

ارتباط اثر فارماکوژنتیک داروی متفورمین با تغییر یک آمینواسید در ژن گیرنده فعال کننده تکثیر پروکسی زوم گاما (γ PPAR) در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک

فاطمه جعفری^۱، سیدمحسن میراسمعیلی^{۲*}، سیدمهدی کلانتر^۳

مقاله پژوهشی

مقدمه: سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) به عنوان یک اختلال متابولیکی، تولیدمثلی و اختلال تخریب تخمدان شناخته شده است. جهش Pro12Ala در ژن گیرنده فعال کننده تکثیر پروکسی زوم گاما (γ PPAR) به عنوان یک فاکتور رونویسی در اختلالات قندی و ناباروری مرتبط است. در بیماران دیابتی و بیماران مبتلا به PCOS داروی متفورمین خط اول درمان است، لذا هدف این مطالعه بررسی ژنوتیپ افراد تحت درمان رابطه پلی مورفیسم Pro12Ala و فارماکوژنتیک متفورمین می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی اپیدمیولوژی ژنتیکی فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Pro12Ala در ۱۰۰ زن مبتلا به PCOS و ۱۰۰ زن سالم مورد بررسی قرار گرفتند. سطح پلاسمایی هورمون محرک فولیکول (FSH) و هورمون لوتئینی کننده (LH)، قبل از مصرف داروی متفورمین و پس از مصرف متفورمین در بیماران مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ افراد برای پلی مورفیسم Pro12Ala با استفاده از تکنیک PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) تعیین گردید. هم چنین بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS Inc., Chicago, IL; Version 16 و انجام آزمون کای مربع و آزمون فیشر و کروسکال والیس و آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: ژنوتیپ دو نفر از بیماران هموزیگوت (GG) بود. از نظر ژنوتیپی، اختلاف معنی داری در فراوانی ژنوتیپها در افراد سالم و بیمار مشاهده نگردید. در بیماران، سطح پلاسمایی LH، FSH و تستوسترون قبل (۴/۱۲، ۳۵/۳۳ و ۱/۰۴) و بعد (۳/۱۱، ۸/۰۴ و ۰/۹۳) از مصرف متفورمین تفاوت معنی داری مشاهده گردید ($P=0/03$ ، $P=0/01$ ، $P=0/037$)، اما بین ژنوتیپ افراد و پاسخ درمانی به متفورمین ارتباطی وجود نداشت ($p\text{-value} = 0/59$).

نتیجه گیری: هر چند ارتباطی بین پلی مورفیسم Pro12Ala و پاسخ درمانی به متفورمین در افراد بیمار مشاهده نگردید ولی پاسخ درمانی به متفورمین در بیماران جهت تنظیم و بهبود هورمون های تخمک گذاری در اغلب افراد رضایت بخش می باشد.

واژه های کلیدی: آنالیز فارماکوژنتیکی، سندرم تخمدان پلی کیستیک، PPAR gamma، متفورمین

ارجاع: جعفری فاطمه، میراسمعیلی سیدمحسن، کلانتر سیدمهدی. ارتباط اثر فارماکوژنتیک داروی متفورمین با تغییر یک آمینواسید در ژن گیرنده فعال کننده تکثیر پروکسی زوم گاما (γ PPAR) در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۸): ۱۸۰۳-۱۷۹۵.

۱- دانشجو، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و مهندسی، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم و مهندسی، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران

۳- استاد، پژوهشکده تولیدمثل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۲۵۰۸۶۷۴، پست الکترونیکی: smm230@gmail.com، کدپستی: ۸۹۱۹۶۹۷۴۵۱

مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یکی از بیماری‌های شایع غدد درون‌ریز با وراثت اتوزوم غالب می‌باشد (۱) که با تولید بیش از حد آندروژن‌ها، اختلال در تخمک‌گذاری و بی‌نظمی قاعدگی همراه است. طبق بررسی‌هایی که صورت گرفته است حدود ۱۰-۵ درصد از زنان دنیا را در سن باروری تحت تاثیر قرار می‌دهد و عامل اصلی ناباروری در زنان می‌باشد (۲). مطالعات نشان داده است که این بیماری می‌تواند یک اختلال ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی باشد (۳). نازایی شیوع قابل توجهی در میان خانواده‌ها دارد و یکی از مسائل مهم مربوط به بهداشت باروری می‌باشد. PCOS به‌طور عمده با علائمی چون بی‌نظمی قاعدگی آکنه، چاقی، افزایش اندروژن و دیابت نوع ۲ مشخص می‌شود (۴). فنوتیپ‌های مختلف PCOS احتمالاً از طریق تعامل بین تعدادی جهش ژنومی مستعد، که هر کدام مسئول بخشی از تغییرات وهم‌چنین تحت تاثیرات محرک محیطی ایجاد می‌شوند. لذا ترکیبی از اختلالات ژنتیکی همراه با عوامل محیطی مانند تغذیه و وزن به‌طور عمده بر PCOS تاثیر گذارند. بسیاری از پروتئین‌ها از قبیل گیرنده انسولین ۲/۱، گیرنده هورمون محرک فولیکول و گیرنده انسولین کاندید ایجاد این فنوتیپ‌ها هستند (۵،۶،۷). PCOS با مقاومت به انسولین ارتباط دارند و خطر ابتلا به بیماری قلبی عروقی و دیابت را افزایش می‌دهند. بروز و شیوع دیابت نوع ۲ در بین زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک چند برابر بیشتر می‌باشد (۸،۹).

جهش در ژن PPAR γ در توسعه و پیشرفت PCOS دخیل می‌باشد. این ژن پلی مورف بوده و چندین تغییر مهم در آن شناسایی شده که برخی از آن‌ها بر فعالیت پروتئین تأثیر می‌گذارند (۷). پلی مورفیسم rs1801282 در اگزون ۲ این ژن باعث تغییر در کدون ۱۲ پروتئین PPAR γ می‌گردد، به عبارت دیگر سبب تغییر کدون CCA به GCA می‌شود که نتیجه آن تغییر اسید آمینه پرولین به آلانین است که بر فعالیت پروتئین تأثیرگذار است، بنابراین آلل CC هموزیگوت سالم، CG هتروزیگوت و GG هموزیگوت مغلوب می‌باشد (۱۰).

پلی مورفیسم Pro12Ala در ژن PPAR- γ در پاتوژنز شرایط مقاوم در برابر انسولین مانند چاقی و دیابت نوع ۲ دخالت دارد. مطالعات قبلی ارتباط پلی مورفیسم Pro12Ala با PCOS با نتایج متضاد را مورد بررسی قرار داده است (۴،۱۱،۱۲). هورمون تحریک‌کننده فولیکول (FSH) و هورمون لوتئینیزه (LH) توسط غده هیپوفیز تولید می‌شوند و در محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد (HPG) عمل می‌نمایند که به‌عنوان تنظیم‌کننده عملکرد حیاتی تخمدان (تولید جنین استروئیدی جنین و بلوغ فولیکولار) و بیضه (اسپرمتوژنز) عمل می‌نمایند (۱۳). متفورمین یکی از داروهای موثر در تخمک‌گذاری و بارداری در بیماران PCOs می‌باشد (۱۴) که به‌طور گسترده‌ای در درمان PCOS مورد استفاده قرار می‌گیرد این دارو سبب بهبود اختلالات متابولیکی و هورمونی در این بیماران می‌شود (۱۵). هدف مطالعه حاضر تعیین ارتباط اثر فارماکوژنتیک داورى متفورمین با تغییر یک آمینواسید در ژن گیرنده فعال‌کننده تکثیر پروکسی‌زوم گاما (PPAR γ) در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک می‌باشد.

روش بررسی

مطالعه حاضر یک مطالعه مورد-شاهدی اپیدمیولوژی ژنتیکی است که روی بیماران مراجعه‌کننده به مراکز درمانی یزد براساس نمونه‌گیری ساده صورت گرفته است. ۱۰۰ بیمار مبتلا به PCOs (طبق معیارهای روتردام) و ۱۰۰ زن سالمند در گروه شاهد، از بین مراجعه‌کنندگان به مراکز درمانی دولتی و خصوصی یزد که دارای بیماری PCO و بیماری‌های زنانه مرتبط نبودند. پس از آگاهی دادن و اخذ فرم رضایت‌نامه در مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت ارزیابی بیماران در مطالعه تجویز داورى متفورمین برای اولین بار ملاک بود و لذا افرادی که قبلاً متفورمین و یا داورى تداخلی با آن را مصرف می‌کردند از مطالعه حذف می‌شدند.

بیماران تحت درمان سه ماهه با داورى متفورمین با دز ۲۰۰۰-۵۰۰ mg/kg (به تشخیص پزشک) قرار گرفتند، قبل از مصرف داورى متفورمین و هم‌چنین بعد از مصرف دارو (بعد از دو سیکل ماهیانه)، میزان ۱۰ سی‌سی نمونه خون در شرایط

ملاحظات اخلاقی

در انجام این پروژه کلیه بیماران جهت چگونگی مصرف و تداخلات دارویی و عوارض آن توجیه شدند. پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه علم و هنر تایید شده است (کد اخلاق IR.ACECR.JDM.REC.1397.009)

نتایج

در این مطالعه بررسی‌های هورمونی و ژنومی ۲۰۰ زن بیمار و سالم در محدوده سنی ۴۰-۱۸ سال صورت گرفت. همان‌طور که در جدول ۲ اشاره شده است ۷۳٪ بیماران زیر ۳۰ سال و ۲۷٪ آن‌ها بالای ۳۰ سال سن داشتند. هم‌چنین در گروه کنترل ۵۱٪ زیر ۳۰ سال و ۴۹٪ آن‌ها بالای ۳۰ سال سن داشتند. با توجه به موارد ذکر شده تفاوت تعداد افراد در گروه‌های سنی کنترل و بیمار معنادار نمی‌باشد ($p=0/54$). پس از برش آنزیمی قطعات و پس از الکتروفورز قطعات مورد نظر بررسی و ژنوتیپ هر فرد مشخص گردید. با توجه به پرایمر طراحی شده طول محصول ۲۵۷bp می‌باشد است (شکل ۱) که پس از قرار گرفتن در معرض آنزیم و وجود جهش به قطعات مختلف تبدیل می‌شود. لذا فرد هموزیگوت نرمال تشکیل باند ۲۵۷ جفت بازی و فرد هتروزیگوت باند ۲۵۷، ۲۳۴ و ۲۳ جفت بازی و فرد هموزیگوت مغلوب دارای باند ۲۳۴ جفت بازی می‌باشد. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است فراوانی ژنوتیپی در بیماران، $CC(67\%)$ ، $GG(2\%)$ و $CG(31\%)$ و در گروه کنترل به‌صورت $CC(70\%)$ و $CG(30\%)$ و $GG(0\%)$ می‌باشد. با استفاده از آزمون کای دو، مشخص گردید که توزیع فراوانی ژنوتیپ CC و CG در گروه شاهد و توزیع فراوانی آلل CC و CG و gg در گروه مورد به‌طور یکنواخت نمی‌باشد ($p\text{-value} < 0/05$). در گروه کنترل ارتباط معناداری بین نوع آلل و طبقات سنی وجود نداشت ($p\text{-value} = 0/36$) هم‌چنین در بیماران ارتباط معناداری بین نوع آلل و طبقات سنی یافت نشد ($p\text{-value} = 0/15$). در افراد بیمار با توجه به ژنوتیپ افراد و پاسخ به درمان با متفورمین مقایسه‌ای صورت گرفت. ۵۲٪ بیمارانی که دارای ژنوتیپ CC بودند به درمان پاسخ مثبت دادند و ۴۸٪ این افراد به درمان پاسخ منفی

ناشناخته شده؛ هم‌چنین ۱۰ سی‌سی نمونه خون از افراد سالم به‌عنوان گروه شاهد گرفته شد. میزان ۵ سی‌سی از نمونه‌های خون برای جداکردن سرم، جهت سنجش میزان هورمون‌های FSH، LH، تستوسترون (TST) و پرولاکتین (PRL) مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری هورمون‌های فوق از تکنیک الایزا استفاده گردید. در ادامه ۵ سی‌سی نمونه خون باقی‌مانده را در ظرف‌های حاوی EDTA برای استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت ستونی (DynaBio™, cat#KI0015) استفاده گردید که کیفیت و کمیت نمونه‌های ژنومی با استفاده از ژل الکتروفورز و نانودراپ (آنالیتیک، آلمان) مورد سنجش گرفت.

به‌منظور بررسی جهش pro12Ala در ژن PPAR γ پرایمری برای ایجاد محصول ۲۵۷ جفت بازی در داخل اگزون ۲ انتخاب گردید (۱۶) (جدول ۱) که اختصاصیت آن در سایت NCBI تایید گردید؛ هم‌چنین برای منطقه جهش، آنزیم Neb cutter (BSTU1) (Thermo scientific) از سایت Restriction map انتخاب گردید و سپس در سایت اختصاصی آن جهت وجود قطعه ۲۳۴ جفت بازی و ۲۳ جفت بازی مورد بررسی قرار گرفت. تکثیر ناحیه مورد نظر با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی (ساخت شرکت ماکروژن، کره) و با استفاده از تکنیک PCR و با استفاده از دستگاه ترموسایکر (آنالیتیک، آلمان) در حجم نهایی ۲۵ ماکرولیتر حاوی ۱۳ ماکرولیتر مسترمیکس، ۱ ماکرولیتر DNA، ۱ ماکرولیتر از هر کدام از پرایمرها و مابقی آب مقطر صورت گرفت. شرایط انجام PCR در جدول ۱ اشاره شده است. پس از تکثیر قطعه مورد نظر، با استفاده از آگارز ۱/۵٪ قطعه ۲۵۷ جفت بازی تایید گردید. سپس قطعات مورد نظر جهت بررسی وجود جهش با استفاده از آنزیم BSTU1 برش داده شده و با الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات و نتایج به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS Inc, Chicago, IL, Version 16 و انجام آزمون کای مربع و تست فیشر و کروسکال‌والیس و آزمون t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

فراوانی ژنوتیپها در گروه کنترل و بیمار تفاوتی ندارد و نوع ژنوتیپ فرد در پاسخ درمانی به متفورمین تاثیرگذار نیست هر چند در سطح مقدار میانگین و انحراف معیار میزان هورمونهای LH (p=0/037)، FSH (p=0/01)، TES (p=0/031) تفاوت معنی داری به وجود آمده است، اما میزان هورمون FBS، و قند خون و PRL تفاوت معنی داری قبل و بعد از مصرف دارو مشاهده نگردید (P=0/28, P=0/42) (جدول ۳). بررسیهای صورت گرفته با استفاده از آزمون پارامتری کروسکال والیس مشخص کرد که تنها میزان هورمون FBS از لحاظ آماری در بین دو گروه و ژنوتیپ تفاوت معنی داری وجود دارد (p-value=0/02) و در سایر مقادیر هورمونی قبل از مصرف دارو تفاوت معنی داری با ژنوتیپها وجود ندارد و هم چنین مشخص شد که تنها میزان قند خون و PRL بعد از مصرف دارو از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود دارد (pvalue=0/04) و در سایر سطحهای هورمونی بعد از مصرف دارو تفاوت معنی داری با ژنوتیپها وجود ندارد.

داده اند. هم چنین برای ژنوتیپ GC تعداد ۵۵٪ افراد پاسخ مثبت به درمان و ۴۵٪ افراد پاسخ منفی به درمان داده اند و برای ژنوتیپ GG تعداد ۱۰۰٪ افراد پاسخ مثبت به درمان داده اند و لذا با استفاده از آزمون دقیق فیشر ارتباط معناداری بین نوع آلل و پاسخ به درمان (مثبت و منفی) وجود نداشت (p-value=0/59). بر اساس مقایسه ارتباط سن با پاسخ به دارو مشخص شد که شانس مثبت بودن پاسخ به دارو در افراد زیر ۳۰ سال، ۱/۱۲ برابر افراد بالای ۳۰ سال است و فاصله اطمینان ۹۵ در صد برابر (۰/۴۶-۲/۷۲) می باشد و چون فاصله اطمینان شامل عدد یک می شود ارتباط معناداری بین طبقات سنی و پاسخ به دارو وجود ندارد. با توجه به مطالعه صورت گرفته نسبت شانس ژنوتیپ CC در هر دو گروه سالم و بیمار یکسان می باشد (OR=1 (95% CI). می باشد. هم چنین برای ژنوتیپ CG نیز نتیجه مشابهی به دست آمد (OR=1.08 (95% CI) و لذا هیچ ارتباط معناداری بین ژنوتیپها و بیماری یافت نگردید (P-value=0/24). نتایج نشان دادند که

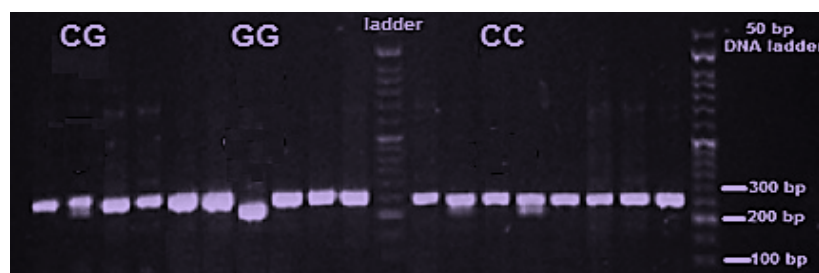
جدول ۱: شرایط PCR اندازه محصولات برای پلی مورفیسم rs1801282 در ژن PPARy

اندازه محصول (bp)	شرایط PCR	توالی پرایمر	روش آنالیز	محل (تغییر بازی)	پلی مورفیسم
۲۵۷	<ul style="list-style-type: none"> ➤ واسرشت اولیه: ۹۵ °C بمدت ۵ دقیقه - ۳۵ سیکل: • واسرشت: ۹۴ °C بمدت ۳۰ ثانیه • اتصال: ۵۳/۳ °C بمدت ۳۰ ثانیه • گسترش: ۷۲ °C بمدت ۶۰ ثانیه ➤ گسترش نهایی: ۷۲ °C بمدت ۷ دقیقه 	F: 5- CCAAATCAAGCCCAGTCCT -3 R:5- GCAGACAGTGTATCAGTG AAGGAATCGCTTTCCG-3	PCR-RFLP	اگزون ۲ (C/G)	PPARy(Rs1801282)

جدول ۲: فراوانی‌های ژنوتیپی در گروه‌های سنی مختلف.

p-value	جمع %.(n)	پلی مورفیسم			گروه
		GG %.(n)	GC %.(n)	CC %.(n)	
۰/۳۶	۵۱(%۵۱)	(۰)	۱۴(%۱۴)	۳۷(%۳۷)	کنترل
	۴۹(%۴۹)	(۰)	۱۶(%۱۶)	۳۳(%۳۳)	طبقات سنی بیشتر از ۳۰ سال
۰/۱۵	۷۳(%۷۳)	۱(%۱)	۲۶(%۲۶)	۴۶(%۴۶)	بیمار
	۲۷(%۲۷)	۱(%۱)	۵(%۵)	۲۱(%۲۱)	طبقات سنی بیشتر از ۳۰ سال

Chi-square test



شکل ۱: نتایج هضم محصولات PC ژن PPAR γ در پلی مورفیسم rs1801282 توسط آنزیم BSTU1.

همان‌طور که در شکل مشخص شده است فرد هموزیگوت سالم (CC) دارای یک تک باند ۲۵۷bp و هموزیگوت بیمار (GG) دارای تک باند ۲۳۴b و فرد هترو زیگوت (CG) دارای دو باند ۲۳۴ bp و ۲۵۷bp می‌باشند. سالم (CC) فراوانی بیشتری دارد

جدول ۳: مقایسه سطح هورمون‌های خونی قبل و بعد از مصرف داروی متفورمین در افراد بیمار (n=100).

P-value	مقایسه سطح هورمون‌های خونی قبل و بعد از مصرف داروی متفورمین در افراد بیمار (n=100)		
	قبل از مصرف متفورمین (M \pm SD)	بعد از مصرف متفورمین (M \pm SD)	
۰/۰۳۷	۱۲/۳۳ \pm ۵/۸۹۱	۱۱/۰۴ \pm ۰/۵۷۱	LH (mIU/ml)
۰/۰۱۰	۴/۳۵۳ \pm ۲/۲۱۴	۳/۸۶۸ \pm ۱/۷۹۴	FSH (mIU/ml)
۰/۴۱۹	۹۴/۸۱ \pm ۱۲/۳۹۴	۹۳/۶۶ \pm ۱۲/۰۷۲	FBS(mg/dl)
۰/۰۳۱	۱/۰۴۷ \pm ۰/۶۲۶	۰/۹۳ \pm ۰/۵۶۶	TES (ng/ml)
۰/۲۸۵	۱۹/۱۰ \pm ۱۷/۶۰۶	۱۷/۰۲ \pm ۹/۹۴۷	PRL (ng/ml)

مقادیر هورمونی به صورت میانگین و انحراف معیار ذکر شده است.

سطوح تغییرات هورمون‌های LH, FSH, TES قبل و بعد از مصرف داروی متفورمین معنادار شده است.

بحث

قبل و بعد از مصرف دارو، این نتایج این مطالعه نشان داد که پاسخ به داروی متفورمین ارتباط معناداری با پلی مورفیسم rs1801282 در ژن PPAR γ ندارد. از مجموع ۳۱ بیمار هتروزیگوت (GC) ۱۷ نفر پاسخ درمانی مثبت داشتند که خود

با توجه به برخی محدودیت‌ها از جمله همسان‌سازی سن، BMI و تعداد بیماران جهت انجام مطالعه و هم‌چنین مشارکت بیماران در اخذ نمونه خون جهت آزمایشات هورمونی

قابل ملاحظه CRP، LH، LH/FSH، و پروژسترون دیده شده است ($p < 0.0001$) که این نتایج نیز تاییدکننده نتایج مطالعه ما می باشد و لذا درمان با متفورمین به طور قابل توجهی باعث بهبود مقاومت به انسولین، عدم تعادل هورمون های اندوکرین، پرمویی و قاعدگی منظم در زنان مبتلا به PCOS می شود (۱۷).

نتیجه گیری

مصرف متفورمین در تنظیم هورمون های زنانه موثر است ولی فراوانی ژنوتیپ ها در گروه کنترل و بیمار تفاوتی نداشت، هرچند در این مطالعه با توجه به تعداد محدود افراد مورد بررسی، بین پلی مورفیسم Pro12Ala و پاسخ درمانی به متفورمین در افراد بیمار ارتباطی مشاهده نگردید ولی درمان به متفورمین در بیماران جهت تنظیم و بهبود هورمون های تخمک گذاری در اغلب افراد رضایت بخش بود. با این حال، درمان با متفورمین در برخی از افرادی که مبتلا به PCOS می باشند تغییرات قابل توجهی در پروفایل هورمونی و علائم بالینی نشان نمی دهد، لذا بررسی تغییرات ژنتیکی و بیانی پروتئین PPAR γ و تاثیرگذاری آن بر ژن هایی که در تنظیم پروفایل هورمونی مبتلایان به PCOS موثرند مفید می باشد از این رو بررسی این مطالعه در جامعه آماری بزرگ تر و هم چنین پلی مورفیسم های دیگر این ژن و ژن های دیگر پیشنهاد می گردد.

سپاس گذاری

این مطالعه حاصل پایان نامه دانشجویی است که با هزینه دانشجوی دانشگاه علم و هنر یزد صورت گرفته است. از همکاران گرامی آزمایشگاه مولکولی دانشگاه علم و هنر یزد و هم چنین همکاران گرامی در پژوهشکده تولیدمثل یزد و سرکار خانم بهجو که در به ثمر رسیدن این مطالعه همکاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

بیانگر این نکته است که وجود این پلی مورفیسم به تنهایی در حالت هتروزیگوت تاثیری بر پاسخ افراد به متفورمین ندارد. تنها دوفنر از بیماران برای پلی مورفیسم Pro12Ala به صورت هموزیگوت موتانت بودند که هردو پاسخشان به دارو مثبت بود. از بین بیماران با ژنوتیپ نرمال (CC)، ۳۵ نفر پاسخ درمانی مثبت و ۳۲ نفر پاسخ درمانی منفی داشتند. مطالعه صورت گرفته توسط Velija مشخص کرد که سن بیماران در پاسخ درمانی به متفورمین هیچ ارتباطی ندارد (۱۷). لذا نتیجه مطالعه ایشان در تایید نتایج مطالعه ماست که ارتباط معنی داری بین سن افراد و پاسخ به دارو مشاهده نشد. در مطالعات گذشته مشخص شده است که اثرات فارماکولوژیک متفورمین ابتدا در کبد اعمال می شود (۱۸) و یکی از ژن های تاثیرگذار OCT1 می باشد. در مطالعه شو و همکارانش بر روی ژن OCT1 مشخص شد که برخی از پلی مورفیسم های این ژن در اثرات فارماکوژنتیکی بر روی داروی متفورمین تاثیر دارند (۱۹)، البته در مطالعه ای که بر روی ۹ پلی مورفیسم در پنج ژن OCT1، OCT2، MAT1، MAT2-k صورت گرفت مشخص گردید که این پلی مورفیسم ها در متابولیسم داروی متفورمین تاثیر چندانی ندارند. نظری و همکاران مطالعه ای را جهت بررسی اثر متفورمین در دختران مجرد مبتلا به PCOS انجام دادند که نتایج حاصل اثر متفورمین را در بهبود پروفایل هورمونی و علائم بالینی نشان داد (۲۰) که خود تاییدکننده نتایج مطالعه حاضر در تاثیرگذاری داروی متفورمین بر پروفایل هورمونی بیماران می باشد. مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۷ که جهت بررسی اثرات ژنوتیپی و پاسخ درمانی صورت گرفته بود نشان داد آلل G در پلی مورفیسم HbA1c در rs1801282 به طور معنی داری با موفقیت درمان کمتری همراه است یعنی آلل G با کاهش کمتر HbA1c مرتبط است ($p = 0.032$) (۲۱). مطالعه دیگری که بر روی پروفایل هورمونی زنان مبتلا به PCOS با درمان توسط داروی متفورمین در طی ۶ و ۱۲ ماه صورت گرفت مشخص نمود که متفورمین بر TSH اثر ندارد و در این بیماران کاهش

References:

- 1- Legro RS, Strauss JF. *Molecular Progress in Infertility: Polycystic Ovary Syndrome*. Fertil Steril 2002; 78(3): 569–76.
- 2- Ferk P, Gersak K. *Association Of -108C>TPONI Polymorphism with Polycystic Ovary Syndrome*. Biomed Rep 2014; 2(2): 255–9.
- 3- Shen HR, Qiu LH, Zhang ZQ, Qin YY, Cao C, Di W. *Genome-Wide Methylated DNA Immunoprecipitation Analysis of Patients with Polycystic Ovary Syndrome*. PLoS One 2013; 8(5): e64801.
- 4- Jacob R, Ramachandran C, Jude C, Venkatachalam U, Rao SK. *Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma Polymorphism Pro12Ala in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) of South Indian Population*. Asian Pacific J Reproduction 2016; 5(3): 210–3.
- 5- Yilmaz M, Ergün MA, Karakoç A, Yurtçu E, Cakir N, Arslan M. *Pro12Ala Polymorphism of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Gene in Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Gynecol Endocrinol 2006; 22(6): 336–42.
- 6- Aljada A, Shah KA, Mousa SA. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Agonists: Do They Increase Cardiovascular Risk?*. PPAR Res 2009; 2009: 460764.
- 7- Zhang S, Wang Y, Jiang H, Liu C, Sun B, Chen S, et al. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Rs1801282 C>G Polymorphism is Associated with Polycystic Ovary Syndrome Susceptibility: A Meta-Analysis Involving 7,069 Subjects*. Int J Clin Exp Med 2015; 8(10): 17418–29.
- 8- Kazemi Jaliseh H, RamezaniTehrani F, Behboudi-Gandevani S, Hosseinpanah F, Khalili D, Cheraghi L, et al. *Polycystic Ovary Syndrome is a Risk Factor for Diabetes and Prediabetes in Middle-Aged But Not Elderly Women: A Long-Term Population-Based Follow-Up Study*. Fertil Steril 2017; 108(6): 1078–84.
- 9- Sirmans SM, Pate KA. *Epidemiology, Diagnosis, and Management of Polycystic Ovary Syndrome*. Clin Epidemiol 2013; 6: 1–13.
- 10- San-Millán JL, Escobar-Morreale HF. *The Role of Genetic Variation in Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in the Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): An Original Case-Control Study Followed by Systematic Review and Meta-Analysis of Existing Evidence*. Clin Endocrinol (Oxf) 2010; 72(3): 383–92.
- 11- Yang J, Gong H, Liu W, Tao T. *The Association of Pro12Ala Polymorphism in the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma2 Gene with the Metabolic Characteristics in Chinese Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Int J Clin Exp Pathol 2013; 6(9): 1894-902.
- 12- Tang ST, Wang CJ, Tang HQ, Peng WJ, Wang YM, Zhang Q. *Association of Pro12Ala Polymorphism in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma with Polycystic Ovary Syndrome: A Meta-Analysis*. Mol Biol Rep 2012; 39(10): 9649–60.
- 13- He W. *Pparγ2pro12Ala Polymorphism and Human Health*. PPAR Res 2009; 2: 1–17.
- 14- Tang T, Glanville J, Orsi N, Barth JH, Balen

- AH. *The Use of Metformin for Women with PCOS Undergoing IVF Treatment*. Hum Reprod 2006; 21(6): 1416–25.
- 15-Hamed HO, Hasan AF, Ahmed OG, Ahmed MA. *Metformin Versus Laparoscopic Ovarian Drilling in Clomiphene- and Insulin-Resistant Women with Polycystic Ovary Syndrome*. Int J Gynecol Obstet 2010; 108(2): 143–7.
- 16-Gong Z, Xie D, Deng Z, Bostick RM, Muga SJ, Hurley TG, et al. *The Ppar γ Pro12Ala Polymorphism And Risk For Incident Sporadic Colorectal Adenomas*. Carcinogenesis 2005; 26(3): 579–85.
- 17-Velija-Ašimi Z. *Evaluation of Endocrine Changes in Women with the Polycystic Ovary Syndrome During Metformin Treatment*. Bosn J Basic Med Sci 2013; 13(3): 180–5.
- 18-Chen S, Zhou J, Xi M, Jia Y, Wong Y, Zhao J, et al. *Pharmacogenetic Variation and Metformin Response*. Curr Drug Metab 2013; 14(10): 1070–82.
- 19-Shu Y, Brown C, Castro RA, Shi RJ, Lin ET, Owen RP, et al. *Effect of Genetic Variation in the Organic Cation Transporter 1, OCT1, on Metformin Pharmacokinetics*. Clin Pharmacol Ther 2008; 83(2): 273–80.
- 20-Nazari T, Bayat R, Hamed M. *Metformin therapy in girls with polycystic ovary syndrome: A self-controlled clinical trial*. Arch Iran Med 2007; 10(2): 176–81.
- 21-Tkáč I, Javorský M, Klimčáková L, Židzik J, Gal'a I, Babjaková E, et al. *A Pharmacogenetic Association Between a Variation in Calpain 10 (CAPN10) Gene and the Response to Metformin Treatment in Patients with Type 2 Diabetes*. Eur J Clin Pharmacol 2015; 71(1): 59–63.

Association of Metformin Pharmacogenetic with a Single Amino Acid Alteration in Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) Gene in Patients with Polycystic Ovary Syndrome

Fatemeh Jafari¹, Seyed Mohsen Miresmaeili^{†2}, Seyed Mehdi Kalantar³

Original Article

Introduction: Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is known as a metabolic, reproductive and ovarian degeneration disorder. Pro12Ala mutation in peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) gene as a transcription factor is linked to disorder of glucose and infertility. In the patients with type 2 diabetes and polycystic ovary syndrome, metformin is the recommended first-line treatment. The aim of this study was evaluation of pharmacokinetics of metformin and the patients genotype for Pro12Ala polymorphism.

Methods: In this study, 100 women with PCOS and 100 healthy women were evaluated. Plasma levels of the FSH and LH were evaluated before and after metformin consumption in the patients. The Pro12Ala polymorphism was detected by PCR-RFLP analysis.

Results: Two patients carried GG homozygous recessive. There was no significant difference in genotypes between the healthy and patient women. There was a significant difference in plasma levels of LH, FSH and testosterone before and after treatment with metformin but there was no relationship between genotype and response to metformin (p-value = 0.59).

Conclusion: Considering to this research, there is no relationship between Pro12Ala polymorphism and metformin response in the patients, but the response to metformin for the regulation and improvement ovulation hormones in many patients is satisfactory.

Keywords: Pharmacogenetic analysis, Polycystic ovary syndrome, PPAR gamma, Metformin

Citation: Jafari F, Miresmaeili S M, Kalantar SM. Association of metformin pharmacogenetic with a single amino acid alteration in peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) gene in patients with polycystic ovary syndrome. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 27(8): 1795-1803.

¹Department of Biology, Faculty of science and engineer, Science and Arts University, Yazd, Iran

²Department of Biology, Faculty of science and engineer, Science and Arts University, Yazd, Iran

³Research and Clinical Center for Infertility, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09132508674, email: smm230@gmail.com