



آنالیز تغییرات تک نوکلئوتیدی rs1894116، rs2272046 و rs2252673 در ژنهای Yap1، HMGA2 و INSR در افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک به روش Tetra ARMS-PCR

مسعود دینداری پاریزی: گروه قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، (* نویسنده مسئول) MD_parizi@yahoo.com

چکیده

کلیدواژه‌ها

سندرم تخمدان پلی کیستیک، پلی مورفیسم،

Yap1

HMGA2

INSR

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۱۰

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۱/۳۰

زمینه و هدف: ژنهای Yap1، HMGA2 و INSR از مهمترین ژنهای کلنلید برای سندرم تخمدان پلی کیستیک هستند. این مطالعه ارتباط بین سه SNP (rs1894116، rs2272046 و rs2252673) در این سه ژن را در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک بررسی کرده است.

روش کار: این مطالعه بر روی ۱۰۰ زن مبتلا به PCOS و ۱۰۰ زن سالم دارای معیارهای ورود به مطالعه با تشخیص پزشکی متخصص زنان صورت گرفت. میزان هورمون‌های LH، FSH، نسبت LH به FSH، AMH، استرادیول، پرولاکتین، قندخون ناشتا و تستوسترون سنجیده شد. برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم‌های rs1894116، rs2272046 و rs2252673 در ژنهای Yap1، HMGA2 و INSR از روش Tetra ARMS-PCR استفاده شد. آنالیز آماری توسط SPSS صورت گرفت.

یافته‌ها: میانگین مقدار شاخص توده بدنی و میزان هورمون‌ها در افراد بیمار نسبت به افراد سالم افزایش معناداری داشت. افراد دارای ژنوتیپ غالب پلی مورفیسم rs2252673 در ژن INSR و افراد دارای ژنوتیپ غالب و مغلوب در پلی مورفیسم rs1894116 در ژن Yap1 ارتباط مستقیم و معناداری با ابتلا به PCOS داشتند. همچنین هیچ کدام از ژنوتیپ‌های rs2272046 در ژن HMGA2 در هیچ حالتی ارتباطی با ابتلا به PCOS نداشتند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های حاضر شواهدی ارائه می‌دهند که دو پلی مورفیسم rs2252673 در ژن INSR و rs1894116 در ژن Yap1 در ریسک ابتلا به PCOS نقش دارند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Dindari Parizi M. Analysis of Single Nucleotide Changes rs1894116, rs2272046 and rs2252673 in Yap1, HMGA2 and INSR Genes in People with Polycystic Ovary Syndrome by Tetra ARMS-PCR Method. Razi J Med Sci. 2023;29(11): 487-495.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.



Original Article

Analysis of Single Nucleotide Changes rs1894116, rs2272046 and rs2252673 in Yap1, HMGA2 and INSR Genes in People with Polycystic Ovary Syndrome by Tetra ARMS-PCR Method

Masood Dindari Parizi: Department of Cardiovascular Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. (* Corresponding author) MD_parizi@yahoo.com

Abstract

Background & Aims: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a multifactorial disorder that affects women of reproductive age. This condition is diagnosed in women with hyperandrogenism, oligomenorrhea, amenorrhea, acne, hirsutism, insulin resistance, obesity, and infertility. More than 40% of female infertility is related to PCOS. Although the main cause of this disease has not yet been fully and accurately identified, according to the common features that can be seen among PCOS patients, this syndrome can be considered a set of tissue, hormonal, and genetic abnormalities that change the expression of genes, miRNAs, factors Heredity and environment play an important role in its formation. So far, more than 100 genes related to PCOS have been identified during genetic studies. Genes that are considered the main candidate for causing this disease. Also, various genetic polymorphisms have been described for PCOS, and the association of single nucleotide polymorphisms (SNP) with the occurrence and progression of PCOS has been confirmed. SNPs are single nucleotide changes (plays) in the length of the DNA of different individuals of the same species, which are seen in more than one percent of the population. SNPs are the most important type of polymorphism and can be seen anywhere in the genome; in the coding region of structural and functional genes, regulatory regions, and even in non-coding parts of DNA. With extensive investigations on the influencing genes and their polymorphisms, it has been determined that these polymorphisms play a role in PCOS. Emphasizing that polycystic ovary syndrome is a multifactorial disease, so studies on predisposing polymorphisms can give a clear view of the disease. One of the genetic loci related to PCOS is located on chromosome 11q22.1 near the YAP1 gene (Rs1894116). The association between PCOS and single nucleotide variants in the YAP1 gene has been published in several GWAS in different populations. The YAP1 protein plays a key role in the Salvador–Warts–Hippo (Hippo–Yap) signaling network that controls cellular and organismal metabolism. Does dysregulation of this pathway contribute to the pathogenesis of metabolic diseases such as type 2 diabetes, fatty liver disease, and cardiovascular disease, all of which are potential long-term consequences of PCOS. Another related disease is endometrial cancer, which is closely related to insulin resistance (one of the symptoms of PCOS). YAP1 protein is also required for the proliferation of ovarian granulosa cells. The insulin receptor or INSR, encoded by the insulin receptor gene on chromosome 19p13.3, is essential for the insulin signaling pathway. The occurrence of any polymorphism in the INSR gene can lead to a change in the function of the insulin receptor and eventually cause PCOS. Also, creating a mutation in the INSR gene can cause hyperandrogenism, hyperinsulinemia, and insulin resistance. Various recent studies in different populations show that despite the ethnic and racial diversity among the population, a strong relationship has been found between the diversity of the INSR gene and PCOS. In addition, INSR can be considered a good genetic marker for PCOS. (Rs2252673 is considered in this study). Another SNP associated with PCOS is located on chromosome 12q14.3 near the HMGA2 gene (Rs2272046). The HMGA2 gene is strongly expressed during embryonic development and in various cancers, which means that it may play a role in controlling cell proliferation. A GWAS has identified an association between IMP2 genetic variants and the risk of type 2 diabetes. Studies show that HMGA2 is related to proliferation and reproduction, making it a plausible PCOS candidate gene. So far, no study has been reported on the relationship between

Keywords

Polycystic Ovary Syndrome,
Polymorphism,
Yap1,
HMGA2,
INSR

Received: 01/09/2022

Published: 19/02/2023

rs1894116, rs2272046, and rs2252673 single nucleotide changes in Yap1, HMGA2, and INSR genes in PCOS patients in Iran. This study examines the relationship between these polymorphisms in PCOS patients in Iran. Yap1, HMGA2, and INSR genes are among the most important candidate genes for polycystic ovary syndrome. This study investigated the association between three SNPs (rs1894116, rs2272046, and rs2252673) in these three genes in women with polycystic ovary syndrome.

Methods: This study was conducted on 100 women with PCOS and 100 healthy women who met the inclusion criteria and were diagnosed by a gynecologist. LH, FSH, LH to FSH ratio, AMH, estradiol, prolactin, fasting blood sugar, and testosterone were measured. Tetra ARMS-PCR method was used to investigate the relationship between genotypes of rs1894116, rs2272046, and rs2252673 polymorphisms in Yap1, HMGA2, and INSR genes. Statistical analysis was done by SPSS.

Results: Hormones and changes in their levels are very important in polycystic ovary syndrome. In examining the number of hormones in our study, as expected, it was found that the difference in the amount of LH, FSH, the ratio of LH to FSH, AMH, estradiol, prolactin, fasting blood sugar, and testosterone in PCOS subjects was significantly increased compared to healthy subjects. In other studies, similar to our results, the hormones FSH, AMH, LH and LH/FSH, testosterone, estradiol and BMI in the PCOS group increased significantly compared to healthy people. In this study, among the three SNPs investigated, rs2272046 in the HMGA2 gene and rs1894116 in YAP1 were associated with PCOS. In rs2252673 INSR, people with a dominant genotype had a direct and significant relationship with PCOS, and the C allele in a dominant state (CC genotype) has a protective role against PCOS with a chance of 0.722. In contrast to the present study, the results of a 2014 review showed that there was a significant association between rs2252673 and PCOS. In this study, the G allele was over transmitted. This means that rs2252673 is a risk marker for PCOS. Also, the results showed that carriers of the G allele show an increase in the prevalence of PCOS, which contradicts the current finding. Also, two other studies in Turkey and India showed that SNPs rs545885277 of the INSR gene on chromosome 19 did not show a significant relationship with PCOS pathogenesis. In examining the relative risk of rs2272046 in the HMGA2 gene in patients with PCOS, it was determined by logistic regression test that there was no significant difference between the genotypic frequency of healthy and diseased individuals in homozygous, recessive, dominant, and super dominant models. The average value of body mass index and the amount of hormones in sick people increased significantly compared to healthy people. People with the dominant genotype of the rs2252673 polymorphism in the INSR gene and those with the dominant and recessive genotype of the rs1894116 polymorphism in the Yap1 gene had a direct and significant relationship with PCOS. Also, none of the rs2272046 genotypes in the HMGA2 gene had any relationship with PCOS.

Conclusion: The present findings provide evidence that two polymorphisms, rs2252673 in the INSR gene and rs1894116 in the Yap1 gene, are involved in the risk of PCOS.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Dindari Parizi M. Analysis of Single Nucleotide Changes rs1894116, rs2272046 and rs2252673 in Yap1, HMGA2 and INSR Genes in People with Polycystic Ovary Syndrome by Tetra ARMS-PCR Method. Razi J Med Sci. 2023;29(11): 487-495.

***This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یک اختلال چند عاملی است که زنان در سنین باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این وضعیت در زنان مبتلا به هایپراندروژنیسم، الیگومنوره آمنوره، آکنه، هیرسوتیسم، مقاومت به انسولین، چاقی و ناباروری تشخیص داده می‌شود (۱،۲). بیش از ۴۰ درصد از ناباروری زنان با PCOS مرتبط است (۳). هرچند عامل اصلی ایجاد این بیماری هنوز به صورت کامل و دقیق شناسایی نشده است، اما با توجه به وجوه مشترکی که بین مبتلایان به PCOS دیده می‌شود، می‌توان این سندرم را مجموعه‌ای از ناهنجاری‌های بافتی، هورمونی و ژنتیکی دانست که تغییرات بیان ژن‌ها، miRNAها، عوامل وراثتی و محیطی نقش مهمی در شکل‌گیری آن دارند (۴). تا کنون بیش از ۱۰۰ ژن مرتبط با PCOS طی مطالعات ژنتیکی شناسایی شده‌اند. ژن‌هایی که به عنوان کاندید اصلی ایجاد این بیماری در نظر گرفته می‌شوند (۵). هم چنین چندشکلی‌های ژنتیکی مختلفی برای PCOS توصیف شده است و ارتباط چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) با وقوع و پیشرفت PCOS تأیید شده است (۶). SNPها به تغییرات تک نوکلئوتیدی (بازی) در طول DNA ی افراد مختلف یک گونه گفته می‌شود که در بیشتر از یک درصد جمعیت جامعه دیده می‌شوند (۷). SNPها مهمترین نوع پلی مورفیسم‌ها می‌باشند و در هر نقطه ای از ژنوم دیده می‌شوند؛ در ناحیه کدکننده‌ی ژن‌های ساختاری و عملکردی، نواحی تنظیمی و حتی در قسمت‌های غیر کدکننده‌ی DNA (۸). با بررسی‌های گسترده بر روی ژنهای تاثیر گذار و پلی مورفیسم‌های آنها، مشخص شده است که این پلی مورفیسم‌ها در PCOS نقش دارند. با تاکید بر این که بیماری سندروم تخمدان پلی کیستیک یک بیماری مولتی فاکتوریال است، پس مطالعات بر روی پلی مورفیسم‌های مستعد کننده به بیماری میتواند دید روشنی از بیماری دهد. یکی از جایگاه‌های ژنتیکی مرتبط با PCOS در کروموزوم 11q22.1 در نزدیکی ژن YAP1 قرار دارد (Rs1894116). ارتباط بین PCOS و لنوع تک نوکلئوتیدی در ژن YAP1 در چندین GWAS در جمعیت‌های مختلف چاپ شده است (۹-۱۱). پروتئین YAP1 نقش کلیدی در شبکه سیگنالینگ

روش کار

این مطالعه بر روی ۱۰۰ زن سالم (کنترل) و ۱۰۰ زن مبتلا به PCOS دارای معیارهای ورود به مطالعه با تشخیص پزشک متخصص زنان، صورت گرفت. معیارهای ورود شامل تشخیص ابتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک توسط پزشک متخصص زنان مطابق با معیارهای روتردام، از جمله اولیگووولاسیون و یا عدم تخمک گذاری، علائم بالینی و یا بیوشیمیایی هایپرآندروژنیسم و مورفولوژی تخمدان پلی کیستیک با سونوگرافی بود. معیارهای خروج شامل سابقه دیابت، مقاومت به انسولین، بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان (سینه، تخمدان، اندومتریال)، بیماری‌های لگن، اندومتریوز، اختلالات هورمونی، مصرف دخانیات داشتن سایر علل هایپرآندروژنیسم مانند هایپرپرولاکتینمی بود. از همه شرکت کنندگان در مطالعه رضایت کتبی آگاهانه اخذ شد. میزان هورمون‌های LH ، FSH ، نسبت LH به FSH ، AMH ، استرادیول، پرولاکتین، قندخون ناشتا و تستوسترون با استفاده از کیت‌های مربوطه و طبق دستورالعمل این کیتها (شرکت ، ایران) و به روش الایزا اندازه گیری شد. جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد مطالعه ، مقدار ۳ سی سی خون از شرکت کنندگان در مطالعه گرفته شد. سپس نمونه‌های خون در تیوب‌های حاوی EDTA به عنوان ماده ضد انعقاد جمع آوری شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و در دمای 20°C - جهت استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA

شرکت انجام شد. پس از استخراج، کمیت و کیفیت DNA (غلظت و میزان DNA) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری نانودراپ در طول موجهای ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر، همچنین ژل آگاروزر یک درصد ارزیابی و پلی مرفیسم‌ها با روش Tetra-ARMS PCR تعیین شدند. توالی‌های مربوط به پرایمرهای مورد استفاده با کمک سایت Tetra ARMS-PCR Primer Design Tool طراحی شد. جهت تعیین ژنوتیپ برای هر یک از سه ژن مورد نظر، از دو پرایمر خارجی (FO و RO) استفاده شد که برای هر دو آلل مشترک بوده و محصولی با اندازه یکسان ایجاد می‌کرد و به عنوان کنترل داخلی به کار رفت. همچنین برای هر یک از سه ژن مورد نظر، از دو پرایمر داخلی (FI و RI) استفاده گردید که این پرایمرها اختصاصی بوده و برای هر آلل محصولی با اندازه متفاوت ایجاد می‌کردند و در واقع به کمک محصول PCR به دست آمده از این دو پرایمر، موجبات تمایز بین دو آلل امکان پذیر می‌گردید. برای هر SNP ، واکنش Tetra-ARMS PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل $12/5 \mu\text{l}$ از Master mix ، $1 \mu\text{l}$ از پرایمرهای FO ، RO ، FI ، RI ، $3/5$ میکرولیتر از dH_2O و ۵ میکرولیتر از DNA انجام شد. از کنترل منفی برای جلوگیری از نتایج مثبت کاذب استفاده شد. برنامه PCR برای هر یک از پلی مورفیسم‌ها در جدول ۱ آورده شده است. به منظور اطمینان از خوانش صحیح ژنوتیپ‌ها با روش مذکور، حدود ۲۰ درصد نمونه‌ها به طور تصادفی انتخاب شده و مجدداً تعیین ژنوتیپ

جدول ۱- برنامه PCR برای هر یک از پلی مورفیسم‌ها

| | Model | Genotype | Pcos | Control | P-value |
|--------------|------------|----------|------|---------|---------|
| rs2252673 | Codominant | CC | ۴۸ | ۵۳ | ۰/۶۴۱ |
| | | GC | ۲۲ | ۱۷ | |
| | | GG | ۳۰ | ۳۰ | |
| | Dominant | CC | ۴۸ | ۵۳ | ۰/۰۳۲ |
| | | GG-GC | ۵۲ | ۴۷ | |
| | Recessive | GG | ۳۰ | ۳۰ | ۱/۰۰ |
| Overdominant | CC-GC | ۷۰ | ۷۰ | | |
| | | CC-GG | ۷۸ | ۸۳ | ۰/۳۷۲ |

گردیدند که نتایج حاصله نتیجه پیشین را تایید نمود. در نهایت برای بررسی تکثیر موفق قطعات مورد نظر، ۸

ژنومی از نمونه‌های خون محیطی با استفاده از کیت تخلیص DNP (شرکت سیناکلون، ایران) طبق دستور

میانگین BMI در افراد بیمار نسبت به افراد سالم افزایش معناداری داشته است. علاوه بر این آزمون یومن ویتنی مشخص کرد که اختلاف میانگین میزان هورمون‌های LH/FSH، FSH، LH، AMH، Estradiol، prolactin، FBS و testestron مشاهده شده بین دو گروه معنادار می باشد و میانگین میزان هورمون‌ها در افراد بیمار نسبت به افراد سالم افزایش معناداری داشته است ($P < 0.0001$). مقایسه سن، BMI و سطح سرمی هورمون‌ها در دو گروه

میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد. به منظور بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن‌ها با PCOS، از نرم افزار (SPSS نسخه ۲۲) استفاده شد. در بررسی پلی مورفیسم‌ها از آزمون آماری آنووا و تست تعقیبی توکی برای بررسی اختلاف میانگین متغیرها استفاده شد. از آزمون آماری کای دو و محاسبه ریسک خطر ابتلا به بیماری PCO با ژنوتایپ‌ها (OR odd ratio) برای بررسی صفات کیفی و آزمون‌های آزمون کولموگراف - اسمیرنوف و شاپیروویلیک و یومن ویتنی

جدول ۲- بررسی ارتباط بین نژاد در افراد مورد مطالعه

| و ه | نژاد | فارس | ترک | کرد | عرب | لر | گیلک | بلوچ | P-value |
|-------|------|------|-----|-----|-----|----|------|------|---------|
| بیمار | ۳۱ | ۲۶ | ۹ | ۱۱ | ۸ | ۸ | ۸ | ۷ | ۰/۸۲۳ |
| سالم | ۳۴ | ۲۸ | ۱۰ | ۸ | ۴ | ۶ | ۱۰ | | |

جدول ۳- مقایسه سن، BMI و سطح سرمی هورمون‌ها در دو گروه کنترل و PCOS

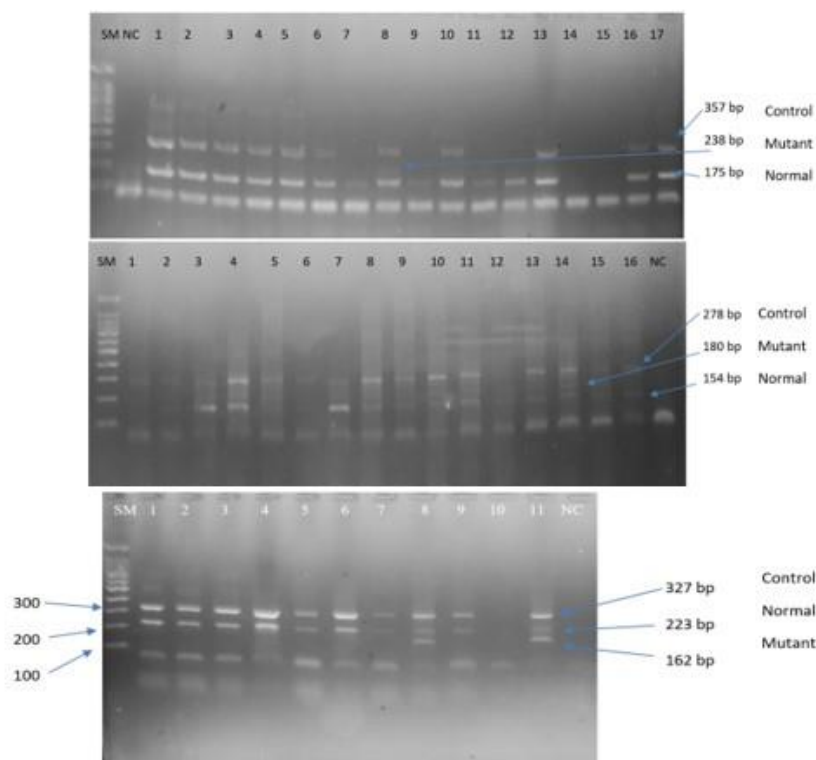
| | Control | PCOS |
|-----------|------------|-------------|
| Age | ۲/۷±۳۰/۸ | ۲/۶±۳۰/۰۶ |
| BMI | ۳/۲±۲۵/۸۶ | ۳/۷±۲۷/۹۹ |
| LH | ۰/۹۹±۴/۹۲ | ۱/۹۸±۸/۰۴ |
| FSH | ۰/۶۷±۵/۱۸ | ۱/۲۳±۶/۵۷ |
| LH/FSH | ۰/۲۲±۰/۹۷ | ۰/۲۲±۱/۲۳ |
| AMH | ۱/۷±۲/۳۹ | ۶/۰۳±۷/۵۴ |
| Estradiol | ۸/۴۷±۴۶/۶۳ | ۸/۵۸±۵۹/۳۹ |
| prolactin | ۳/۴۶±۳۳/۵۱ | ۷/۵۶±۵۹/۴۱ |
| FBS | ۶/۰۳±۸۸/۸۹ | ۱۱/۵۹±۹۸/۶۳ |

کنترل و PCOS در جدول ۳ آورده شده است. الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS PCR، به منظور تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم‌ها در شکل ۱ آورده شده است. در پلی مورفیسم rs2252673 میزان ژنوتیپ CC، GG و CG در افراد سالم به ترتیب ۵۳، ۳۰ و ۱۷ و در افراد بیمار به ترتیب ۴۸، ۳۰ و ۲۲ بود. آزمون آماری کای دو مشخص کرد که اختلاف فراوانی مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های rs2252673 و بین آلل‌های G و C در دو گروه بیمار و سالم معنادار نمی باشد. بر اساس تست هاردی-واینبرگ فراوانی ژن و ژنوتیپ‌های بیمار و سالم در تعادل نبوده و از نسلی به نسل دیگر تغییر می‌کرد ($P < 0.0001$). برای بررسی ارتباط بین این پلی مورفیسم و ابتلا به PCOS، ژنوتیپ‌ها در مدل‌های ژنتیکی هم بارز، غالب، ابر غالب و مغلوب مورد مطالعه

برای متغیرهای کیفی استفاده شد. از آزمون همبستگی پیرسون برای بررسی همبستگی بین متغیرها استفاده شد. همچنین تفاوت‌های بین متغیرهای طبقه بندی شده، توزیع ژنوتایپ و معادله هاردی واینبرگ با آنالیز X یا Fisher exact test بررسی شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۰۰ زن در دو گروه کنترل (سالم) در محدوده سنی ۲۶-۳۹ سال و مبتلا به PCOS در محدوده سنی ۲۴-۳۵ سال مشارکت داشتند. فراوانی جمعیت مورد مطالعه بر حسب نژاد طبق جدول ۲ می باشد. آزمون یومن ویتنی مشخص کرد که اختلاف میانگین سن مشاهده شده بین دو گروه معنادار نیست. همچنین آزمون یومن ویتنی مشخص کرد که اختلاف



شکل ۱- نتایج ژل الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS PCR

غالب اختلاف معنی‌داری وجود نداشته ($P > 0.05$) ولی در مدل‌های غالب و مغلوب اختلاف معناداری وجود دارد. در پلی‌مورفیسم rs2272046 فراوانی ژنوتیپ‌های CC، AC و AA در افراد سالم به ترتیب ۴، ۲۴ و ۷۲ و در افراد بیمار به ترتیب ۶، ۱۶ و ۷۸ بود. آزمون آماری کای دو مشخص کرد که اختلاف فراوانی مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های rs2272046 و بین آلل‌های A و C در دو گروه بیمار و سالم معنادار نمی‌باشد. بر اساس تست هاردی-واینبرگ فراوانی ژن و ژنوتیپ‌ها در حالت کلی و بیمار در تعادل نبوده و از نسلی به نسل دیگر تغییر می‌کرد و ژنوتیپ‌های سالم در تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشتند. آزمون رگرسیون لجستیک نیز نشان داد که بین فراوانی ژنوتیپی افراد سالم و بیمار در مدل‌های هم بارز، مغلوب، غالب و فوق غالب اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

بحث

قرار گرفتند. آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که بین فراوانی ژنوتیپی افراد سالم و بیمار در مدل‌های هم بارز، مغلوب و فوق غالب اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی در مدل غالب اختلاف معناداری وجود داشت.

در پلی‌مورفیسم rs1894116 فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در افراد سالم به ترتیب ۵۱، ۲۶ و ۲۳ و در افراد بیمار به ترتیب ۶۵، ۲۳ و ۱۲ بود. آزمون آماری کای دو مشخص کرد که اختلاف فراوانی مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های rs1894116 در دو گروه بیمار و سالم معنادار نمی‌باشد ولی اختلاف فراوانی مشاهده شده بین آلل‌های A و G در دو گروه سالم و بیمار معنادار بود. بر اساس تست هاردی-واینبرگ فراوانی ژن و ژنوتیپ‌ها در حالت کلی، بیمار و سالم در تعادل نبوده و از نسلی به نسل دیگر تغییر می‌کرد ($P < 0.0001$). آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که بین فراوانی ژنوتیپی افراد سالم و بیمار در مدل‌های هم بارز و فوق

به این معنی که rs2252673 یک نشانگر خطر برای PCOS است (۱۶). در بررسی میزان خطر نسبی rs2272046 در ژن HMGA2 در بیماران مبتلا به PCOS، بوسیله آزمون رگرسیون لجستیک مشخص شد که بین فراوانی ژنوتیپی افراد سالم و بیمار در مدل‌های هم بارز، مغلوب، غالب و فوق غالب اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (۳). همچنین در یک مطالعه مشخص شد که توزیع آلل A>C در rs2272046 در HMGA2 طور قابل توجهی با کاهش خطر PCOS مرتبط است. علاوه بر این، آنها تشخیص دادند که توزیع ژنوتیپ CA با کاهش خطر PCOS مرتبط است. نتایج این مطالعه در مورد rs2272046 در HMGA2 با نتایج مطالعه قبلی روی ۷۴۴ بیمار PCOS چینی هان و ۸۹۵ فرد سالم که SNP را با کاهش خطر PCOS مرتبط می‌کردند مطابقت دارد (۱۶). در مطالعه ما ژنوتیپ‌های AC و CC در افراد بیمار درصد بیشتری داشتند که معنادار نبود. با این حال به نظر نمی‌رسد که این ژنوتیپ‌ها نقش محافظتی در مطالعه ما داشته باشند. به نظر می‌رسد که تفاوت‌های جغرافیایی جمعیت، محدودیت‌های مطالعاتی و تفاوت‌های ویژگی‌های بالینی در این افراد ممکن است تا حدی نتایج متناقض به دست آمده را توضیح دهد (۳). بررسی میزان خطر نسبی rs1894116 در ژن YAP1 نشان داد در مدل‌های غالب و مغلوب اختلاف معناداری وجود دارد. آلل G در حالت غالب (ژنوتیپ AG-GG)، خطر ابتلا به بیماری را 784/1 برابری افزایش می‌دهد و در حالت مغلوب (ژنوتیپ GG) با شانس ۲۹۱/۰ اثر محافظتی دارد. همچنین اختلاف فراوانی مشاهده شده بین آلل‌های A و G در دو گروه سالم و بیمار معنادار بود (۱۷). که فراوانی ژنوتیپ rs1894116 بین PCOS و زنان شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. همچنین rs1894116 در YAP1 با تعداد قاعدگی و تعداد فولیکول تخمدان مرتبط بود. آنها نتیجه گرفتند که ژن‌های حساسیت PCOS، از جمله YAP1 با ویژگی‌های متمایز PCOS مرتبط هستند و این نتیجه نشان می‌دهد که ناهمگونی ژنتیکی می‌تواند بر فنوتیپ‌های پیچیده PCOS تأثیر بگذارد (۴).

ما مطالعه‌ای را با هدف آنالیز تغییرات تک نوکلئوتیدی rs189411 در ژن YAP1، rs2272046 در ژن HMG2 و rs2252673 در ژن INSR انجام دادیم. این مطالعه بر روی زنان سالم و مبتلا به PCOS به ترتیب با میانگین سنی $647/2 \pm 06/30$ و $704/2 \pm 8/30$ انجام شد. بین میانگین سنی دو گروه تفاوت معناداری از لحاظ آماری وجود نداشت و یک جامعه همگن از نظر سنی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در بررسی ما از نظر نژادی (نژادهای مختلف در ایران) اختلاف فراوانی معناداری بین افراد بیمار و سالم مشاهده نشد (۵). نتایج پژوهش با نتایج ایبار (Ibar) و همکاران (۲۰۲۰) (۸) و میلر (Miller) (۲۰۱۶) (۱۳) همراستا بود. در همین راستا نتایج مطالعات انجام شده نشان داده است که ۶۰ تا ۸۰ درصد زنان مبتلا به PCOS دارای اضافه وزن یا چاقی هستند. با وجود اینکه علت PCOS کاملاً مشخص نیست، با این حال، این بیماری در درجه اول به عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی نسبت داده می‌شود که با چاقی تشدید می‌شوند (۷). هورمون‌ها و تغییرات در میزان آنها در سندرم تخمدن پلی‌کیستیک بسیار اهمیت دارد. در بررسی میزان هورمون‌ها در مورد مطالعه ما همانطور که انتظار می‌رفت، مشخص شد که اختلاف میزان هورمون LH، FSH، نسبت LH به FSH، AMH، استرادیول، پرولاکتین، قندخون ناشتا و تستوسترون در افراد PCOS نسبت به افراد سالم افزایش معناداری داشت. در مطالعات دیگر نیز مشابه نتایج ما، هورمون‌های FSH، AMH، LH و LH/FSH، تستوسترون، استرادیول و BMI در گروه PCOS نسبت به افراد سالم افزایش معنادار داشته است (۱۱). در این مطالعه از بین سه SNP مورد بررسی، rs2272046 در ژن HMGA2 و rs1894116 در YAP1 با PCOS مرتبط بودند. در rs2252673 INSR افراد دارای ژنوتیپ غالب ارتباط مستقیم و معناداری با ابتلا به PCOS داشتند و آلل C در حالت غالب (ژنوتیپ CC) با شانس ۰/۷۲۲ نقش محافظتی در برابر PCOS دارد. مطالعات نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین rs2252673 و PCOS وجود دارد. در این مطالعه آلل G بیش از حد منتقل شده بود.

signaling with metabolism. *Developmental cell*. 2020;54(2):256-67.

9. Teede H, Deeks A, Moran LJBm. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. 2010;8(1):1-10.

10. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY; Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2019 Jan;30(1):3-44. doi: 10.1007/s00198-018-4704-5. Epub 2018 Oct 15. Erratum in: *Osteoporos Int*. 2020;31(1):209.

11. Gazzola L, Bellistri GM, Tincati C, Ierardi V, Savoldi A, Del Sole A, Tagliabue L, d'Arminio Monforte A, Marchetti G. Association between peripheral T-Lymphocyte activation and impaired bone mineral density in HIV-infected patients. *J Transl Med*. 2013;11:51.

12. Armas LA, Recker RR. Pathophysiology of osteoporosis: new mechanistic insights. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2012;41(3):475-86.

13. Miller PD. Management of severe osteoporosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2016;17(4):473-88.

14. Dai N, Zhao L, Wrighting D, Krämer D, Majithia A, Wang Y, et al. IGF2BP2/IMP2-deficient mice resist obesity through enhanced translation of Ucp1 mRNA and other mRNAs encoding mitochondrial proteins. 2015;61(1):76-80.

15. Bakhshab S, Ahmed NJB. Genotype based risk predictors for polycystic ovary syndrome in Western Saudi Arabia. 2019;15(11):812.

16. Hashemi F, Yaghmaei P, Saadati N, Haghighi Poodeh S, Ramezani Tehrani F, Hedayati MJRJoMS. Association of serum adiponin levels with polycystic ovarian syndrome. 2012;19(99):1-6.

17. Day FR, Hinds DA, Tung JY, Stolk L, Styrkarsdottir U, Saxena R, et al. Causal mechanisms and balancing selection inferred from genetic associations with polycystic ovary syndrome. *Nature communications*. 2015;6(1):8464.

نتیجه‌گیری

در جمعیت مورد مطالعه ما، پلی مورفیسم rs2252673 در ژن INSR ، در افراد دارای ژنوتیپ غالب ارتباط مستقیم و معناداری را با ابتلا به PCOS داشته و آلل C در حالت غالب (ژنوتیپ CC) با شانسی ۰/۷۲۲ نقش محافظتی در برابر PCOS داشت. همچنین پلی مورفیسم rs2272046 در ژن HMG2 ، هیچ کدام از ژنوتیپ‌ها ارتباط معناداری را با ابتلا به بیماری PCOS نداشت. در پلی مورفیسم rs1894116 در ژن YAP1 ارتباط آماری معنی‌داری با ابتلا به بیماری در ژنوتیپ‌های غالب و مغلوب بدست آمد.

References

1. Ji S-Y, Liu X-M, Li B-T, Zhang Y-L, Liu H-B, Zhang Y-C, et al. The polycystic ovary syndrome-associated gene Yap1 is regulated by gonadotropins and sex steroid hormones in hyperandrogenism-induced oligo-ovulation in mouse. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 2017;23(10):698-707.

2. Kalhor R, Kalhor N, Kalhor H, Sohrabi MJAB. Survey relationship between rs2303169 polymorphism in FBN3 gene in patients with polycystic ovary syndrome. 2019;9(35):1-17.

3. Jiao X, Chen W, Zhang J, Wang W, Song J, Chen D, et al. Variant alleles of the ESR1, PPARG, HMG2, and MTHFR genes are associated with polycystic ovary syndrome risk in a Chinese population: a case-control study. 2018;9:504.

4. Shen H, Zhang N, Zhang X, Ji W. C-reactive protein levels after 4 types of arthroplasty. *Acta Orthop*. 2009;80:330-333.

5. Vchnatz PF, Marakovits KA, Dubois M, O'Sullivan DM. Osteoporosis screening and treatment guidelines: are they being followed?. *Menopause*. 2011. 18(10):1072-8.

6. Vandhu SK, Nguyen ND, Center JR, Pocock NA, Eisman JA, Nguyen TV. Prognosis of fracture: evaluation of predictive accuracy of the FRAX algorithm and Garvan nomogram. *Osteoporos Int*. 2010. 21(5):863-71.

7. Uremollieres FA, Pouilles JM, Drewniak N, Laparra J, Ribot CA, Dargent-Molina P. Fracture risk prediction using BMD and clinical risk factors in early postmenopausal women: sensitivity of the FDA FRAX tool. *J Bone Miner Res*. 2010. 25(5):1002-9.

8. Ibar C, Irvine KD. Integration of Hippo-YAP