | |

بر اساس نتایج آزمون من‌ویتنی، تفاوت معناداری در مقدار LH و پروژسترون بین افراد دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد (p>۰/۰۵)، ولی بین مقدار FSH و تستوسترون افراد دو گروه اختلاف معناداری وجود داشت (p<۰/۰۵) و مقدار FSH و تستوسترون در افراد گروه کنترل به‌طور معناداری کمتر بود (جدول ۲).

**جدول ۲- مقایسه مقدار هورمون‌های LH، FSH، تستوسترون و پروژسترون بین دو گروه بیمار و شاهد**

| متغیر | گروه | بیمار (۳۸) | شاهد (۳۹) | آماره U | سطح معناداری |
|---|---|---|---|---|---|
| | | انحراف معیار±میانگین | انحراف معیار±میانگین | | |
| LH (IU/L) | | ۱۰/۴۲±۸/۸۱ | ۹/۲۱± ۸/۱۳ | ۶۴۴ | ۰/۳۲۳ |
| FSH (IU/L) | | ۹/۴۹±۲/۴۲ | ۸/۱۸±۵/۱۰ | ۴۹۴/۵۰ | ۰/۰۱۲ |
| تستوسترون (ng/mL) | | ۰/۷۵±۰/۵۵ | ۰/۴۶±۰/۲۱ | ۵۰۷ | ۰/۰۱۷ |
| پروژسترون (ng/mL) | | ۲/۵۶±۱/۶۹ | ۳/۷۸±۲/۸۱ | ۷۱۴ | ۰/۷۸۳ |

بر اساس نتایج آزمون کراسکال والیس در جدول ۳، مقدار LH بین افراد با ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معناداری داشت (p<۰/۰۵). بر اساس نتایج آزمون تعقیبی من‌ویتنی با تعدیل بونفرونی، مقدار هورمون LH در بین افراد با ژنوتیپ TT به‌طور معناداری بیشتر از افراد با ژنوتیپ‌های Tt و tt بود (p=۰/۰۱۰). همچنین مقدار LH در افراد با ژنوتیپ Tt نسبت به افراد با ژنوتیپ tt به‌طور معناداری بیشتر بود (p<۰/۰۵). بر این اساس در گروه شاهد نیز مقدار هورمون LH در بین افراد با ژنوتیپ TT به‌طور معناداری بیشتر از افراد با ژنوتیپ‌های Tt و tt بود (p=۰/۰۰۶)، ولی در بین بیماران، اختلاف معناداری بین مقدار LH در افراد با ژنوتیپ‌های TT، Tt و tt وجود نداشت (p>۰/۰۵) (جدول ۳). در همین راستا در بررسی و مقایسه ژنوتیپ‌های *TaqI* (tt، Tt، TT) با مقادیر FSH، تستوسترون و پروژسترون در دو گروه شاهد و بیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

**جدول ۳- بررسی رابطه پلی‌مورفیسم *TaqI* و مقدار LH (IU/L)**

| | تعداد | TT | تعداد | Tt | تعداد | tt | آماره | سطح معناداری |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | انحراف معیار±میانگین | | انحراف معیار±میانگین | | انحراف معیار±میانگین | | |
| شاهد | ۱۲ | ۱۴/۶۳±۱۱/۲۰ | ۱۲ | ۹/۳۸±۵/۶۷ | ۱۵ | ۴/۷۴± ۲/۹۸ | ۱۰/۰۹۵ | ۰/۰۰۶* |
| بیمار | ۱۵ | ۱۱/۸۵±۱۰/۶۱ | ۱۲ | ۹/۱۰±۴/۵۶ | ۱۱ | ۹/۹۲± ۹/۶۸ | ۰/۷۹۸ | ۰/۶۷۱ |
| کل | ۲۷ | ۱۳/۰۹±۱۰/۷۵ | ۲۴ | ۹/۲۴±۵/۰۴ | ۲۶ | ۷/۰۲± ۶/۹۳ | ۹/۱۸۳ | ۰/۰۱۰* |

* آزمون کراسکال والیس

## بحث

در مطالعه حاضر که با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌های *Taq*I (rs731236, C/T)، در اگزون شماره ۹ از ژن گیرنده ویتامین D با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در میان زنان ایرانی شهر اصفهان و همچنین بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم‌ها با شاخص‌های هورمونی درون‌ریز LH، FSH، تستوسترون و پروژسترون در زنان چاق سالم و چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام شد، در بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم *Taq*I و سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، ارتباط معنی‌داری بین آلل‌ها و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم *Taq*I، با بیماری PCOS وجود نداشت که این نشان می‌دهد در جامعه مورد مطالعه ما بیماری PCOS با ژنوتیپ خاص از *Taq*I در ارتباط نیست.

نقطه پلی‌مورفیسم *Taq*I در ناحیه تنظیمی '3 ژن VDR به همراه نقاط پلی‌مورفیسم *Bsm*I و *Apa*I قرار دارد. این بخش از ژن در فرآیندهایی نظیر تنظیم بیان ژن و پایداری mRNA دارای عملکرد می‌باشد. از این‌رو به نظر می‌رسد واریانت ژنتیکی در این منطقه بر تنظیم بیان ژن مؤثر باشد (۱۶).

در تأیید یافته‌های مطالعه حاضر در این مورد، محمودی (۲۰۰۹)، در آنالیز فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR، (rs731236, C/T) *Taq*I به روش PCR-RFLP، در جمعیتی از زنان سالم و مبتلا به PCOS از ایران، نشان دادند که ارتباطی بین فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های *Taq*I با بیماری PCOS وجود ندارد، در مطالعه آنها فقط یک ارتباط معنی‌دار در ژنوتیپ CC از پلی‌مورفیسم‌های *Apa*I با بیماری PCOS مشاهده شد (۱۷).

در مطالعه رنج‌زاد و همکاران (۲۰۱۱) نیز بین پلی‌مورفیسم‌های *Taq*I، *Apa*I، *Bsm*I *Fok*I و *Tru*9I با PCOS ارتباطی وجود نداشت (۱۸). در همین راستا در مطالعه گروهی ور و همکاران (۲۰۱۱) بر روی زنان اتریشی در ارتباط با پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR انجام دادند، ارتباطی بین پلی‌مورفیسم‌های *Taq*I و پلی‌مورفیسم‌های *Apa*I، *Fok*I، *Bsm*I و *Cdx*2 (rs11568820, A/G) با بیماری سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مشاهده نشد (۱۹).

در مطالعه موردی- کنترلی داسگوپتا و همکاران (۲۰۱۵) که پلی‌مورفیسم‌های *Apa*I، *Fok*I، *Cdx*2 و *Taq*I ۲۵۰ بیمار PCOS و ۲۵۰ زن سالم از جمعیت هندوستان مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت، تأثیر پلی مورفیسم‌ها بر شاخص‌های PCOS تأیید شد که در نتایج به‌دست آمده برای *Taq*I، ارتباطی در توزیع آلل‌ها و ژنوتیپ خاص با بیمار PCOS مشاهده نشد (۲۰). در مطالعه جدرزوک و همکاران (۲۰۱۵) بر روی پلی‌مورفیسم‌های *Apa*I، *Bsm*I، *Fok*I و *Taq*I که در یک جمعیت محدود از سیسیلیا انجام شد نیز هیچ همبستگی و ارتباطی در توزیع آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در گروه بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و کنترل وجود نداشت (۲۱).

برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه باقری و همکاران (۲۰۱۲) که بر روی جمعیتی از زنان آذری ایرانی و به منظور پیدا کردن ارتباط پلی‌مورفیسم *Taq*I و PCOS انجام شد، شیوع بالا و معنی‌دار سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با ژنوتیپ CC (tt) در گروه بیمار مشاهده شد (۲۲).

در تأیید یافته‌های مطالعه باقری، در مطالعه ال شال و همکاران (۲۰۱۳) در مصر که به منظور روشن ساختن احتمال ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های *Taq*I و *Apa*I از گیرنده VDR و استعداد ابتلاء به PCOS و تأثیر آن بر پارامترهای متابولیک، ویتامین D و سطوح هورمونی صورت گرفت، با در نظر گرفتن فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها، تفاوت معنی‌دار فقط بین گروه‌ها در آلل C ($p<۰/۰۵$) و ژنوتیپ CC ($p=۰/۰۰۱$) برای *Taq*I مشاهده شد که یک شیوع بالا در گروه مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را نشان می‌داد و نشان داده شد که آلل C پلی‌مورفیسم *Taq*I، در زنان چاق در مقایسه با زنان لاغر در گروه PCOS فراوان‌تر بود (۲۳).

در مجموع اگرچه بیشتر مطالعات همانند نتایج مطالعه حاضر عدم ارتباط پلی‌مورفیسم خاص *Taq*I را با بیماری PCOS نشان دادند، ولی باز ممکن است برخی

ژنوتیپ‌ها در برخی خزانه ژنی جمعیت‌ها، همچون CC با این بیماری و علائم آن در ارتباط باشد.

در مطالعه حاضر همچنین در مقایسه شاخص‌های هورمونی بین گروه کنترل و بیمار، مقادیر هورمون LH و پروژسترون بین دو گروه معنی‌دار نبود، ولی در شاخص هورمونی FSH و تستوسترون بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت؛ به‌طوری‌که مقدار این دو هورمون در گروه بیمار PCOS نسبت به گروه کنترل در سطح بالایی قرار داشت.

یکی از محکم‌ترین یافته‌های تحقیقات بالینی در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، بالا رفتن سطوح هورمونی LH و بالا بودن نسبت LH به FSH می‌باشد که حاصل درگیری عوامل مختلف و تقویت اختلالات ایجاد شده در یک دور ناقص همچون اختلال در محور هیپوتالاموس و هیپوفیز است (۲۴، ۲۵) که در مطالعات متعدد نیز بارها این نتیجه تأیید شده است (۲۶، ۲۷). در مطالعه حاضر اگرچه مقادیر LH در گروه بیمار بیشتر بود، ولی در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود که ممکن است معنی‌دار بودن شاخص سن بین دو گروه و کوچک بودن جامعه آماری مورد مطالعه و چاقی در این نتیجه تأثیر داشته باشد. به‌طور خاص، بارها گزارش شده است که زنان با وزن طبیعی و مبتلا به PCOS، غلظت بالاتری از LH را در مقایسه با زنان چاق بیمار PCOS نشان می‌دهند (۲۴، ۲۵).

اختلالات وابسته به آندروژن همچون PCOS، معمول‌ترین اختلال در سن تولید مثلی است که ۱۲-۷٪ زنان را در سراسر دنیا تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۸). اکثر تحقیقات اخیر از این ایده که زیادی آندروژن، یک معیار برای تشخیص این سندرم است، را حمایت می‌کنند. زنان با بیماری PCOS اغلب یک سطح بالایی از هر دو شکل تستوسترون آزاد و کل را دارا هستند، بنابراین یک افزایش شدید در تستوسترون در بدن زنان می‌تواند قاعدگی را مختل و تخمک‌گذاری طبیعی را سرکوب کند (۲۸، ۲۹).

در مطالعات جدرزوک و همکاران (۲۰۱۵) در مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی و تن‌سنجی نشان داده شد که زنان مبتلا به PCOS دارای دور کمر، شاخص توده بدنی، تستوسترون و شاخص آندروژن آزاد بالا و سطوح پایین برای SHBG[1] هستند (۲۱).

در مطالعه حاضر در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم‌های *TaqI* با مقادیر هورمون‌های FSH، LH، تستوسترون و پروژسترون، مقدار هورمون LH در بین افراد کل با ژنوتیپ TT به‌طور معناداری بیشتر از افراد با ژنوتیپ‌های Tt و tt بود. همچنین در مقدار سایر شاخص‌های هورمونی (FSH، تستوسترون و پروژسترون) بین افراد با ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معناداری مشاهده نشد.

در مطالعه ال شال و همکاران (۲۰۱۳) حاملین هاپلوتایپ CC در گروه کنترل مقادیر پایین از 25(OH)D و مقادیر بالا از تستوسترون کل، تستوسترون آزاد، دی هیدرواپی آندرستندیون سولفات و سطوح آندرستندیون را نشان دادند (۲۳). در همین راستا در مطالعه رنجزاد و همکاران (۲۰۱۱)، یک ارتباط بین ژنوتیپ CC *TaqI* از ژن VDR با سطوح بالای LH در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مشاهده شد (۱۸)، این در حالی است که در مطالعه مشابه ور و همکاران (۲۰۱۱)، هیچ ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های *Fok*I، *Bsm*I و *Taq*I با شاخص‌های متابولیک، غدد درون‌ریز و تن‌سنجی مشاهده نشد (۱۹).

مطالعه داسگوپتا و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که در حاملین ژنوتیپ TT از *Taq*I مقادیر FSH و هورمون محرکه غده تیروئید (TSH) و سطوح کلسترول در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در جمعیت بیمار به‌طور معنی‌داری بالاست و حاملین ژنوتیپ CC (tt)، یک میانگین بالا از تستوسترون و زنان با ژنوتیپ هتروزیگوت (Tt)، سطوح بالایی از LH، FSH و کلسترول را دارند (۲۰).

نتایج به‌دست آمده از سایر پژوهش‌ها گویای ارتباط برخی ژنوتیپ‌ها با شاخص‌های هورمونی در زنان سالم یا مبتلا به PCOS در جوامع مختلف است که به‌دلیل تناقض و پراکندگی در نتایج، بالا و پایین شدن هورمونی را نمی‌توان به ژنوتیپ خاصی نسبت داد.

[1] Sex Hormone Binding Glubolin

## نتیجه‌گیری

در جمعیت زنان مورد مطالعه، پلی‌مورفیسم *Taq*I ارتباطی با خطر سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ندارد، اما افراد واجد ژنوتیپ TT در پلی‌مورفیسم *Taq*I دارای سطح بالاتری از هورمون LH نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها هستند. همچنین هیچ ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های tt، Tt وTT با هورمون‌های FSH، تستوسترون و پروژسترون مشاهده نشد. به منظور روشن شدن موضوع و توجیه تناقضات موجود، انجام مطالعه بر روی جمعیت بزرگ‌تر با ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی بیشتر توصیه می‌شود.

## تشکر و قدردانی

طرح تحقیقاتی حاضر با همکاری قطب ترانسژنزیز دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان) انجام گرفت. بدین‌وسیله از همکاران محترم مرکز جناب آقای دکتر شاهین اقبال سعید، آقای فرزاد رشیدی و آقای مجتبی شفیعی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع


1. Randeva HS, Tan BK, Weickert MO, Lois K, Netler JE, Sattar N, et al. Cardiometabolic aspects of the polycystic ovary syndrome. Endocr Rev 2012; 33(5):812-41.
2. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(6):2745-9.
3. Kubota T. Update in polycystic ovary syndrome: new criteria of diagnosis and treatment in Japan. Reprod Med Biol 2013; 12(3):71-7.
4. Hashemipour M, Faghihimani S, Zolfaghary B, Hovsepian S, Ahmadi F, Haghighi S. Prevalence of polycystic ovary syndrome in girls aged 14-18 years in Isfahan, Iran. Horm Res 2004; 62(6):278-82.
5. Tehrani FR, Simbar M, Tohidi M, Hosseinpanah F, Azizi F. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample of Iranian population: Iranian PCOS prevalence study. Reprod Biol Endocrinol 2011; 9:39.
6. Balen A. The pathophysiology of polycystic ovary syndrome: trying to understand PCOS and its endocrinology. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2004; 18(5):685-706.
7. Jones G, Strugnell SA, Deluca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. Physiol Rev 1998; 78(4):1193-231.
8. Nardo LG, Patchava S, Laing I. Polycystic ovary syndrome: pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. Panminerva Med 2008; 50(4):267-78.
9. Norman RJ, Dewailly D, Legro RS, Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. Lancet *2007*; 370(9588):685-97.
10. Diamanti-Kandarakis E, Kandarakis H, Legro RS. The role of genes and environment in the etiology of PCOS. Endocrine *2006*; 30(1):19-26.
11. Naderi N, Farnood A, Habibi M, Derakhshan F, Balaii H, Motahari Z, et al Association of vitamin D receptor gene polymorphisms in Iranian patients with inflammatory bowel disease. J Gastroenterol Hepatol 2008; 23(12):1816-22. (Persian).
12. Forouhari S, Heidari Z, Tavana Z, Mihanpour H, Sayadi M, Shayan A, et al. Effect of some hormones related to polycystic ovary syndrome on health-related quality of life. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2016; 18(186):17-27. (Persian).
13. Waterworth DM, Bennett ST, Gharani N, McCarthy MI, Hague S, Batty S, et al. Linkage and association of insulin gene VNTR regulatory polymorphism with polycystic ovary syndrome. Lancet 1997; 349(9057):986-90.
14. Peral B, *San* Millán JL, Castello R, Moghetti P, Escobar-Morreale HF. The methionine 196 arginine polymorphism in exon 6 of the TNF receptor 2 gene (TNFRSF1B) is associated with the polycystic ovary syndrome and hyperandrogenism. J Clin Endocrinol Metabol 2002; 87(8):3977-83.
15. Irani M, Mirzaei K, Maleki N, Entezari E. The role of vitamin D in male and female reproductive health: a review study. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2017; 20(3):98-109. (Persian).
16. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs J, Pols H, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. Gene 2004; 338(2):143-56.
17. Mahmoudi T. Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. Fertil Steril 2009; 92(4):1381-3.
18. Ranjzad F, Mahban A, Shemirani AI, Mahmoudi T, Vahedi M, Nikzamir A, *et al.* Influence of gene variants related to calcium homeostasis on biochemical parameters of women with polycystic ovary syndrome. J Assist Reprod Genet *2011;* 28(3):225-32.

19. Wehr E, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Effect of vitamin D3 treatment on glucose metabolism and menstrual frequency in polycystic ovary syndrome women: a pilot study. J Endocrinol Invest 2011; 34(10):757-63.
20. Dasgupta S, Dutta J, Annamaneni S, Kudugunti N, Battini MR. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome among Indian women. Indian J Med Res *2015;* 142(3):276-85.
21. Jedrzejuk D, Łaczmański Ł, Milewicz A, Kuliczkowska-Płaksej J, Lenarcik-Kabza A, Hirnle L, *et al.* Classic PCOS phenotype is not associated with deficiency of endogenous vitamin D and VDR gene polymorphisms rs731236 (TaqI), rs7975232 (ApaI), rs1544410 (BsmI), rs10735810 (FokI): a case-control study of lower Silesian women. Gynecol Endocrinol *2015;* 31(12):976-9.
22. Bagheri M, Rad IA, Jazani NH, Nanbakhsh F. Lack of association of vitamin D receptor FokI (rs10735810) (C/T) and BsmI (rs1544410) (A/G) genetic variations with polycystic ovary syndrome risk: a case-control study from Iranian Azeri Turkish women. Maedica *2012;* 7(4):303-8.
23. El-Shal AS, Shalaby SM, Aly NM, Rashad NM, Abdelaziz AM. Genetic variation in the vitamin D receptor gene and vitamin D serum levels in Egyptian women with polycystic ovary syndrome. Mol Biol Rep 2013*;* 40(11):6063-73.
24. Marx TL, Mehta ME. Polycystic ovary syndrome: pathogenesis and treatment over the short and long term. Cleve Clin J Med 2003; 70(1):31-45.
25. Panidis D, Farmakiotis D, Rousso D, Katsikis I, Kourtis A, Diamanti-Kandarakis E. Serum luteinizing hormone levels are markedly increased and significantly correlated with D4-androstenedione levels in lean women with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2005; 84(2):538-40.
26. Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, et al. Determinants of abnormal gondotropin secretion in clinically efined women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocronol Metab 1997; 82(7):2248-56.
27. Waldstreicher J, Santoro NF, Hall JE, Filicori M, Crowley JR WF. Hyperfunction of the hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66(1):165-72.
28. Swellam M, Khaial A, Mosa T, El-Baz H, Said M. Anti-mullerian and androgens hormones in women with polycystic ovary syndrome undergoing IVF/ICSI. Iran J Reprod Med 2013; 11(11):883-90.
29. Hashemi AH, Mozdarani H, Naghavi A. Comparison of the levels of LH and FSH, TSH, prolactin, progesterone and estradiol hormones between Iranian infertile women with polycystic ovary syndrome and healthy women. Int J Med Res Health Sci 2016; 5(12):370-5.