

Effect of BMI on anti-Mullerian hormone gene expression in granulosa cells and blood biochemical parameters in patients with polycystic ovary syndrome

Nouri M¹, Gharemanzadh K², Bijanpour H³, Aghadavod E^{4*}

1- Women's Reproductive Health Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I. R, Iran.

2- Department of Clinical Laboratory, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I. R, Iran.

3- Cardiovascular Health Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I. R, Iran.

4- Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R, Iran.

Received September 15, 2015; Accepted November 11, 2015

Abstract:

Background: Polycystic ovary syndrome (PCOS) often induces reduced ovulation, infertility and hyperandrogenism. Many PCOS cases manifest different degrees of obesity. The increased body mass index (BMI) may interfere with a successful reproduction. The purpose of this study was to assess the effect of increasing BMI on anti-Mullerian hormone (AMH) gene expression in granulosa cells and also biochemical factors among PCOS cases.

Materials and Methods: This cross-sectional study was carried out on 80 patients (mean age 20-35 y with PCOS or other non-PCOS infertility disorders) referred to Tabriz-Alzahra Fertility Center. Based on obesity degree and its signs, the cases were divided to four groups. In the same day of isolating oocytes, granulosa cells and serum were taken for gene expression and the analysis of biochemistry factors, respectively.

Results: AMH gene expression level were higher in PCOS compared to normal cases ($P < 0.05$). While increasing BMI in the patients didn't show a significant decrease of AMH gene expression ($r = -0.07$), a significant positive correlation was observed between AMH and insulin resistance ($r = 0.34$, $P < 0.05$).

Conclusion: AMH gene expression in PCOS cases is affected by the disease phenotype. Insulin resistance plays an important role in increasing serum AMH.

Keywords: Polycystic ovary syndrome, BMI, Anti-Mullerian hormone, Insulin resistance

* Corresponding Author.

Email: Aghadavod@kaums.ac.ir

Tel: 0098 913 412 2334

Fax: 0098 315 554 1112

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2016; Vol. 20, No 1, Pages 57-63

Please cite this article as: Nouri M, Gharemanzadh K, Bijanpour H, Aghadavod E. Effect of BMI on anti-Mullerian hormone gene expression in granulosa cells and blood biochemical parameters in patients with polycystic ovary syndrome. *Feyz* 2016; 20(1): 57-63.

تاثیر ضریب توده بدن بر بیان ژن آنتی مولرین هورمون در سلول‌های گرانولوزا و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در بیماران مبتلا به سندروم تخمدان پلی کیستیک

محمد نوری^۱، کاظم قهرمانزاده^۲، حسین بیژن پور^۳، عصمت آقادات جلفائی^{۴*}

خلاصه:

سابقه و هدف: سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) اغلب باعث کاهش اوولاسیون، ناباروری و هیپرآندروژنیسم می‌گردد. بسیاری از زنان مبتلا چاقی را در درجات متفاوتی از خود نشان می‌دهند. افزایش شاخص توده بدن (BMI) ممکن است باعث اختلال در درمان موفق باروری شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر افزایش BMI بر بیان ژن آنتی مولرین هورمون (AMH) در سلول‌های گرانولوزا و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون در بیماران مبتلا به سندروم تخمدان پلی کیستیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تحلیلی-مقطعی در سال ۱۳۹۰ بر روی ۸۰ بیمار مبتلا به PCOS و ۱۰ بیمار با اختلالات نازایی دیگر به غیر از PCOS با درجات متفاوت BMI و متوسط سن ۲۰-۳۵ سال که به مرکز باروری الزهرا تبریز مراجعه کرده بودند، انجام شد. بیماران بر اساس چاقی و دارا بودن علائم بیماری PCOS به چهار گروه تقسیم شدند. در روز برداشت اووسیت، سلول‌های گرانولوزا جهت بررسی بیان ژن آنتی مولرین و سرم خون بیماران جهت اندازه گیری فاکتورهای بیوشیمیایی جمع‌آوری گردید.

نتایج: میزان بیان ژن AMH در افراد بیمار به‌طور معنی‌داری بالاتر از افراد نرمال بود ($P < 0.05$). درحالی‌که با افزایش BMI در افراد بیمار میزان بیان ژن AMH کاهش معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$ و $r = -0.07$). از طرف دیگر یک ارتباط مثبت و معنی‌دار بین AMH و مقاومت به انسولین وجود داشت ($P < 0.05$ و $r = 0.34$).

نتیجه‌گیری: میزان بیان ژن AMH تحت تاثیر فنوتیپ بیماری قرار داشته و میزان مقاومت به انسولین در بیماران PCOS نقش مهمی در افزایش مقدار AMH سرمی ایفا می‌کند.

واژگان کلیدی: سندروم تخمدان پلی کیستیک، ضریب توده بدن، آنتی مولرین هورمون، مقاومت به انسولین

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۶۳-۵۷

مقدمه

این سندروم باعث بروز ناباروری بدون تخمک گذاری در بین زنان قبل از سن منوپوز می‌گردد و دارای سه ویژگی اساسی است که شامل هیپرآندروژنیسم، حضور تعداد کیست‌های فولیکولی در داخل تخمدان و عدم تخمک گذاری مزمن می‌باشد [۲]. غالباً این‌طور تصور می‌شود که افزایش آندروژن‌ها باعث تداخل با مراحل بلوغ فولیکولی و به دنبال آن بروز فنوتیپ PCOS می‌گردد [۳]. فنوتیپ تخمدان در سندروم پلی کیستیک به‌صورت یک افزایش پشت سر هم تعداد فولیکول آنترال در زیر یک کپسول ضخیم شده می‌باشد که رشد این فولیکول‌ها در مرحله انتخاب فولیکول غالب، متوقف شده است؛ اکثریت این فولیکول‌ها مارکرهای بروز آترزی را نشان نمی‌دهند [۴]. یک تخمدان PCOS تخمدانی است که حاوی ۱۲ فولیکول و یا بیشتر بوده که قطر آنها ۲۹ mm و حجم تخمدان در بیماران حدود ۱۰ ml یا بیشتر است [۵]. آنتی مولرین هورمون یک عضو از سوپر خانواده β -Transforming growth factor (TGF- β) است که یک همودیمر گلیکوپروتئینی با اتصالات دی-سولفیدی است و توسط سلول‌های گرانولوزا (خارجی‌ترین لایه فولیکول پری اوولاتور) تولید می‌شود [۶]. بیشترین مقدار تولید آنتی مولرین هورمون توسط سلول‌های گرانولوزا فولیکول‌های پره-آنترال و آنترال تولید می‌شود و از این‌رو به‌نظر می‌رسد که مقدار

سندروم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) polycystic ovary syndrome یک اختلال اندوکرینی شایع است که حدود ۶-۸ درصد زنان در سن تولید مثل را گرفتار می‌کند و اصلی‌ترین علت نازایی به دلیل عدم تخمک گذاری می‌باشد و پاتوژنز قطعی بیماری هنوز ناشناخته است [۱]. مطالعات اخیر بر این موضوع تاکید دارند که ممکن است چندین عامل در اختلالات فولیکوژنز اثر داشته باشند.

^۱ استاد، مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۲ استادیار، اداره امور آزمایشگاه‌های بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۳ کارشناسی ارشد انگل شناسی، مرکز تحقیقات سلامت قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۴ استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

*نشانی نویسنده مسئول:

کاشان، کیلومتر ۵ بلوار قطب روانی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک

دورنویس: ۰۳۱۵۵۴۱۱۱۲

تلفن: ۰۹۱۳۴۱۲۲۳۳۴

پست الکترونیک: Aghadavod@kaums.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۸/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۲۴

داشتن حداقل دو ویژگی از معیارهای Rotterdam بود و در گروه غیر PCOS بیمارانی که به علت مشکلات در باروری مردانه و یا به علت اختلالات توبول رحمی به مرکز باروری مراجعه کرده بودند، به صورت تصادفی انتخاب شدند. معیارهای خروج از مطالعه سابقه ابتلا به بیماری‌های غدد آدرنال و یا تیروئید، سابقه ابتلا به بیماری‌های التهابی و سیستم ایمنی و سابقه هیپرپرولاکتینمی و سندروم کوشینگ بود. همچنین، براساس شاخص توده بدن بیماران به زیر گروه‌های دارای وزن نرمال و دارای افزایش وزن تقسیم شدند. به طور کلی بیماران به چهار گروه تقسیم شدند که عبارت بودند از: الف) بیماران PCOS با $25 \leq BMI \leq 29.9$ ؛ ب) بیماران PCOS با $BMI \leq 24.9$ [Overweight]؛ ج) بیماران غیر PCOS با $BMI \leq 18.5$ [Normal weight]؛ د) بیماران غیر PCOS با $25 \leq BMI \leq 29.9$ [Overweight]؛ و ه) بیماران غیر PCOS با $BMI \leq 24.9$ [Normal weight]. در روز نمونه‌گیری ابتدا از هریک از بیماران ۵ cc نمونه خون به منظور انجام آزمایشات خونی تهیه گردید. پس از برداشت اووسیت‌ها، مایع فولیکولی بیماران در لوله‌های استریل جمع‌آوری شده و به سرعت به آزمایشگاه انتقال داده شد. پس از سانتریفوژ نمونه‌ها با دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۳ دقیقه، رسوب حاصل بر روی محلول فایکول جهت سانتریفوژ گرادینت غلظتی انتقال داده شد و نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰ rpm سانتریفوژ گردید. سپس، سلول‌های گرانولوزا برداشت شده، ۲ الی ۳ مرتبه با محلول بافر فسفات شستشو داده شده و جهت انجام آزمایشات ملکولی در فریزر -۸۰ تا شروع آزمایشات ذخیره گردیدند. طراحی پرایمرهای ژن AMH و GAPDH (Housekeeping Gene) توسط نرم افزار Beacon Designer و Oligo 7 انجام شد و پس از انجام برنامه BLAST، پرایمرها از شرکت تکاپوزیست ایران-تهران خریداری گردید. در شرایط استریل RNA نمونه‌ها با استفاده از کیت RNX-Plus از شرکت سیناکلون، ایران-تهران، استخراج گردید و کیفیت RNA با دستگاه NanoDrop ارزیابی گردید. سپس، نمونه‌ها با کیت MMLV-RT-PCR از شرکت سیناکلون به cDNA تبدیل گردید. میزان بیان ژن AMH توسط دستگاه Bio-Rad iQ5 systems سنجیده شد. همچنین، آنالیز نتایج QRT-PCR توسط روش Paffafi-qPCR انجام شد. آزمایشات سرمی نمونه‌ها شامل اندازه‌گیری سطح سرمی AMH، تست سترون، استرادیول، پروژسترون، LH، FSH، انسولین و گلوکز بود. آزمایشات اندازه‌گیری AMH، تست سترون، استرادیول، پروژ-سترون و دیگر فاکتورهای مورد بررسی به روش ایمینواسی و با کیت (Architect Reagent Kits; Abbott Laboratories,)

این هورمون در بدن تحت تاثیر تعداد فولیکول آنترال در تخمدان می‌باشد [۷]. در مدل‌های آزمایشگاهی PCOS ثابت شده است که سطح تولید AMH توسط سلول‌های گرانولوزا افزایش می‌یابد، اما هنوز مشخص نشده است آیا مقدار افزایش یافته هورمون آنتی-مولرین در بیماری PCOS نتیجه افزایش تعداد فولیکول‌های آنترال است و یا خود فولیکول‌ها مقادیر زیادی AMH را ترشح می‌کنند [۸]. مطالعات نشان می‌دهد فنوتیپ سندروم تخمدان پلی‌کیستیک و اثرات آن بر عملکرد تولید مثل به شدت تحت تاثیر چاقی است که در شروع دارای اثرات ژنتیکی و محیطی می‌باشد؛ سپس اغلب زنان دچار افزایش وزن می‌شوند. چاقی اثر منفی بر عملکرد متابولیسم هورمونی بدن دارد و زنان توزیع چربی بسیار متفاوتی را نشان می‌دهند [۹]. توزیع چربی به ویژه فرم شکمی همراه با اختلالات مقاومت انسولینی و نقص در تحمل گلوکز می‌باشد [۱۰]. به طور کلی زنان چاق بدون سندروم تخمدان پلی‌کیستیک دچار اختلالات باروری می‌گردند و در زنان چاق مبتلا به این بیماری مشکلات شدیدتر است؛ چرا که اغلب این زنان با پدیده هیپرانسولینمیا و درجات متفاوت هیپراندریژنمیا مواجه هستند که به طور مثبت و معنی‌داری با افزایش وزن ارتباط دارد [۱۱]. از طرف دیگر مطالعات نشان می‌دهد سندروم تخمدان پلی‌کیستیک ریسک بالا برای مقاومت انسولینی و هیپراندریژنمیا در بیماران ایجاد می‌نماید و میزان آنها تحت تاثیر چاقی و افزایش وزن می‌باشد [۱۲]. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر افزایش شاخص توده بدن بر بیان ژن آنتی‌مولرین هورمون در سلول‌های گرانولوزا و همچنین بررسی ارتباط بین افزایش وزن بر فاکتورهای بیوشیمیایی - کلینیکی بیماران مبتلا به سندروم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد.

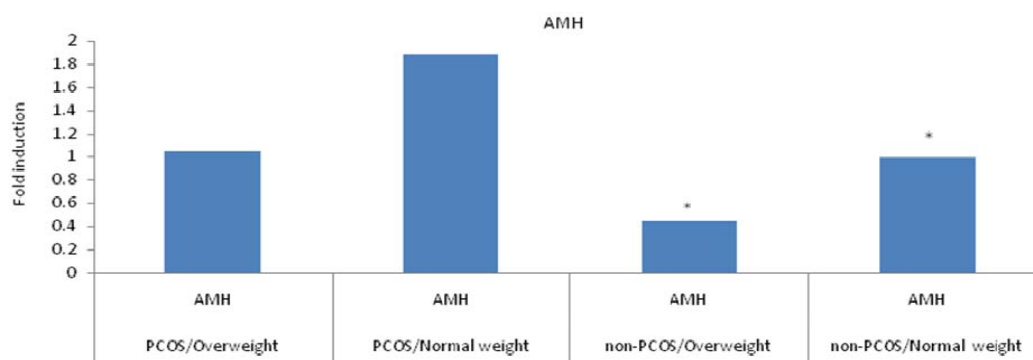
مواد و روش‌ها

این مطالعه تحلیلی - مقطعی بر روی ۸۰ بیمار با متوسط سن ۲۰-۳۵ سال که به علت مشکل نازایی در سال ۱۳۹۰ به مرکز باروری الزهرا-تبریز مراجعه کرده بودند انجام شد. از کلیه بیماران فرم رضایت آگاهانه جهت شرکت در مطالعه تهیه شد. در طی مطالعه بیماران هیچ دارویی که با عملکرد طبیعی محور هیپوفیز-هیپوتالاموس تداخل می‌کرد مصرف نکردند. بیماران برحسب معیارهای سازمان بهداشت جهانی WHO و معیارهای Rotterdam به چهار گروه تقسیم شدند. معیارهای Rotterdam عبارتند از داشتن علائم اولیگوآموره یا آمنوره؛ بروز هیپراندریژنسم؛ و مشاهده حداقل ۱۰ الی ۱۲ عدد کیست در هر تخمدان توسط سونوگرافی. معیارهای ورود بیماران به این مطالعه در گروه بیماران PCOS،

گرفت. ضریب همبستگی اسپیرمن برای تعیین ارتباط بین افزایش BMI با هریک از متغیرها به کار برده شد و در تمام موارد $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

میزان بیان نسبی ژن AMH در مقایسه با ژن GAPDH در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.



نمودار شماره ۱- Fold induction بیان ژن AMH به صورت $\bar{X} \pm SD$ نمایش داده شده است.

* تفاوت معنی دار گروه نسبت به گروه کنترل است ($P < 0.05$)

بیماران Non-PCOS بالاتر بود ($P < 0.05$) و سطح سرمی LH در گروه بیماران PCOS/overweight نسبت به گروه PCOS/normal weight در حدود ۲۰ درصد کاهش نشان داد و این مقدار در گروه بیماران Non-PCOS/overweight نسبت به گروه Non-PCOS/normal weight در حدود ۲۷ درصد کاهش داشت. سطح سرمی FSH در بیماران PCOS نسبت به بیماران Non-PCOS کمتر بود ولی مقدار آن در بیماران PCOS/overweight نسبت به گروه PCOS/normal weight تفاوت چندانی نشان نداد. همچنین، سطح سرمی تستوسترون در هر یک از گروه‌های بیماران تفاوت فاحشی نداشت. در این مطالعه بررسی میزان همبستگی بین هریک از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون با افزایش سن، وزن و فاکتور مقاومت به انسولین در جدول شماره ۲ بررسی شده است. این جدول نشان می‌دهد میزان همبستگی AMH با افزایش سن کاهش یافته و یک ارتباط منفی بین سطح سرمی AMH با افزایش BMI وجود دارد ($P < 0.05$). همچنین، سطح سرمی LH با افزایش BMI کاهش معنی دار می‌یابد ($P < 0.05$).

USA) و اندازه‌گیری گلوکز به روش گلوکز اکسیداز انجام شد. لازم به ذکر است از بین نمونه‌های سرمی تهیه شده دو عدد از نمونه‌ها به علت همولیز و هایپرلیپیدمی بیماران و نتایج کاذب از مطالعه خارج شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد و داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm SD$ بیان گردید. تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آزمون ANOVA One-way برای متغیرهای دارای توزیع نرمال و آزمون Kruskal-Wallis برای متغیرهای دارای توزیع غیر نرمال مورد بررسی قرار

نمودار شماره ۱ بیانگر نتایج qRT-PCR برای بیان mRNA ژن AMH بعد از نرمالیزه شدن با ژن GAPDH در هر گروه بیماران است و نشان می‌دهد که بیان ژن AMH در گروه بیماران PCOS با ضریب توده بدنی نرمال نسبت به گروه بیماران non-PCOS/Normal weight افزایش می‌یابد؛ درحالی‌که میزان بیان نسبی ژن AMH در گروه بیماران PCOS/overweight در مقایسه با گروه PCOS/Normal weight کاهش می‌یابد. نتایج آزمایشات کلینیکی و بیوشیمیایی سرم خون بیماران در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. جدول مذکور نشان می‌دهد مقدار سطح سرمی AMH در بیماران PCOS نسبت به بیماران Non-PCOS بالاتر است ($P < 0.05$). همچنین، سطح سرمی AMH در گروه بیماران PCOS/overweight نسبت به گروه PCOS/normal weight در حدود ۳۱ درصد کاهش نشان داد. سطح سرمی AMH در گروه بیماران Non-PCOS/overweight نسبت به گروه Non-PCOS/normal weight در حدود ۸ درصد کاهش نشان داد و این نشان می‌دهد که احتمالاً افزایش شاخص توده بدن ممکن است باعث کاهش AMH در بیماران گردد. همچنین، سطح سرمی LH در بیماران PCOS نسبت به

جدول شماره ۱- نتایج آزمایشات کلینیکی و بیوشیمیایی سرم خون بیماران مورد مطالعه

Non-PCOS/ Normal weight	Non-PCOS/ Overweight	PCOS/ Normal weight	PCOS/ Overweight	فاکتورها
۲۰	۱۹	۱۹	۲۰	تعداد افراد
۲۸/۹±۴/۲	۲۸±۲/۳	۲۸/۱±۴/۱	۲۹±۴/۹	سن (سال)
۲۲/۵±۱/۲	۲۸/۱±۲/۱	۲۳±۱/۹	۲۸/۴±۲/۷	BMI (kg/m ²)
۷/۲±۲/۳	۷±۲/۵	۵/۹±۱/۷ ^{c,d}	۵/۶±۱/۷ ^b	FSH (IU/L)
۶/۵±۳	۴/۸±۲/۱ ^e	۹/۲±۶/۵ ^{c,d}	۷/۴±۴/۵ ^{a,b}	LH (IU/L)
۱/۰±۰/۲	۰/۹±۰/۱	۱/۶±۰/۸ ^{c,d}	۱/۴±۰/۹ ^b	LH/FSH
۸۱/۷±۲۰/۳	۸۲/۵±۲۲/۲	۵۰/۲±۱۹/۱ ^{c,d}	۶۱/۲±۳۱/۱ ^b	Estradiol (pg/ml)
۰/۷±۰/۴	۰/۸±۰/۲	۱/۱±۰/۵	۱/۲±۰/۶	Progesterone (ng/ml)
۲/۸±۱/۸	۲/۶±۲/۱	۳/۹±۱/۳ ^c	۲/۷±۱/۵ ^a	AMH (ng/ml)
۱/۲±۰/۵	۱/۷±۰/۴	۲±۰/۷	۱/۹±۰/۴	Testosterone (ng/ml)
۹۵/۴۲±۱۴/۳۲	۱۲۰/۴۶±۳۱ ^c	۱۱۰/۹۶±۱۴/۵ ^c	۱۳۱/۹۶±۳۰/۵	Glucose (mg/dl)
۱۳/۷±۲/۷	۱۹/۶±۱/۸ ^c	۱۱/۶±۲/۵ ^c	۲۴/۷±۹/۶ ^a	Insulin (μmol/L)
۲/۳±۰/۴	۲/۵±۱/۱	۵/۸±۰/۹ ^{c,d}	۷/۳±۱/۴ ^a	HOMA-IR
۹/۱±۲/۱	۷/۲±۱/۲	۱۷/۲±۴ ^{c,d}	۱۲/۷±۳ ^{a,b}	NO. Follicle

مقدارها به صورت $\bar{X} \pm SD$ نشان داده شده است و $P < 0.05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شده است.

a: تفاوت معنی دار بین PCOS/overweight با PCOS/normal weight؛ b: تفاوت معنی دار بین PCOS/overweight با Non-PCOS/overweight؛ c: تفاوت معنی دار بین PCOS/normal weight با Non-PCOS/normal weight؛ d: تفاوت معنی دار بین PCOS/normal weight با Non-PCOS/normal weight؛ e: تفاوت معنی دار بین PCOS/normal weight با Non-PCOS/normal weight

بحث

بنابر نتایج مطالعات انجام شده در ۷۰-۳۰ درصد موارد زنان مبتلا به PCOS چاقی را با درجات متفاوت از خود بروز می دهند. یکی از اختلالات اصلی در بیماری PCOS اختلال در فولیکولوزن طبیعی است. مطالعات نشان می دهد که در تخمدان های پلی کیستیک یک منبع عظیم از فولیکول های در حال رشد از کلاس ۵-۱ (فولیکول های با قطر کمتر از ۵ میلی متر) وجود دارد. هم چنین، مراحل انتخاب فولیکول غالب و به دنبال آن بلوغ فولیکول انجام نمی شود که علت این تغییرات هنوز ناشناخته است [۳]. این طور گمان می رود که AMH ممکن است در به خدمت گرفتن فولیکول های پریموردیال و آغاز رشد سیکلیک فولیکول های در حال رشد دخالت داشته باشد؛ بنابراین AMH ممکن است در اختلالات فولیکولوزن در بیماران PCOS دخیل باشد [۱۳]. لذا، می توان بیان کرد که مقدار AMH سرمی با تعداد فولیکول های نابالغ موجود در تخمدان ارتباط دارد و بنابراین افزایش مقدار AMH سرمی باعث اختلال در انتخاب فولیکول غالب می گردد. در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است که میزان بیان ژن AMH در گروه بیماران PCOS افزایش می یابد ولیکن افزایش بیان ژن AMH تحت تاثیر فتوتیپ بیماری قرار دارد. هم چنین، نمودار شماره ۱ نشان می دهد افزایش بیان ژن AMH در بیماران PCOS/-Overweight نسبت به بیماران non-PCOS/Normal weight

جدول شماره ۲- بررسی میزان همبستگی بین هریک از فاکتورهای

بیوشیمیایی سرم خون بیماران مورد مطالعه با فاکتورهای کلینیکی

HOMA-IR	BMI(kg/m ²)	Age	
۰/۳۴ ^e	-۰/۰۷	-۰/۲۳ ^e	AMH(ng/ml)
۰/۱۲	۰/۰۹	۰/۰۲	Testosterone(ng/ml)
-۰/۱۴	-۰/۱۴	-۰/۱۵	FSH(IU/L)
۰/۳۶ ^e	-۰/۴۰ ^e	-۰/۱۰	LH(IU/L)
۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۰۱	Estradiol(pg/ml)
۰/۳۶ ^e	۰/۳۶ ^e	۰/۱۸	Progesterone(ng/ml)
-۰/۰۸	-۰/۱۶	۰/۰۶	Follicle

نتایج میزان همبستگی (r) در جمعیت بیماران تحت مطالعه (n=۷۸) را نشان می دهد. * بیانگر تفاوت معنی دار در سطح $P < 0.05$ می باشد.

این جدول هم چنین نشان می دهد یک ارتباط مثبت و معنی داری بین AMH و HOMA-IR وجود دارد. نتایج بررسی همبستگی بین بیان ژن AMH با فاکتورهای کلینیکی و بیوشیمیایی نشان داد همبستگی بین بیان این ژن با افزایش BMI ($r = -0.49$ و $P < 0.01$) و با مقاومت به انسولین ($r = 0.34$ و $P < 0.01$) وجود دارد. هم چنین، نتایج نشان داد یک ارتباط منفی بین بیان این ژن با افزایش سن ($r = -0.06$ و $P > 0.05$) وجود دارد. ارتباط بیان ژن AMH با سایر فاکتورهای کلینیکی و بیوشیمیایی نیز بررسی شد که به دلیل معنی دار نبودن نتایج نشان داده نشده است.

ناشناخته است و این طور تصور می شود که از طریق تداخل با آدیپونکتین در سلول های گرانولوزا می باشد. آدیپونکتین ها از بافت چربی سفید ترشح می شوند و سطح سرمی آنها در افراد چاق کاهش می یابد. این ترکیبات در مایع فولیکولی نیز یافت می شوند و گیرنده های آنها بر روی سلول های گرانولوزا شناسایی شده است [۱۹]. این ترکیبات باعث القا سنتز فاکتور رشد عروق آندوتلیال و تغییر شکل دادن آنزیم های مسیر سنتز استروئیدها و کاهش بیان آنزیم آروماتاز می گردد؛ بنابراین، تغییر مقدار آدیپونکتین ها باعث تغییر مراحل القا اوولاسیون می گردد [۲۰]. در جدول شماره ۲ نشان داده شده است که یک ارتباط منفی بین افزایش BMI و تعداد فولیکول های برداشت شده وجود دارد که اگرچه این ارتباط معنی دار نبود اما قابل اغماض نیست ($r = -0.16$, $P \geq 0.05$). از طرف دیگر در برخی مطالعات نشان داده شده است که یک ارتباط مثبت بین افزایش BMI و افزایش تستوسترون در بیماران PCOS و غیر PCOS وجود دارد [۲۱]. لازم به ذکر است که این یافته در مطالعه ما کاملاً مشهود نبود (جدول شماره ۲) و بیان شده است که فنوتیپ بیماران PCOS در جوامع مختلف متفاوت می باشد که این موضوع می تواند توجیهی بر نتایج مطالعه ما باشد [۲۲]. در جامعه مورد مطالعه ما نقش مقاومت به انسولین اهمیت بیشتری نسبت به افزایش تستوسترون در بیماران مبتلا به PCOS ایفا می کند و در این بیماران با افزایش BMI میزان مقاومت به انسولین در مقایسه با افزایش تستوسترون، افزایش قابل توجهی را نشان داد (جدول شماره ۱).

نتیجه گیری

در مجموع می توان گفت میزان بیان ژن AMH تحت تاثیر فنوتیپ بیماری قرار داشته و از طرف دیگر میزان مقاومت به انسولین در بیماران PCOS یک نقش مهم در میزان AMH سرمی ایفا می کند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان تبریز به جهت کمک در اجرایی پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می شود.

References:

[1] Shorakae S, Boyle J, Teede H. Polycystic ovary syndrome: a common hormonal condition with major metabolic sequelae that physicians should know about. *Intern Med J* 2014; 44(8): 720-6.

معنی دار نبود ($P > 0.05$). در این مطالعه نشان داده شد که سطح سرمی AMH در بیماران PCOS/Normal weight افزایش قابل ملاحظه ای در مقایسه با گروه بیماران غیر PCOS دارد (جدول شماره ۱) و این نتایج تایید کننده آزمایشات ملکولی مطالعه مذکور می باشد. از طرفی مطالعات نشان می دهد که در حالت طبیعی با رشد فولیکول و رسیدن آن به مرحله آنترال سطح AMH کاهش می یابد و فولیکول ها نسبت به FSH حساس می شوند، ولیکن در افراد PCOS سطح مقدار AMH بسیار بالا است و حتی مقدار آن در مرحله فولیکول بالغ نیز بالاتر از افراد نرمال است و این با نتایج ما مطابقت دارد [۱۴]. بنابراین می توان گفت افزایش تولید AMH توسط سلول های گرانولوزا یک اختلال ذاتی در این سلول ها می باشد که حتی بعد از بلوغ فولیکولی نیز به تولید AMH ادامه می دهند [۱۵]. برخی از مطالعات نشان می دهند که یکی از عوامل مهم اثرگذار بر مقدار AMH سرمی میزان مقاومت به انسولین در این بیماران می باشد و شدت آن بستگی به عوامل مختلف دارد. همچنین، مطالعات نشان می دهد مقاومت به انسولین به عنوان یک مهارکننده فولیکوژنز است که به طور غیراختصاصی در توقف رشد فولیکولی در افراد PCOS دخیل می باشد. افزایش BMI باعث افزایش شدید در مقاومت به انسولین در این بیماران می گردد و این با نتایج ما کاملاً مطابقت دارد [۱۶]. لازم به ذکر است عوامل متعددی بر مقاومت به انسولین دخیل می باشند که برخی از آنها هنوز ناشناخته می باشند. جدول شماره ۲ بیانگر میزان همبستگی مقاومت به انسولین با فاکتورهای هورمونی نظیر LH ($r = 0.36$) و پروژسترون ($r = 0.39$) می باشد؛ همچنین، این جدول نشان می دهد که میزان همبستگی مقاومت به انسولین با AMH سرمی ($r = 0.34$ و $P < 0.05$) اهمیت بیشتری نسبت به میزان همبستگی BMI با AMH سرمی ($r = -0.07$ و $P > 0.05$) دارد. مطالعات نشان می دهد سطح بیان ژن AMH و مقدار سرمی آن در افراد PCOS بالاتر از افراد نرمال است و یک ارتباط منفی بین افزایش BMI با مقدار AMH وجود دارد [۱۷] و این یافته با مطالعه ما مطابقت دارد. مطالعه ما نشان می دهد که سطح سرمی AMH با افزایش سن کاهش می یابد و این بیان می کند که AMH نمادی از ذخیره تخمدانی است (جدول شماره ۲). در یک مطالعه مشخص شد که افزایش BMI بر روی موفقیت IVF و برداشت فولیکول ها اثر منفی دارد [۱۸]؛ مکانیسم اثر آن هنوز

[2] Nandi A, Chen Z, Patel R, Poretsky L. Polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2014; 43(1): 123-47.

- [3] Murri M, Insenser M, Escobar-Morreale HF. Metabolomics in polycystic ovary syndrome. *Clin Chim Acta* 2014; 429: 181-8.
- [4] Cassar S, Teede HJ, Moran LJ, Joham AE, Harrison CL, Strauss BJ, et al. Polycystic Ovary Syndrome and Anti-Mullerian Hormone: Role of insulin resistance, androgens, obesity and gonadotropins. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014; 81(6): 132-8.
- [5] Kazemi A, Hasan Zahraei R, Nasr Esfahani MH, Ahmadi M, Bashardoost N. Comparison of outcome of assisted reproductive methods in patient with polycystic ovaries syndrome and tubal factor. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2006; 8(1): 1-7 (1): 1-7. [in Persian]
- [6] Kwon SK, Kim SH, Yun SC, Kim DY, Chae HD, Kim CH, et al. Decline of serum antimullerian hormone levels after laparoscopic ovarian cystectomy in endometrioma and other benign cysts: a prospective cohort study. *Fertil Steril* 2014; 101(2): 435-41.
- [7] Fonseca HP, Brondi RS, Piovesan FX, Miklos TG, Aldrighi JM. Anti-Mullerian hormone and insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2014; 30(9): 667-70.
- [8] Li X, Shao R. PCOS and obesity: insulin resistance might be a common etiology for the development of type I endometrial carcinoma. *Am J Cancer Res* 2014; 4(1): 73-9.
- [9] Esmailzadeh S, Delavar MA, Amiri M, Khafri S, Pasha NG. Polycystic ovary syndrome in Iranian adolescents. *Int J Adolesc Med Health* 2014; 26(4): 559-65.
- [10] Niu Z, Lin N, Gu R, Sun Y, Feng Y. Associations between insulin resistance, free fatty acids, and oocyte quality in polycystic ovary syndrome during in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; 99(11): E2269-76.
- [11] Chen L, Xu WM, Zhang D. The association of abdominal obesity, insulin resistance, and oxidative stress in adipose tissue in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2014; 102(4): 1167-1174.
- [12] Hojlund K. Metabolism and insulin signaling in common metabolic disorders and inherited insulin resistance. *Dan Med J* 2014; 61(7): B4890.
- [13] Sunj M, Canic T, Jeroncic A, Karelavic D, Tandara M, Juric S, et al. Anti-Mullerian hormone, testosterone and free androgen index following the dose-adjusted unilateral diathermy in women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 179: 163-9.
- [14] Lan VT, Linh NK, Tuong HM, Wong PC, Howles CM. Anti-Mullerian hormone versus antral follicle count for defining the starting dose of FSH. *Reprod Biomed Online* 2013; 27(4): 390-9.
- [15] El-Mazny A, Abou-Salem N. Anti-Mullerian hormone and antral follicle count for prediction of ovarian stimulation response in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2013; 29(9): 826-9.
- [16] Cankaya S, Demir B, Aksakal SE, Dilbaz B, Demirtas C, Goktolga U. Insulin resistance and its relationship with high molecule weight adiponectin in adolescents with polycystic ovary syndrome and a maternal history. *Fertil Steril* 2014; 102(3): 826-30.
- [17] Caserta D, Adducchio G, Picchia S, Ralli E, Matteucci E, Moscarini M. Metabolic syndrome and polycystic ovary syndrome: an intriguing overlapping. *Gynecol Endocrinol* 2014; 30(6): 397-402.
- [18] Wu S, Divall S, Nwaopara A, Radovick S, Wondisford F, Ko C, et al. Obesity-induced infertility and hyperandrogenism are corrected by deletion of the insulin receptor in the ovarian theca cell. *Diabetes* 2014; 63(4): 1270-82.
- [19] Spanos N, Tziomalos K, Macut D, Koïou E, Kandaraki EA, Delkos D, et al. Adipokines, insulin resistance and hyperandrogenemia in obese patients with polycystic ovary syndrome: cross-sectional correlations and the effects of weight loss. *Obesity Facts* 2012; 5(4): 495-504.
- [20] Svendsen PF, Christiansen M, Hedley PL, Nilas L, Pedersen SB, Madsbad S. Adipose expression of adipocytokines in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2012; 98(1): 235-41.
- [21] Lim SS, Norman RJ, Davies MJ, Moran LJ. The effect of obesity on polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2013; 14(2): 95-109.
- [22] Ramanand SJ, Ghongane BB, Ramanand JB, Patwardhan MH, Ghanghas RR, Jain SS. Clinical characteristics of polycystic ovary syndrome in Indian women. *Indian J Endocrinol Metab* 2013; 17(1): 138-45.