بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs۲۳۰۳۱۶۹ در ژن فیبریلین نوع ۳(FBN۳) در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

ریحانه کلهر[۱]، ناصر کلهر[۲]، حوریه کلهر[۳]، مجتبی سهرابی[۴]

چکیده

«سندرم تخمدان پلی کیستیک» (PCOS)؛ اختلال بسیار پیچیده و ناهمگنی است که عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد آن مشارکت قابل توجهی دارند. PCOS متداول‌ترین نابهنجاری اندوکراینی در ۱۰-٦ درصد زنان در سنین باروری است .ژن FBN۳ یکی از مهم‌ترین ژن‌های کاندید برای PCOS است. این ژن دارای ۲۰ پلی مورفیسم می‌باشد. این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ در ژن FBN۳ در زنان مبتلا به PCOS را بررسی کرده است. شیوهٔ این بررسی از نوع مورد ـ شاهدی است که بر روی ۱۰۰ زن مبتلا به PCOS و ۱۰۰ زن سالم انجام شده است. در این تحقیق، از روش Tetra- ARMS PCR به منظور بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های rs۲۳۰۳۱٦۹ در ژن FBN۳ و احتمال ابتلا به PCOS در دو گروه بیمار و کنترل صورت گرفته است. این مطالعه به لحاظ آماری و با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج این تحقیق، بین پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ در ژن FBN۳ ارتباط معناداری نشان نداد. همچنین ژنوتیپ CT و ژنوتیپ TT نسبت به ژنوتیپ CC، به ترتیب شانس ابتلا به PCOS را ۱/۹۹۵ و ۱/٦۲۱ برابر افزایش نشان می‌دهند.

همچنین این مطالعه برای اولین بار نشان می‌دهد که در جمعیت مورد مطالعه، بین پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳ و بیمار PCOS همراهی معناداری وجود ندارد. و ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژنوتیپ‌های دیگر ژن FBN۳ و بیماری PCOS مستلزم تحقیق گسترده‌تر در جمعیت بزرگ‌تر و قومیت‌های مختلف در کشور می‌باشد.

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

۲. گروه سلول های بنیادی مزانشیمی، مرکز تحقیقات جهاد دانشگاهی، واحد قم، ایران.

۳. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران.

٤. * نویسنده مسئول: مجتبی سهرابی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران.

آدرس پست الکترونیکیm.sohrabi@yahoo.com ، تلفن: ۰۹۱۲۲۰۸٦۳۰۹

واژگان کلیدی: سندرم تخمدان پلی کیستیک، پلی مورفیسم، ژن FBN۳.

مقدمه

«سندرم تخمدان پلی کیستیک» (PCOS; Poly Cystic Ovary syndrome)، یکی از شایع‌ترین اختلال‌های غدد درون‌ریز و اختلالی بسیار پیچیده و ناهمگن است که عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد آن مشارکت قابل توجهی دارند و در حدود ۷% از زنان، در سن باروری دیده می‌شود. PCOS فرمی از عملکرد هیپرآندروژنیسم تخمدان است (۱). اختلال در تولید آندروژن توسط تخمدان در سن بلوغ آشکار می‌شود؛ ولی در دوران کودکی و یا حتی در دوران جنینی ریشه دارد (۲). PCOS با علائمی مانند افزایش میزان اندروژن، بی‌نظمی قاعدگی، عدم تخمک‌گذاری مزمن، تخمدان پلی کیستیک و کاهش باروری شناخته شده است (۳). علاوه بر این، ابتلا به PCOS عواقب متابولیکی متعددی به همراه دارد؛ از جمله افزایش خطر ابتلا به چاقی (۴)، مقاومت به انسولین (IR;Insulin resistance) (۵)، دیابت نوع ۲ (۲DM; Type ۲ Diabetes) (۶) و آترواسکلروز پیش از موعد (۷)، افزایش خطرسرطان آندومتر و پستان و افزایش خطر ابتلا به بیماری قلبی ـ عروقی (۸ و ۹). به همین ترتیب، تأثیر این اختلال نه تنها به سن باروری بستگی دارد، بلکه در طول زندگی نیز ادامه دارد. بستگان درجه اول زنان و زوجین مبتلا به PCOS نیز در معرض خطر ابتلا به چاقی، IR و T۲DM قرار دارند(۱۰). بنابراین، PCOS و اختلالات مرتبط با آن، بر جمعیت در سراسر جهان تأثیر گسترده‌ای دارند(۱۱). در ایران ۱۵/۲% از زنان از آندوکرینوپاتی (اختلالات غدد درون ریز) رنج می‌برند (۱۲و ۱۳). بر اساس گزارش سازمان ملل بهداشت، شیوع PCOS در ایالت متحده، آسیا و استرالیا حدود ۸% ـ ۸%می‌باشد(۱۴). همچنین مطالعات ۲۰۰۳ روتردام (Roterrdam)نشان می‌دهند که حدود ۱۸% ـ ۲۰% از زنان به PCOS مبتلا هستند(۱۵).

PCOS اختلال بسیار پیچیده و ناهمگنی است که عوامل ژنتیکی و محیطی در ایجاد آن مشارکت قابل توجهی دارند. ویژگی‌های متعدد تولید مثلی و متابولیکی که PCOS را به عنوان یک اختلال تعریف می‌کنند؛ ممکن است منعکس کننده ناهمگنی ژنتیکی باشد (۱۶). چندین ژن در ایجاد PCOS نقش دارند. بسیاری از این ژن‌ها در مسیر سنتز استروئید هستند(۱۷). بسیاری از مطالعات بین PCOS و میکروستلیت تکراری دی نوکلوئیدی و پلی مورفیسم‌های تک نوکلوئیدی (SNPs ; Single nucleotide polymorphisms)، D۱۹S۸۸٤ ارتباط معناداری گزارش کرده‌اند (۱۸).

«مارکر» D۱۹S۸۸٤ در ۱ سانتیمتری بالادست ژن رسپتور انسولین (INSR; Insulin receptor)؛ بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹(۱۳/۳p۱۹) قرار دارد (۱۹). محققان دریافتند که D۱۹S۸۸٤ دقیقاً در اینترون ۵۵ از

ژن فیبریلین۳ (FBN۳) واقع شده است (۲۰).

FBN۳ گلیکوپروتین است که به عنوان تنظیم‌کننده مسیر پیام رسانی فاکتور رشد بتا (TGFβ) عمل می‌کند. همچنین این گروه به عنوان واسطه‌هایی شناخته شده‌اند که از طریق فعال کردن و یا مهار کردن، بر عملکرد تخمدان تأثیر می‌گذارند. در واقع حضور ژن FBN۳ در استرومای تخمدان و اطراف فولیکول‌های تخمدان، بر فاز فولیکولی تأثیر می‌گذارد (۲۱). این ژن بر بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹ قرار گرفته (۱۹p۱۳٫۲) و حاوی ٦٨ اگزون است. اندازه آن ۸٤٤٤٥bp است و از روی آن، ۱۰ نوع RNA ساخته می‌شود. تاکنون در این ژن ۷۳۰۰ نوع SNP شناسایی شده است و رونویسی متناوب ژن FBN۳، رونوشت‌های جدیدی را باعث می‌شود که فرد را نسبت به ابتلا به PCO مستعد می‌کند (۲۲). بنابراین، ژن FBN۳، برای بررسی خطر ابتلا به سندرم PCOS به لحاظ ژنتیکی، کاندیدای مناسبی است. در این مطالعه، با استفاده از پایگاه داده‌ها (NCBI) پلی مورفیسم‌های مربوط به ژن FBN۳ بررسی گردید. با در نظر گرفتن معیارهایی همچون اعتبار سنجی و میزان درصد فراوانی الل جهش یافته و جایگاه آن در ژن، rs۲۳۰۳۱٦ در بیماران مبتلا به PCOS در زنان ایرانی بررسی شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه مورد ـ شاهدی، پلی مورفیسم در ۱۰۰ زن مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و ۱۰۰ زن سالم، به عنوان گروه کنترل مراجعه کننده به مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری جهاد دانشگاهی استان قم انجام شد. تشخیص بیماری بر اساس معیار روتردام بود و افراد سالم، زنانی بودند که در تخمدان خود هیچ گونه سابقه بیماری نداشتند. زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک از طریق سونوگرافی و تظاهرات بالینی، از قبیل اختلال در قاعدگی (قطع قاعدگی، قاعدگی‌های نامنظم)، افزایش موهای زاید در صورت و بدن (هیرسوتیسم)، بروز آکنه یا جوش صورت و ریزش موی سر، تشخیص داده شدند. در این مطالعه، پرسشنامه حاوی اطلاعات دموگرافیک و شاخص توده بدنی و رضایت‌نامهٔ کتبی از تمام شرکت‌کنندگان تهیه شد. به منظور بررسی پلی مرفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ در ژن FBN ، از افراد مورد مطالعه، ۳ سی سی خون گرفته و درون تیوب های حاوی EDTA قرار داده شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه منتقل و در دمای ۲۰ـ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

پس از جمع آوری نمونه‌های خون کامل، DNA از لکوسیت‌های خون محیطی از نمونه‌های مورد مطالعه با روش استاندارد رسوب‌دهی نمك استخراج گردید. پس از استخراج، کمیت و کیفیت DNA (غلظت و میزان DNA) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ در طول موج‌های ۲٦۰ و ۲۸۰ نانومتر، همچنین ژل آگاروز۱% ارزیابی و پلی مرفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ در ژن FBN۳، با روش Tetra-ARMS PCR تعیین شد. به منظور تعیین ژنوتیپ FBN۳، با استفاده از نرم افزار Oligo ویراست ۷، پرایمرها طراحی گردید.

دو پرایمر داخلی که برای هر الل اختصاصی است؛ طراحی شد. به طوری که برای الل C، یک محصـول ۱۶۹ جفت بازی و برای الل T، یک محصول ۱۸۶ جفت بازی ایجاد می‌کردند. همچنین دو پرایمر خارجی که برای هر دو الل یکسان است و یک محصول با طول ۳۰۰ جفت بازی طراحی شد. جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده را نشان می‌دهد. برای واکنش Tetra-ARMS PCR، غلظت‌ها و حجم‌های مورد نیاز به منظور تهیه Master Mix PCR برای پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱۶۹ مطابق جدول ۲ انجام شد.

تمامی ویال‌ها در حد چند ثانیه ورتکس و اسپین شدند. سپس برنامه PCR به صورت یک مرحله ذوب ابتدایی ۹۵ درجه سانتی‌گراد مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل با برنامه ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمـای ۵۹ درجـه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۰ ثانبه و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در درمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ترموسایکلر تنظیم گردید. سپس برای بررسی تکثیر موفق قطعـه مـورد نظـر، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۲% برده شد.

به منظور بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن FBN۳ بـا PCO، از نرم‌افـزار SPSS (نسـخه ۲۲) اسـتفاده شـد. متغییرهای قابل اندازه‌گیری بین دو گروه بیمار و کنترل با اسـتفاده از Independent student t-test مقایسـه شـد. همچنین تفاوت‌های بین متغییرهای طبقه‌بندی شده، توزیع ژنوتایپ و معادله هاردی واینبرگ با انالیز X^2 یا Fisher exact testبررسی شدند. خطر ابتلا به بیماری PCO با ژنوتایپ‌ها، با اسنفاده از OR (odd ratio) ارزیابی شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، نمونه‌ها شامل ۲۰۰ زن در محدوده سنی ۱٦ـ ٤۰ سال بودند. با توجه به جدول ۳، در این مطالعه ۱۰۰ زن مبتلا به PCOS با میانگین سنی ۳۲ ـ ٤۷ و ۱۰۰ زن سالم با میـانگین سـنی ۳۳ ـ ٤۱ مشـارکت داشـتند. آزمون T مستقل نشان می‌دهد که میانگین سن در گروه PCOS و گروه سالم اختلاف معناداری نـدارد (p=۰/۱۳۷). همچنین یررسی آزمون T مستقل نشان می‌دهد که میانگین BMI در گروه PCOS نسـبت بـه گـروه سـالم افـزایش معناداری داشته است (p=۰/۰۰۱).

در شکل ۱ نتیجه الکتروفـوزر محصـولات Tetra-ARMS PCR، بـه منظـور تعیـین ژنوتیـپ پلـی مورفیسـم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳ نشان می‌دهد. باند ۳۰۰ bp در تمام نمونـه‌ها بـه عنـوان کنتـرل داخلـی مشـاهده شـد. همچنین ژنوتیپ CC باند ۱٦۹ bp ، ژنوتیپ CT دو باند ۱٦۹ bp و ۱۸٦ bp و ژنوتیـپ TT بانـد ۱۸٦ bp را روی ژل نشان دادند.

میزان ژنوتیپ CC، CT، TT در گروه بیمار، به ترتیب ٦۷، ۲۲، ۱۱ و در گروه سالم، به ترتیب ۷۹، ۱۳، ۸ بود. همچنین آزمون آماری کای دو مشخص کرد که اختلاف فراوانی مشاهده شده بـین ژنوتیپ‌هـای rs۲۳۰۳۱٦۹ در

دو گروه بیمار و سالم معنادار نیست (P = ۰/۱۵۲) بررسی میزان ژنوتیپی در هر دو گروه نشان می‌دهد که گروه بیمار (p= ۰/۰۰۰۳) و گروه بیمار(p<۰/۰۰۰) برای توزیع ژنوتیپ‌های rs۲۳۰۳۱۶۹ در تعادل هاردی ـ واینبرگ قرار ندارند. برای بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱۶۹ وابتلا به PCOS، ژنوتیپ‌ها در مدل‌های ژنتیکی هم بارز، غالب، ابر غالب و مغلوب مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که ژنوتیپ CT در حالت هم بارز، با افزایش خطر ابتلا به PCOS همراه است (P=۰/۰۷۱ ، OR=۱/۹۵۵). آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که بین فراوانی ژنوتیپی افراد سالم و بیمار در تمامی حالت‌ها اختلاف معناداری وجود ندارد(p>۰/۰۵). (جدول ٤)

بحث

سندرم تخمدان پلی کیستیک شایع‌ترین اختلال اندوکرین و متابولیک میان زنان واقع در سنین باروری است. این سندرم ناهمگن و با علت نامشخص است. شواهدی قوی وجود دارد مبنی بر این‌که این اختلال منشا ژنتیک دارد (۲۳). سازمان بهداشت جهانی تخمین می زند که ۱۱٦میلیون زن در سراسر جهان به بیماری PCOS مبتلا می‌باشند. بسته به تعریف ارائه شده شیوع PCOS ٤% تا ۲۵% گزارش شده است (۱۰). شیوع این سندرم در کشور ایران براساس یک مطالعهٔ کشوری٦/ ١٤ % گزارش گردیده است. تخمین زده می‌شود در جهان ۱۰۵میلیون نفر از زنان ۱۵تا ٤۹ سال به PCOS مبتلا هستند. به دلیل شیوع بالا و عوارض ناشی از این سندرم که شامل اختلال در تخک‌گذاری و قاعدگی، نازایی، پرمویی و اختلالات متابولیک هستند، بار مالی زیادی را به سیستم بهداشتی درمانی کشور وارد می‌گردد. بار بیماری در ایالت متحده در زنان ١٤ تا ٤٤ سال، تقریباً سالانه ٤/۳۷ بیلیون دلار تخمین زده شده است (۲۴). هم اکنون به خوبی ثابت شده است که PCOS، یک صفت پیچیده مشابه چاقی و دیابت نوع۲ را نشان می‌دهد و عوامل ژنتیکی و محیطی به پاتوژنز PCOS کمک می‌کند. به طور کلی PCOS می‌تواند به عنوان یک اختلالی ناهمگن اندروژن بیش از حد با درجات مختلفی از ناهنجاری‌های غدد جنسی و متابولیک مشاهده شود. در خانواده‌های با موارد PCOS، برای وراثت هیپراندروژنیما و هیپرانسولینما در برادر و خواهر تحت تأثیر واقع شده شواهدی وجود دارد. الگوهای وراثتی متعددی، شامل اتوزم غالب، اتوزوم غالب تغییر یافته، وابسته به x غالب و چند عاملی، برای بیماری پیشنهاد شده، اما هنوز، الگوی دقیق از توارث PCOS ثابت نشده است (۲۵).

تعداد کمی از یافته‌ها ی پیشین در مورد ژن‌های کاندید برای PCOS تکرار شده‌اند. این عدم تکرار پذیری ممکن است تا حدودی به علت مشکلات توارثی در بیماری‌های پیچیده باشد؛ از جمله هتروژنیتی احتمالی PCO. اما این ویژگی ممکن است بر اساس عواملی بروز کند که محقق به کنترل آن‌ها ملزم است و نظیر این موارد

است: هتروژنیتی در معیارهای تشخیصی، نمونه گیری‌های متنوع و متفاوت و تفاوت‌های جمعیتی در میـزان نقـش فاکتورهای ژنتیکی و در تظاهرات بیماری (۲۶).

مطالعات نشان می‌دهند که رونویسی متناوب ژن FBN۳، رونوشت‌های جدیدی را باعث می‌شـود کـه فـرد را برای ابتلا به PCOS مستعد می‌کند. بانبراین ژن FBN۳ برای بررسی خطر ابتلا به سندرم PCOS به لحاظ ژنتیکی کاندیدای مناسبی است (۲۱). در این مطالعه، پلی مورفیسـم rs۲۳۰۳۱۶۹ ژن FBN۳، در زمینـه آمـادگی ابـتلا به PCOS در زنان مورد بررسی قرار گرفت.

مطالعات متعددی نشان می‌دهند که سن در ابتلا به PCOS نقش به‌سزایی ندارد. هاشمی و همکـاران در سـال ۱۳۹۱ گزارش کردند که محدده سنی در هر دو گروه مبتلا به PCOS و شاهد ، ۱۸ تا ٤۰ سال با میـانگین ۳٤/۱ می‌باشد (۲۷). در این مطالعه، میانگین سن در گروه مبتلا بـه PCOS ۳۲/٤۷ و درگـروه سـالم ۳۳/٤۱ بـود. بـر اساس این نتایج به لحاظ سنی بین دو گروه سالم و بیمار تفاوت معناداری وجود نداشته و جامعه‌ای همگـن مـورد بررسی قرار گرفته است (جدول۳).

بنابر نتایج مطالعات انجام شده، ٦۰% ـ ۸۰% زنان مبتلا به PCOS دارای اضافه وزن یا چاقی هستند (۲۸). در مطالعهٔ رشیدی و همکاران در سال ۱۳۹۲، میزان اضافه وزن و چاقی به ترتیب ۳٦/۹% و ۲۲/۱% گزارش شده است (۲۳). در مطالعه صارمی و همکاران در سال ۱۳۹۳ شاخص تودهٔ بدنی در گروه مبتلا بـه PCOS ،۲۸/۲۹ کیلوگرم بر متر مربع گزارش شده است (۲۹). نتایج در این مطالعه حاکی از آن بود که شاخص تودهٔ بدنی در گروه افراد بیمار (با میانگین ۲٦/۱۹ کیلوگرم بر متر مربع) نسبت به افراد سالم (با میانگین ۲٤/۷۳ کیلوگرم بر متر مربع) به طور معناداری بالاتر است (جدول۳). شاخص تودهٔ بدنی در مبتلایان بـه PCOS در مطالعـات متعـدد انجـام شده در ایران، چین، آمریکا و اسپانیا درجات متفاوتی را گزارش کرده‌اند. از آن‌جا که شیوع چاقی ممکن است در نژادهای مختلف متفاوت باشد، به عنوان یک ویژگـی جهـانی بـرای تشـخیص PCOS بـه کـار نمـی‌رود (۳۰). همچنین این تفاوت‌ها می‌تواند به عوامل ژنتیکی و سبک زندگی شرکت‌کنندگان مربوط باشد.

در این مطالعه نتایج توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱۶۹ در دو گروه زنان مبتلا به PCOS و سالم نشان داد که فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت CC در مبتلایان ۰/٦۷ و در گروه سالم ۰/۷۹ و فراوانـی ژنوتیـپ هموزیگوت TT در مبتلایـان ۰/۱۱ و در گـروه سـالم ۰/۰۸ و فراوانـی ژنوتیـپ هتروزیگـوت CT در مبتلایـان ۰/۲۲ و در گروه سالم ۰/۱۳ بود. نتایج آماری آزمون کای دو نشان داد کـه اخـتلاف فراوانـی مشـاهده شـده بـین ژنوتیپ‌های rs۲۳۰۳۱۶۹ در گروه مبتلا و سالم معنادار نمـی‌باشـد (p=۰/۱۵۲). ژنوتیـپ CC در افـراد سـالم

بیشتر از بیمار بود، در حالی‌که ژنوتیپ‌های CT وTT در افراد بیمار بیشتر از سالم بود. (جدول ٤). بررسی آزمون هاردی واینبرگ در پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ در افراد بیمار و سالم نشان داد که ژنوتیپ‌های مذکور درتعادل نیستند که به ترتیب شامل p=۰/۰۰۰۳ و P=۰/۰۰ می‌باشند. بررسی میزان خطر نسبی rs۲۳۰۳۱٦۹ در بیماران PCOS نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های CC و CT و TT در حالت غالب و هم بارز و ابر غالب و نهفته در دو جمعیت سالم و بیمار اختلاف معنی داری وجود ندارد (P>۰/۰۵) و شانس ابتلا به بیماری PCOS در افراد بیمار با ژنوتیپ CT و ژنوتیپ TT (در حالت هم بارز) به ترتیب برابر با ۱/۹۹۵ و ۱/٦۲۱ بود. همچنین شانس ابتلا به بیماریPCOS در افراد بیماربا ژنوتیپ TT (در حالت نهفته) برابر با ۱/٤ بود (جدول ٤).

نتایج این مطاله مطابق مطالعاتی است که توسط "مارک جی.پرودواحی" و همکارانش و "کاترین جی.ایونز" و همکارانش بود گزارش شده است. آن‌ها گزارش کردند که پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ بین گروه کنترل و گروه بیمار ارتباط معناداری ندارد(۳۱,۲۲). تاکنون در زمینه نقش پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳ با استعداد ابتلا به PCOS در ایران مطالعه‌ای گزارش نشده است. این مطالعه برای اولین بار، ارتباط پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳ در زنان ایرانی را نشان می‌دهد. با توجه به پژوهش‌های گذشته، نقش ژن FBN۳ در بیماری PCOS را نمی‌توان نادیده گرفت. اگرچه در مطالعه ما نقش پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳ پررنگ نبود؛ ارتباطات ژنوتایپینگ این احتمال را به وجود می‌آورد که با افزایش تعداد نمونه‌های بالاتر در جمعیت‌های متفاوت نژادی در ایران و با بررسی پلی مورفیسم‌های دیگر ژن، این احتمال بیش‌تر شود. بنابراین، با توجه به تفاوت ژنتیک در قومیت‌های مختلف در ایران پیشنهاد می‌شود به منظور تأیید نتایج این مطالعه، مطالعه‌ای گسترده‌تر و در قومیت‌های مختلف صورت بگیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳ با استعداد ابتلا به PCOS ارتباط وجود ندارد. در واقع بین دو گروه بیمار و سالم و بروزPCOS اختلاف معناداری مشاهده نمی‌شود؛ اما در این مطالعه مشخص شد که ژنوتیپ CT در حالت هم بارز به ابتلا به PCOS مستعد می‌باشد. پیشنهاد می‌شود این مطالعه با تعداد بیش‌تری نمونه و پلی مورفیسم‌های بیش‌تر در ژن FBN۳ در مناطق جغرافیای و قومیت‌های مختلف کشور انجام گردد.

تشکر و قدرانی

این مقاله منتج از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی قم انجام شده است.

Referenes:

۱. Knochenhauer E, Key T, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots L, Azziz R. Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. ۱۹۹۸;۸۳(۹):۸۲/-۳۰۷۸

۲. Amer SA. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management of related infertility. Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine. ۲۰۰۹;۱۹(۱۰):۷۰/-۲۶۳

۳. Zawadzski J. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: towards a rational approach. Polycystic ovary syndrome. ۵۰/-۱۹۹۲:۳۹

٤. Hoeger K. Obesity and weight loss in polycystic ovary syndrome. Obstetrics and Gynecology Clinics. ۲۰۰۱;۲۸(۱):.۹۷-۸۵

۵. Cotrozzi G, Matteini M, Relli P, Lazzari T. Hyperinsulinism and insulin resistance in polycystic ovarian syndrome: a verification using oral glucose, IV Glucose and tolbutamide. Acta diabetologia latina. ۱۹۸۳;۲۰(۲):٤۲/-۱۳۵

٦. Legro RS, Kunselman AR, Dodson WC, Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type ۲diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a

prospective, controlled study in ۲۵٤affected women. The journal of clinical endocrinology & metabolism. ۱۹۹۹;۸٤(۱):۹/-۱٦٥

.۷ Talbott EO, Guzick DS, Sutton-Tyrrell K, McHugh-Pemu KP, Zborowski JV, Remsberg KE, et al. Evidence for association between polycystic ovary syndrome and premature carotid atherosclerosis in middle-aged women. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. ۲۰۰۰;۲۰(۱۱):۲۱/-۲٤۱٤

.۸ Forouhari S, Heidari Z, Tavana Z, Salehi M, Sayadi M. The effect of soya on some hormone levels in women with polycystic ovary syndrome (balance diet): a cross over randomized clinical trial. Bull Env Pharmacol Life Sci. ۲۰۱۳;۳(۱):۵۰/-۲٤٦

.۹ Parsanezhad ME, Alborzi S, Jahromi BN. A prospective, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of bromocriptin in clomiphene-resistant patients with polycystic ovary syndrome and normal prolactin level. Archives of gynecology and obstetrics. ۲۰۰٤;۲٦۹(۲):۹/-۱۲۵

.۱۰ Legro RS, Bentley-Lewis R, Driscoll D, Wang SC, Dunaif A. Insulin resistance in the sisters of women with polycystic ovary syndrome: association with hyperandrogenemia rather than menstrual irregularity. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. ۳۳/-۲۱۲۸:(۵)۸۷;۲۰۰۲

.۱۱ Azziz R, Dumesic DA, Goodarzi MO. Polycystic ovary syndrome: an ancient disorder? Fertility and sterility. ۲۰۱۱;۹۵(۵):۸/-۱۵٤٤

.۱۲ Mehrabian F, Khani B, Kelishadi R, Ghanbari E. The prevalence of polycystic ovary syndrome in Iranian women based on different diagnostic criteria. Endokrynologia

Polska. ۲۰۱۱;۶۲(۳):.۴۲-۲۳۸

.۱۳ Parsanezhad ME, Jahromi BN, Zare N, Keramati P, Khalili A, Parsa-Nezhad M. Epidemiology and etiology of infertility in Iran, systematic review and meta-analysis. Journal of Womens Health, Issues and Care. ۲۰۱۶;۲۰۱۳/

.۱۴ Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. Fertility and sterility. ۲۰۱۶;۱۰۶(۱):۱۵/-۶

.۱۵ Fr DD, Tarlatzis R. Revised ۲۰۰۳consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Fertility and sterility. ۲۰۰۴;۸۱(.۱)

.۱۶ Kosova G, Urbanek M. Genetics of the polycystic ovary syndrome. Molecular and cellular endocrinology. ۲۰۱۳;۳۷۳(۲-۱):۳۸/-۲۹

.۱۷ Franks S, Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Williamson R, et al. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. Human reproduction (Oxford, England). ۱۹۹۷;۱۲(۱۲):۸/-۲۶۴۱

.۱۸ Urbanek M, Woodroffe A, Ewens K, Diamanti-Kandarakis E, Legro R, Strauss III J, et al. Candidate gene region for polycystic ovary syndrome on chromosome ۱۹p۱۳. ۲. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. ۲۰۰۵;۹۰(۱۲):۹/-۶۶۲۳

.۱۹ Unluturk U, Harmanci A, Kocaefe C, Yildiz BO. The genetic basis of the polycystic ovary syndrome: a literature review including discussion of PPAR-γ. PPAR research. ۲۰۰۷;۲۰۰۷/

.۲۰ Hatzirodos N, Bayne RA, Irving-Rodgers HF, Hummitzsch K, Sabatier L, Lee S,

et al. Linkage of regulators of TGF-β activity in the fetal ovary to polycystic ovary syndrome. The FASEB Journal. ۲۰۱۱;۲۵(۷):٦٥/-۲۲٥٦

.۲۱ Menke MN, STRAUSS III JF. Genetics of polycystic ovarian syndrome. Clinical obstetrics and gynecology. ۲۰۰۷;٥۰(۱):۲۰٤/-۱۸۸

.۲۲ Ewens KG, Stewart DR, Ankener W, Urbanek M, McAllister JM, Chen C, et al. Family-based analysis of candidate genes for polycystic ovary syndrome. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. ۲۰۱۰;۹٥(٥):۱٥/-۲۳۰٦

.۲۳ Rashidi H, Ramezani Tehrani F, Bahri Khomami M, Rostami Dovom M, Noroozzadeh M, Azizi F. The Prevalence of Various Phenotypes of Polycystic OvarySyndrome: a Community-Based Study in Southwest of Iran .Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism۲۰۱٤;۱٦(۲):.۱۱۹-۱۲٦ . [In Persian].

.۲٤ Fatemeh Nasiri Amiri, Fahimeh Ramezani Tehran , Masoume Simbar, Reza Ali Mohammadpour Tahamtan. Components of quality of life of women with polycystic ovary syndrome: a qualitative study. Journal of the Iraninan Institute for Health Sciences Reserch.۲۰۱۳; ۱۲(٦):.٦٥۷-٦٦۹.[In Persian].

.۲٥ Dasgupta S, Reddy BM. Present status of understanding on the genetic etiology of polycystic ovary syndrome. Journal of postgraduate medicine. ۲۰۰۸;٥٤(۲):۱۱٥/

.۲٦ Urbanek M, Spielman RS. Genetic analysis of candidate genes for the polycystic ovary syndrome. Current Opinion in Endocrinology ,Diabetes and Obesity. ۲۰۰۲;۹(٦):٥۰۱/-٤۹۲

.۲۷ Hashemi F, Yaghmaei P, Saadati M, Haghighi Poodeh S, Ramezani Tehrani, F,

Hedayati M. Association of serum adipsin levels with polycystic ovarian syndrome . Razi Journal of Medical Sciences .۲۰۱۲;۱۹(۹۹):.۱-٦.[In Persian].

.۲۸ Moran C, Arriaga M, Rodriguez G, Moran S. Obesity differentially affects phenotypes of polycystic ovary syndrome. International Journal of Endocrinology. ۲۰۱۲;.۲۰۱۲:.۱-۷

.۲۹ Saremi A, Kazemi M . The effect of an aerobic training period on mental health and depression in Iranian women with polycystic ovary syndrome. Complementary Medicine Journal ۲۰۱٦:۱(۱۸).;.۱٤۲۰-۱٤۲۱.[In Persian].

.۳۰ 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. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. ۲۰۰٤;۸۹(٦):۹/-۲۷٤٥

.۳۱ Prodoehl MJ, Hatzirodos N, Irving-Rodgers HF, Zhao ZZ, Painter JN, Hickey TE, et al. Genetic and gene expression analyses of the polycystic ovary syndrome candidate gene fibrillin- ۳and other fibrillin family members in human ovaries. Molecular human reproduction. ۲۰۰۹;۱٥(۱۲):.٤۱-۸۲۹

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Tetra-ARMS PCR

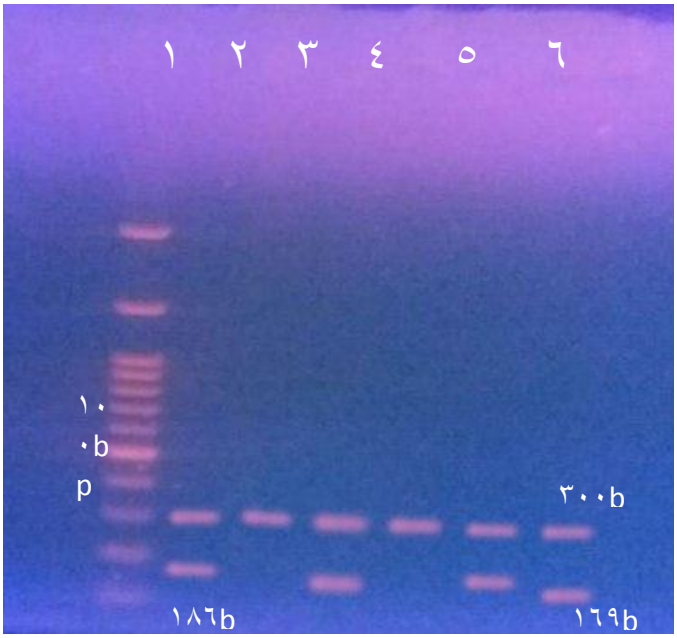
نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول
Forward inner primer (C allele):	۵′ AGGCAGAGGGGTGACAAGAGAAAGAACC ۳′	**۱۶۹ bp**
Reverse inner primer (T allele):	۵′ CTGCATGGAGTCAAGCACCATCTCAGA ۳′	**۱۸۶ bp**
Forward outer primer (۵' - ۳'):	۵′ ACACAGAGGAACTGACAGTTGTGCTGCC ۳′	**۳۰۰ bp**
Reverse outer primer (۵' - ۳'):	۵′ AGGACCTGCAAAGGTGATGTCCTTTCAA ۳′	**۳۰۰ bp**

جدول ۲. غلظت‌ها و حجم‌های مورد نیاز برای تهیه Master Mix PCR برای پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱۶۹

	شناسایی نوکلیوتید C	شناسایی نوکلیوتید T
نام ماده	مقدار	مقدار
Taq DNA Polymerase ۲X Master Mix Red	۱۰ µl	۱۰ µl
Forward inner primer (C allele)	۱ µl	-----
Reverse inner primer (T allele)	-----	۱ µl
Forward outer primer (۵' - ۳')	۱ µl	۲ µl
Reverse outer primer (۵' - ۳')	۲ µl	۱ µl
DNA ی استخراج شده	µl۳	µl۳
آب مقطر تزریقی	µl۳	µl۳

جدول ۳. مشخصات سن و BMI افراد مورد مطالعه

متغییر	گروه سالم	گروه بیمار	P
سن (سال)	۳۳,۴۱	۳۲,۴۷	۰,۱۳۷
BMI (Kg/m^2)	۲۴,۷۳	۲۶,۱۹	۰,۰۰۱



شکل ۱. نتایج ژل الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS PCR ، جهت پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱٦۹ ژن FBN۳. ستون ۱، مارکر ۱۰۰bp، ستون ۲ و۳- هموزیگوتTT ، ستون ٤ و٥- هموزیگوتCC ، ستون ٦ و۷ - هتروزیگوت CT .

جدول ٤. بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم rs۲۳۰۳۱۶۹ وابتلا بهPCOS

مدل	ژنوتیپ	بیمار	سالم	OR(۹۵٪CI)	p-value
هم بارز	CC	۶۷	۷۹	۱,۰۰	۰,۰۷۱
	CT	۲۲	۱۳	۱,۹۹۵ (۰,۹۳۴-۴,۲۶۲)	
	TT	۱۱	۸	۱,۶۲۱ (۰,۶۱۶-۴,۲۶۵)	
غالب	CC	۶۷	۷۹	۱,۰۰	۰,۰۵۶
	CT/TT	۳۳	۲۱	۰,۵۴ (۰,۲۸۶-۱,۰۲)	
مغلوب	TT	۱۱	۸	۱,۴۲۱ (۰,۵۴۶-۳,۶۹۸)	۰,۴۶۹
	CT/CC	۸۹	۹۲	۱,۰۰	
ابر غالب	CC/TT	۷۸	۸۷	۱,۰۰	۰,۰۹۴
	CT	۲۲	۱۳	۰,۵۳ (۰,۲۵-۱,۱۲۲)	

Survey relationship between rs۲۳۰۳۱۶۹ polymorphism in FBN۳ gene in patients with polycystic ovary syndrome

Reyhaneh Kalhor[۱], Naser kalhor[۲], Hourieh Kalhor[۱], Mojtaba Sohrabi*[۱]

۱- *Department of Biology, Qom branch, Islamic azad University, Qom, Iran.*
۲- *Department of mesanchymal stem cell, Academic Center for Education, culture and Research, Qom branch, Iran*
۳- *Department and Biotechnology Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran*
*Corresponding Authors:
Mojtaba Sohrabi
E-mail address: m.sohrabi@yahoo.com
Address: Qom branch, Islamic azad University, Qom, Iran
Telephone: ۰۹۱۲۲۰۸۶۳۰۹

Abstract

Introduction: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a very complex and heterogeneous disorder that genetic and environmental factors have a significant contribution to its creation. PCOS is the commonest endocrine abnormality in ٦ to ١٠ percent of women in fertility age that FBN۳ gene is one of the most important candidate genes, for PCOS. This gene has ٢٠ polymorphisms. This study examines the relationship between rs۲۳۰۳۱۶۹ polymorphism in FBN۳ gene in women with PCOS.

Method: This study is a case-control study which is done on ١٠٠ women with PCOS and ١٠٠ healthy women. In this research, Tetra-ARMS PCR method was used to study the relationship between rs۲۳۹۰۱۶۹ genotypes in FBN۳ gene and the probability of getting PCOS in both patient and control groups. Connecting data from this study are analyzed statistically using SPSS software.

Results: The results of the research showed no significant relationship

between rs۲۳۰۳۱۶۹ polymorphism in FBN۳ gene. Also, CT and TT genotypes increased the probability of getting PCOS to ۱،۹۹۵ and ۱،۶۲۱ times towards CC genotype respectively.

Conclusion: For the first time, this study showed that there is no significant relationship between rs۲۳۰۳۱۶۹ polymorphism in FBN۳ gene and PCOS. However, relationship between polymorphisms of other genotypes in FBN۳ gene and PCOS needs a wider research in greater populations and different ethnicities in the country.

Key words: Polycystic ovary syndrome; Polymorphism; FBN۳ gene.